

COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS DE ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA) E MICROSCOPIA PARA A DETECÇÃO DE *GIARDIA LAMBLIA*

Comparison of enzyme immunoassay (ELISA) and microscopy methods for detection of Giardia lamblia

Rosângela Aparecida Marland Inoue¹, Renato Ribeiro Nogueira Ferraz^{2,3}, Maria José Leonardi¹, Anderson Sena Barnabé³, Sérgio Ulices Lages da Fonseca¹, Andréia Cristina Caseiro¹, Armino Aparecido Evengalista¹, André Luiz Ramos¹, Demetrius Paiva Arçari^{1,3}, João Victor Fornari^{1,3}

¹Departamento de Pós-graduação Lato sensu – Universidade Nove de Julho (UNINOVE).

²Programa de Mestrado Profissional em Administração – Gestão em Sistemas de Saúde (PMPA-GSS) – UNINOVE. ³Departamento de Saúde – UNINOVE.

RESUMO

Introdução: A giardíase é uma parasitose ocasionada pela *Giardia lamblia*, comum no mundo todo, principalmente entre crianças. O diagnóstico da giardíase é realizado à partir da identificação do parasita em amostras de fezes através de microscopia. O uso do método de ensaio imunoenzimático (ELISA) também está disponível para o diagnóstico de *Giardia*. Objetivo: Realizar uma revisão sistemática para comparar o método de diagnóstico por microscopia com o ELISA, verificando o que apresenta melhor eficácia na identificação de *G. lamblia*. Resultados: Foram encontrados nove artigos, dos quais três foram excluídos pois não comparavam os métodos de diagnóstico por microscopia com o ELISA. Conclusão: O teste ELISA apresenta melhor resultado para a identificação de infecções por *G. lamblia* quando comparado à microscopia, mesmo em situações em que a carga parasitária é mínima.

Palavras-chave: Gestão em Saúde. Giardíase. Diagnóstico. ELISA. Microscopia.

INTRODUÇÃO

A giardíase é uma parasitose ocasionada pelo protozoário flagelado *Giardia lamblia*, comum no mundo todo, principalmente entre crianças de oito meses a 10-12 anos. Durante o ciclo evolutivo, a *G. lamblia* apresenta dois estágios de vida: a forma cística e a forma trofozoítica. A via normal de contaminação por *G. lamblia* no homem ocorre pela ingestão de cistos maduros, que se transmitem principalmente através de ingestão de água ou alimentos contaminados¹. As infecções por *G. lamblia* ocorrem no trato gastrointestinal do homem, podendo ser de forma assintomática ou de forma mais severa, com diarreia crônica e má absorção intestinal de nutrientes².

O diagnóstico da giardíase é normalmente realizado com base na identificação de cistos ou trofozoítas em amostras de fezes através do microscópio de luz, mas este falha ao detectar o parasita em 30-50% dos casos suspeitos². Além disso, o exame de uma única amostra de fezes pode perder de 10 a 50% das infecções por *Giardia*, já que pacientes infectados não eliminam cistos continuamente nas fezes¹. O uso do método Ensaio imunoenzimático (ELISA), também está disponível para o diagnóstico de *Giardia*. Este ensaio é capaz de detectar pequenas quantidades de antígenos de parasitas nas fezes, mesmo em infecções ligeiras³. Face ao exposto, buscou-se analisar qual o melhor método de diagnóstico para a detecção de *Giardia lamblia*.

MÉTODO

Uma revisão sistemática da literatura foi realizada através de pesquisa na base de dados PubMed/Medline (*National Library of Medicine*, Estados Unidos), utilizando-se a busca avançada com os seguintes termos: *giardiasis*, *diagnosis*, *microscopy*, *elisa*, *coproantigens*. A estratégia utilizada na busca foi: (((giardiasis) AND diagnosis) AND microscopy) AND Elisa) AND coproantigens). Em todas as pesquisas na base foram utilizados filtros apenas para artigos com texto livre e realizados em humanos. Realizou-se também busca na interface *Clinical Queries* utilizando os filtros *Narrow* e *Broad*. Também foi realizada nova pesquisa utilizando o nome dos principais

autores dos artigos encontrados e, a partir destes, artigos não livres foram selecionados. O título dos artigos não livres foi pesquisado no Google Acadêmico, que mostrou versões livres dos referidos trabalhos.

RESULTADOS

A revisão da literatura foi finalizada dia 04 de Outubro de 2013. Foram selecionados nove artigos. Destes, três foram excluídos pois não comparavam os métodos de diagnóstico por microscopia com o de Ensaio imunoenzimático (ELISA).

Duff et al⁴ analisaram por 5 semanas 48 crianças que frequentavam creches na Guatemala. Em todas as amostras coletadas foram feitos testes pelo método ELISA, por métodos de microscopia de concentração e teste rápido. Com base em resultados de ELISA, na primeira semana foram detectados 43,7% de amostras positivas para *G. lamblia* e, na quinta semana, o resultado foi de 44,7% de casos positivos. Comparando a intensidade da infecção por *Giardia* usando a microscopia (amostras positivas n=15) versus os valores de absorbância, ELISA indica que todas as amostras positivas detectadas por microscopia apresentavam valores de absorbância elevados (>1,7), a maioria das amostras (n=14) com absorbância próxima do máximo (valores >2,9). Em contrapartida, nem todas as amostras com valores de absorbância elevado no ELISA (>1,7) foram positivas para *G. lamblia* com o exame ao microscópio. A detecção de antígenos do organismo por ELISA fornece um método alternativo para o estabelecimento de um diagnóstico com alta sensibilidade e especificidade. Utilizando esse método numerosas amostras podem ser testadas rapidamente e objetivamente, e o procedimento é menos trabalhoso quando comparado aos métodos de microscopia.

Vidal et al³ realizaram um estudo prospectivo e duplo-cego com 142 pacientes (de cada paciente obteve-se uma única amostra de fezes), que foram analisados utilizando tanto o ensaio imunoenzimático quanto a microscopia (amostras preparadas por método de sedimentação). Das 142 amostras, 135 foram negativas pelo exame microscópio, enquanto 130 foram negativas pelo teste de ELISA. Os resultados obtidos sugerem que o teste ELISA tem maior sensibilidade. Este teste pode ser capaz de detectar quantidades mínimas de antígeno e, portanto, apresentar um resultado positivo, mesmo quando a carga de parasita é baixa. O estudo relatou a respeito dos custos das duas técnicas, sendo que o teste ELISA no Brasil teve um custo estimado de US\$ 6,70 dólares (cerca de R\$19,00), ao passo que o custo de um teste utilizado para leitura em microscopia é cerca de R\$ 0,30 (US\$0,10).

Addisset al⁵ avaliaram o desempenho de um ensaio imunossorvente ligado à enzima comercialmente disponível (ELISA) para a detecção de um antígeno associado a *G. lamblia* nas fezes de 426 crianças que frequentavam creches nos Estados Unidos. Nesse estudo, dois métodos foram utilizados: a microscopia, utilizando métodos de concentração em formol e coloração por tricrômio, e o ELISA. De 99 testes positivos por ELISA, 93 eram visualmente positivos por microscopia. Quando comparada a microscopia com o ELISA, este foi mais sensível e praticamente 100% específico para a *Giardia lamblia*.

Vidal et al², através de um estudo *coorte* com crianças peruanas, verificou que a infecção por *G. lamblia* foi detectada tanto por microscopia quanto por ELISA em 152 de 1131 (13%), em amostras de fezes. Em 91 de 152 casos (60%), ambos os testes foram positivos; em 44 (29%), *G. lamblia* foi detectada apenas por ELISA; em 17 (11%), *G. lamblia* só foi detectada por microscopia. Os resultados apresentam diferenças estatísticas, concluindo que a utilização do teste ELISA é mais favorável para estudos epidemiológicos e terapêuticos de *Giardia lamblia*.

Janoff et al⁶, analisando 239 amostras de fezes de crianças que frequentavam creches centrais e 118 amostras de fezes de laboratórios de microbiologia clínica, comparou os dois métodos de diagnóstico, encontrando os seguintes resultados: sensibilidade de 88 versus 94%, especificidade 97 versus 95%, valor preditivo positivo de 86 versus 76%, valor preditivo negativo de 98 versus 97%. A concordância entre os dois métodos foi de 89%. Esta diferença sugere que o ensaio ELISA pode ser mais sensível do que a microscopia, que é considerada o padrão de

referência para o referido diagnóstico, e que os resultados podem ser dependentes, em parte, da epidemiologia da infecção nos indivíduos do estudo.

Al et al⁷ analisaram 44 amostras de fezes onde cistos e trofozoítas de *Giardia* foram observados durante o exame de Lugol. Tais amostras foram investigadas pelo método de microscopia (coloração por tricrômio), método ELISA e método de técnicas de imunofluorescência direta (DFA). Os resultados obtidos foram 37 (84,0%), 39 (88,6%) e 35 (79,5%), respectivamente. Comparando apenas o teste ELISA e a microscopia por coloração de tricrômio, o ELISA apresentou 88,6% de sensibilidade e 88,9 % de especificidade, enquanto a microscopia obteve 85,6% de sensibilidade e 77,8 de especificidade.

SÍNTESE DE EVIDÊNCIA

O método de Ensaio imunoenzimático (ELISA) demonstra melhor resultado para diagnóstico de *Giardia lamblia* quando comparado ao método de microscopia. Vale ressaltar que o custo do teste ELISA é elevado quando comparado com os métodos tradicionais de microscopia, mas sua utilização é recomendada em situações em que há casos altamente suspeitos de giardíase.

REFERÊNCIAS

- 1 - Sogayar MITL, *Giardia lamblia*. In Neves PD, Melo AI, Genaro O, Linardi PM. Parasitologia Humana. São Paulo: Atheneu, 1998. p.124-32.
- 2 - Vidal MF, Gilman RH, Ungar BL, Verástegui MR, Benel AC, Marquis G, et al. Detection of *Giardia lamblia* antigen in children living in a Peruvian periurban shantytown (Pueblo Joven). J Clin Microbiol 1991;29(3):636-7.
- 3 - Vidal AM, Catapani WR. Enzyme- linked immunosorbent assay (ELISA) immunoassaying versus microscopy: advantages and drawbacks for diagnosing giardiasis. Med J 2005;123(6):275-8.
- 4 - Duff TL, Montenedro-Bethancourt G, Solomons NW, Belosevic M, Clandinin MT. Prevalence of giardiasis in children attending semi-urban daycare centres in Guatemala and comparison of 3 giardia detection tests. J health Popul Nutri 2013;31(2):290-3.
- 5 - Addiss DG, Mathews HM, Stewart JM, Wahlquist SP, Williams RM, Finton RJ et al. Evaluation of a commercially available enzyme- linked immunosorbent assay for *Giardia lamblia* antigen in stool. J Clin Microbiol 1991;29(6):1137-42.
- 6 - Janoff EN, Craft JC, Pickering LK, Novotny T, Blaser MJ, Knisley CV et al. Diagnosis of *Giardia lamblia* infections by detection of parasite-specific antigens. J Clin Microbiol 1989;27(3):431-5.
- 7 - Al FD, Kustimur S, Ozekinci T, Balaban N, Iihan MN. The use of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and direct fluorescent antibody (DFA) methods for diagnosis of *Giardia intestinalis*. Turkiye Parazitol Derg 2006;30(4):275-8.