

Comparação de quatro métodos laboratoriais para diagnóstico da *Giardia lamblia* em fezes de crianças residentes em Belém, Pará

Evaluation of four techniques for diagnosis of *Giardia lamblia* in children's stool from Belém city, Para State, Brazil

Ricardo Luiz Dantas Machado¹, Maria Cristina Figueredo², Amanda Farage Frade²,
Mônica Eriko Kudó², Manoel Gomes Silva Filho¹ e Marinete Marins Póvoa¹

Resumo *Relatamos a comparação de quatro metodologias para o diagnóstico da Giardia lamblia em material fecal de crianças, Belém/PA. A Hematoxilina Férrica e o método direto apresentaram menor positividade, enquanto que o Método de Faust continua uma boa escolha para o diagnóstico e o Ensaio imunoenzimático melhora a qualidade da detecção deste parasito .*

Palavras-chaves: *Giardia lamblia. Diagnóstico. Ensaio imunoenzimático. Fezes. Coproantígeno.*

Abstract *We report the evaluation of four techniques for Giardia lamblia diagnosis in children's stool. The Iron haematoxilin staining and direct examination with lugol showed lower positivity, while the method of Faust et al. Continues to be a good option for G. lamblia diagnosis and Immunoenzymatic assay increases the detection of this parasite.*

Key-words: *Giardia lamblia. Diagnosis. Enzyme-linked immunosorbent assay. Stool. Coproantigen.*

A *Giardia lamblia* (Anton van Leeuwenhoek, 1681) é o protozoário intestinal responsável pela giardíase, amplamente distribuída pelo mundo¹², sendo mais comum em crianças⁴. Durante o ciclo evolutivo a *G. lamblia* apresenta dois estágios de vida: a forma cística e a forma trofozoítica⁸. O cisto é a forma infecciosa, que pode permanecer viável na superfície da água por aproximadamente dois meses⁶, e é transmitida ao homem pela ingestão de água e alimentos contaminados com material fecal contendo esta forma do parasita¹². O exame de fezes constitui a forma clássica de diagnóstico laboratorial desta parasitose¹³ e em fezes líquuefeitas os métodos de diagnóstico mais utilizados são o método direto, que permite a observação do movimento da forma trofozoítica e a hematoxilina férrica, que evidencia as estruturas citoplasmáticas e nucleares de ambas as formas da *G. lamblia*, enquanto que em material de consistência sólida o método de concentração de Faust e colaboradores⁷ é o mais indicado¹³. O método imunoenzimático qualitativo (Ensaio em microplaca Alexon ProSpect *Giardia*) para a detecção do coproantígeno específico para *G. lamblia* (GSA65)¹⁰ foi recentemente avaliado. No Brasil, este teste foi utilizado pela primeira

vez em amostras provenientes de pacientes de Belo Horizonte, no Estado de Minas Gerais, mostrando-se sensível e específico para o diagnóstico da giardíase⁹. Relatamos a comparação de metodologias para o diagnóstico laboratorial da *G. lamblia* em material fecal de crianças provenientes da cidade de Belém, Pará, Brasil.

Em junho de 1999, foram coletadas amostras fecais de 41 crianças assintomáticas (7 a 15 anos) da escola Projeto Riacho Doce, Bairro do Guamá, Belém/Pará (convênio Universidade Federal do Pará/Fundação Ayrton Senna). De cada criança foram obtidas duas amostras fecais, uma coletada em líquido de Shaudinn e outra sem solução conservante, após explicação do objetivo do trabalho e assinatura do termo de consentimento pelos responsáveis das crianças envolvidas neste estudo. Para detecção de *G. lamblia* em amostra fecal foram utilizados os métodos direto com coloração por lugol (MD), a técnica de hematoxilina férrica (HF) (material em líquido de Shaudinn) e o método de concentração de Faust e colaboradores (MF) e todas as lâminas obtidas foram observadas ao microscópio ótico em objetiva de 40x. A pesquisa de coproantígeno foi realizada utilizando o

1. Instituto Evandro Chagas/Fundação Nacional de Saúde, Belém, PA e 2. Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Pará, Belém, PA.

Apoio Financeiro: Instituto Evandro Chagas/Fundação Nacional de Saúde

Endereço para correspondência: Dra. Marinete Marins Póvoa. Seção de Parasitologia, Laboratório de Enteroparasitoses/Instituto Evandro Chagas. Av. Almirante Barroso 492, 66090-000 Belém, PA.

Telefax: 55 91 211-4417

e-mail: parasitologia@iec.pa.gov

Recebido para publicação em 3/4/2000.

ensaio em microplaca ProSpect *Giardia* (Alexon, Inc., BIOBRÁS), que foi utilizado de acordo com as instruções do fabricante. A leitura dos resultados foi efetuada num leitor vertical de ELISA (Titertek[®] Multiskan). As fezes foram examinadas pelo MD, MF e ELISA de 15 minutos a 2 horas e pela HF após três dias da coleta.

A positividade para *G. lamblia* na amostra estudada de acordo com os métodos empregados foi de 4,9% para HF, 17,1% para MD, 31,7% para MF e 26,9% para o ELISA. A diferença entre os resultados obtidos pelo MF e o ELISA não foram estatisticamente significativas (qui-quadrado $p > 0,005$). Nos testes de avaliação morfológica, o HF foi o único teste que evidenciou a presença de trofozoítos. Outros parasitos intestinais foram evidenciados nas amostras fecais pelos métodos de avaliação morfológica (MD, HF e MF), com taxa de positividade de 80,5%. Destes positivos, 9,1% apresentaram apenas um parasita, enquanto que 90,9% estavam multiparasitados. Os helmintos encontrados foram *Trichuris trichiuris* (57,6%), *Ascaris lumbricoides* (36,4%) e Ancilostomídeos (24,3%), enquanto que os outros protozoários detectados foram *Endolimax nana* (54,5%), *Blastocystis hominis* (39,4%), *Entamoeba coli* (21,2%), *Entamoeba histolytica* (12,2%) e *Iodamoeba butshilii* (9,1%).

Novas metodologias para o diagnóstico que ofereçam bons parâmetros de sensibilidade, especificidade, baixo custo, rapidez e reprodutibilidade são uma necessidade, principalmente na Região Norte do Brasil, onde as condições sócio-econômicas favorecem os elevados índices de parasitoses intestinais. A instabilidade das formas parasitárias da *G. lamblia* nas fezes, proporciona redução do percentual de detecção deste protozoário pelos métodos microscópicos^{5,11}. Entretanto, deve-se salientar que de acordo com os resultados obtidos neste estudo, o MF continua sendo uma boa escolha para o diagnóstico da giardíase, principalmente em comunidades com recursos

financeiros limitados. O MD é barato, de rápida execução e permite a visualização das formas trofozoíticas em movimento, porém é desvantajoso já que utiliza amostra não representativa e a presença de material orgânico presente, dificulta a visualização deste protozoário, o que pode justificar os resultados de baixa positividade desta técnica em nosso estudo. A HF é uma metodologia eficaz para o diagnóstico deste protozoário, e como observado neste trabalho, apresentou-se satisfatória para a detecção das formas trofozoítas. Os baixos resultados do nosso estudo, provavelmente estejam relacionados a erros de ordem técnica (preparação do esfregaço, coloração e da experiência do examinador). O custo e o longo tempo de execução representam fatores limitantes ao seu emprego na rotina de diagnóstico de protozoários. Neste trabalho, testamos pela primeira vez na região Norte do Brasil, o ensaio em microplaca ProSpect *Giardia*. Os resultados mostraram-se similares em relação ao do MF, identificando os maiores índices de positividade na amostra estudada. Confirmamos os dados previamente observados na literatura, que mostram a sua utilização para diagnóstico desta parasitose em material diarreico ou não, tanto pela sua alta sensibilidade (90,0%) e especificidade (98,3%)^{2,9}, tanto pelo tempo de realização (1/3 do tempo da HF), contribuindo na melhoria da qualidade do diagnóstico. Todavia, deve-se pensar que a sua maior aplicação dentro de comunidades carentes, como as observadas na Região Norte do Brasil, ainda apresenta limitações devido ao seu alto custo. A utilização deste teste é indicada em estudos epidemiológicos específicos para a pesquisa de *G. lamblia*, ou então, em casos isolados onde a clínica é sugestiva desta parasitose e as metodologias microscópicas não conseguem resultados conclusivos. A utilização de métodos coprocópicos na rotina de diagnóstico de enteroparasitoses na nossa região ainda se faz necessário, pois além de menor custo estas metodologias são capazes também de detectar outros enteroparasitas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argomedo C, Weitz JC, Silva B, Lopez L. Estudio comparativo de examen parasitológico de deposiciones e Imunofluorescência directa com anticuerpos monoclonales em el diagnóstico de *Giardia lamblia*. Parasitologia Al Dia 17:139-143, 1993.
- Boone JH, Wilkins TD, Nash TE, Brandon JE, Macias EA, Jerris RC, Lyverly DM. Techlab and Alexon *Giardia* Enzyme-Linked Immunosorbent assay kits detect cyst wall protein 1. Journal of Clinical Microbiology 37:611-614, 1999.
- Cimerman B, Cimerman S. Giardíase. In: Cimerman B, Cimerman S (eds). Rhodia, São Paulo, 12p. 1998.
- Cimerman B, Ferraz CAM, Paoli LA, Tamburus W. Tratamento da giardíase em crianças com tinidazol. Revista Brasileira de Clínica e Terapêutica 6:451-452, 1977.
- Dacinger M, Lopez M. Number of *Giardia* in the feces of infected children. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 24:237-242, 1975.
- De Regnier DP, Cole L, Schupp DG, Erlandsen SL. Viability of *Giardia* cysts suspended in lake, river, and tap water. Applied and Environmental Microbiology 55:1223-1229, 1989.
- Faust EC, Russell PF, Jung RC, Craig. Faust's Clinical Parasitology. 8th edition, La Febiger, Philadelphia, 1970.
- Rendtroff RC. The experimental transmission of human intestinal protozoan parasites. II. *Giardia lamblia* cysts given in capsules. American Journal of Hygiene 59:209-220, 1954.
- Rocha MO, Mello RT, Guimarães TM, Toledo VD, Moreira MD, Costa CA. Detection of a *Giardia lamblia* coproantigen by using a commercially available immunoenzymatic assay, in Belo Horizonte, Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 41:151-154, 1999.
- Rosoff JD, Sanders CA, Sonnad SS, Delay PR, Hadley WK, Vincenzi FF, Yajko DM, O'Hanley PD. Stool diagnosis of giardiasis using a commercially available enzyme immunoassay to detect *Giardia*-Specific stool antigen 65 (GSA65). Journal of Clinical Microbiology 27:1977-2002, 1989.
- Rosoff JD, Stibbs HH. Isolation and identification of *Giardia lamblia* specific stool antigen (GSA65) useful in coprodiagnosis of giardiasis. Journal of Clinical Microbiology 23:905-910, 1986.

12. Thompson RC, Reynoldson JA, Mendis AH. *Giardia* and giardiasis. *Advance Parasitology* 32:71-160, 1993.
13. Zimmerman SK, Needham CA. Comparison of conventional stool concentration and preserved - smear methods with merifluor cryptosporidium/giardia direct immunofluorescence assay and prospect giardia EZ microplate assay for detection of *Giardia lamblia*. *Journal of Clinical Microbiology* 33:1942-1943, 1995.