

RELATO DE EXPERIÊNCIA

Perfil de desempenho de técnicas coproscópicas Coproplus® e Hoffman, Pons e Janner no diagnóstico de giardíase

Performance profile of coproscopic techniques Coproplus® and Hoffman, Pons and Janner in the diagnosis of giardiasis

Perfil de rendimiento de las técnicas coproscópicas Coproplus® y Hoffman, Pons y Janner en el diagnóstico de giardiasis

<https://doi.org/10.17058/jeic.v10i2.13913>

Recebido em: 14/07/2019

Aceito em: 27/09/2019

Disponível online: 05/04/2020

Autor Correspondente:

Anderson Sena Barnabe
professorandersonsb@hotmail.com

Universidade Cruzeiro do Sul (Unicsul): Av.
Doutor Ussiel Cirilo, 225, Vila Jacuí, São Paulo,
SP, 08060-070

Carolina Praeiro da Silva¹ 

Katia Regina da Silva Aranda⁴ 

Anderson Sena Barnabe^{2,3} 

Tatiana Ribeiro de Campos de Mello² 

Renato Ribeiro N. Ferraz² 

¹ Universidade Nove de Julho, São Paulo, SP, Brasil.

² Universidade de Mogi das Cruzes, São Paulo, SP, Brasil.

³ Universidade Cruzeiro do Sul, São Paulo, SP, Brasil.

⁴ Universidade Paulista, São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO

Justificativa e Objetivos: Os parasitas intestinais representam um problema de saúde pública no Brasil, e sua identificação é feita rotineiramente, por meio de várias técnicas diagnósticas. Muitas dessas técnicas são criticadas por suas limitações, como a de Hoffman, Pons e Janner. Considerou-se avaliar o grau de sensibilidade diagnóstica dessa técnica em comparação ao método coproscópico de coleta e filtragem Coproplus®, uma vez que esta metodologia também é baseada na concentração de estruturas parasíticas e é uma adaptação prática aos métodos usuais, pois não há documentos diagnósticos de protozoários. **Métodos:** A análise gráfica pelo método de Bland-Altman mostrou que há concordância entre os dois métodos de identificação dos cistos avaliados, ao traçar as diferenças entre o número de cistos contra as médias de ambos os valores. **Resultados:** Verificou-se que, para os protozoários, o uso de apenas um método parasitológico de Hoffman, Pons e Janner não é suficiente para identificar todas as amostras. **Conclusão:** Os métodos têm se mostrado eficazes na identificação de parasitas intestinais, mas nem todos os agentes foram identificados simultaneamente em ambas as técnicas e números de cistos, o que leva à conclusão de que uma técnica pode complementar a outra.

Descritores: Giardíase. Diagnóstico. Sensibilidade.

ABSTRACT

Background and Objectives: Intestinal parasites are a public health problem in Brazil. The identification of parasites in feces is routinely performed by several diagnostic techniques; many of these methods are still criticized for their limitations such as the Hoffman, Pons, and Janner one. We thus considered valid to evaluate the degree of diagnostic

Rev. Epidemiol. Controle Infecç. Santa Cruz do Sul, 2020 Abr-Jun;10(2):181-184. [ISSN 2238-3360]

Por favor cite este artigo como: DA SILVA, Carolina Praeiro et al. Perfil de desempenho de técnicas coproscópicas Coproplus® e Hoffman, Pons e Janner no diagnóstico de giardíase. Journal of Epidemiology and Infection Control, [SJ], v. 10, n. 2 de abril 2020. ISSN 2238-3360. Disponível em: < <https://online.unisc.br/seer/index.php/epidemiologia/article/view/13913> >. Data de acesso: 23 nov. 2020. doi: <https://doi.org/10.17058/jeic.v10i2.13913>.



Exceto onde especificado diferentemente, a matéria publicada neste periódico é licenciada sob forma de uma licença Creative Commons - Atribuição 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

sensitivity of this technique in Coproplus® coproscopic collecting and filtering method, since this methodology is also based on the concentration of parasitic structures, and this is a practical adaptation to the usual methods, since there are diagnosis documents of protozoa. **Methods:** The graphic analysis by the Bland-Altman method showed that there is agreement between the two methods of identification of cysts evaluated when plotting the differences between the number of cysts against the means of both values. **Results:** For protozoa, the use of a single parasitological method – Hoffman, Pons and Janner – is not sufficient to identify all samples. **Conclusion:** The analyzed methods were effective in identifying intestinal parasites, but not all agents were identified simultaneously in both techniques and numbers of cysts, which leads to the conclusion that the two techniques are complementary.

Keywords: Giardíase. Diagnóstico. Sensibilidade.

RESUMEN

Justificación y Objetivos: Los parásitos intestinales son un problema de salud pública en Brasil, y la identificación de parásitos se realiza de forma rutinaria mediante diversas técnicas de diagnóstico. Incluso con la existencia de numerosos métodos de diagnóstico, muchos aún son criticados por sus limitaciones, como el de Hoffman, Pons y Janner. Se consideró oportuno evaluar el grado de sensibilidad diagnóstica de esta técnica en el método de coprofia de recolección y filtro Coproplus®, ya que esta metodología también se basa en la concentración de estructuras parásitas y es una adaptación práctica a los métodos habituales, y no hay documentos de diagnóstico de protozoos. **Métodos:** El análisis gráfico por el método de Bland-Altman mostró que existe una concordancia entre los dos métodos de identificación de los quistes evaluados al rastrear las diferencias entre el número de quistes y los promedios de ambos valores. **Resultados:** Se ha encontrado que, para los protozoos, el uso de un solo método parasitológico (Hoffman, Pons y Janner) no es suficiente para identificar todas las muestras. **Conclusión:** Se ha demostrado que los métodos son eficaces para identificar parásitos intestinales, pero no todos los agentes se han identificado simultáneamente en las técnicas y en el número de quistes, lo que lleva a la conclusión de que una técnica puede complementar a la otra.

Palabras Clave: Giardiasis. Diagnóstico. Sensibilidad.

INTRODUÇÃO

As parasitoses intestinais ainda implicam um problema de saúde coletiva no Brasil, e podem ser consideradas indicadores de baixas condições socioeconômicas, ambientais e sanitárias de uma determinada região, acometendo um grande número de pessoas, principalmente crianças, e são ligadas diretamente à falta de saneamento básico. Essas doenças estão diretamente inseridas no complexo determinante associado à pobreza que evolui num círculo vicioso envolvendo sempre as mazelas sociais.^{1,2}

Uma das parasitoses mais prevalentes, a giardíase configura-se nesse quadro. Causada pelo protozoário *Giardia lamblia*, essa patologia é muito comum, devido à facilidade de transmissão.³ Quando a giardíase ocorre na infância, pode comprometer o desempenho físico e mental, ocasionando prejuízos no desenvolvimento escolar. Em uma fase do seu ciclo evolutivo, as giárdias localizam-se no aparelho digestivo da pessoa, e antes de serem eliminadas nas fezes, tornam-se cistos, o que lhes permitem sobreviver fora do intestino durante meses.²⁻⁴

A via mais comum de contaminação é por esses cistos, que são acidentalmente ingeridos através de água sem tratamento adequado e de alimentos não higienizados.⁴ Uma vez dentro do hospedeiro, os cistos eclodem e os parasitas são liberados, reiniciando o ciclo da doença. Os sintomas mais frequentes da giardíase são: diarreia aquosa acompanhada de cólicas abdominais, náuseas, vômitos, desnutrição causada pela má absorção intestinal e perda de peso significativa.^{3,4} Entretanto, há portadores da doença que não apresentam sintomas, mas carregam

o parasita nas fezes, podendo ampliar a distribuição de cistos junto ao meio ambiente e aumentar as incidências dessa parasitose; essas situações configuram o poder de disseminação desse protozoário.²⁻⁴

A identificação de parasitas (geralmente os cistos) em fezes é feita rotineiramente por variadas técnicas de diagnóstico, que deve ter alta sensibilidade (diagnóstico correto e preditivo positivo), uma vez que o tratamento específico fica dependente dessas condições.^{4,5}

Mesmo diante de inúmeros métodos quantitativos e qualitativos de diagnóstico coproparasitológico, muitos ainda recebem críticas por suas limitações, complexidade de técnica, baixa sensibilidade e alto custo de realização, restringindo sua utilização na rotina de alguns laboratórios.⁶ Na prática laboratorial, o ideal seria utilizar mais de um método para detecção de formas imaturas de helmintos ou protozoários visando diminuir resultados inconclusivos, visto que há importantes variações na positividade do exame de fezes, influenciando significativamente na detecção da infecção, tais como carga parasitária, experiência do laboratorista e tempo de infecção.⁶ Alguns autores corroboram essas ideias e abordaram que nenhum teste é considerado 100% sensível para o diagnóstico. Uma única amostra de fezes examinada para a investigação parasitológica leva à detecção de cerca de 30% das infecções. A sensibilidade do diagnóstico aumenta para cerca de 50% se forem usadas três amostras fecais, e pode chegar perto de 100% com o uso de sete amostras, o que muitas vezes se torna um processo demorado e oneroso.⁷

Na prática, poucas adaptações são feitas em relação

aos exames fecais na atualidade, tendo-se o exame de sedimentação espontânea Hoffman, Pons e Janner (HPJ), como um dos mais comuns.^{8,9} Sendo assim, considerou-se oportuno avaliar o grau de sensibilidade diagnóstica dessa técnica em comparação ao método coproscópico de coleta e filtragem Coproplus®, visto que essa metodologia também se baseia na concentração de estruturas parasitárias e é uma adaptação prática aos métodos usuais, baseando-se na modificação do método de Ritchie.⁹⁻¹¹

METODOLOGIA

Duas amostras doadas pelo fabricante (NL diagnóstica) serviram como parâmetro analítico (uma amostra fecal positiva e uma negativa, ambas previamente confirmadas por analistas da empresa fornecedora e usadas como parâmetro de controle de qualidade).

Após a fase pré-analítica, examinou-se diretamente as amostras, usando 5 g de fezes por técnica. Da realização de cada técnica, foram preparadas 50 lâminas, adicionadas com 200 mg de fezes diluídas conforme as metodologias aplicadas, pressupondo massa específica igual a 1 g/mL, coradas com lugol. Foram descartadas eventuais lâminas cujo excedente líquido ultrapassou o volume determinado e observadas em microscópio óptico. A avaliação da carga parasitária foi baseada na classificação descrita em literatura, as quais consideram infecção leve de 1-100 cistos ou oocistos/lâmina; moderada de 101-300; e elevada com mais de 301 cistos ou oocistos/lâmina.⁹⁻¹²

As lâminas foram lidas em duplicata por dois técnicos por três minutos e comparadas por um terceiro analista para o veredito de positividade quanto à observação dos cistos.¹³

A partir dos resultados da contagem de cistos, a prevalência e densidade parasitária foram analisadas, adicionando uma metodologia de análise gráfica proposta por Bland e Altman (Bland-Altman *graphical analysis*) para avaliar a concordância entre os métodos coproscópicos utilizados, plotando-se as diferenças entre as contagens de parasitas obtidos com os tipos de exames, contra as médias de ambos os valores. Os limites desta concordância estão contidos no intervalo entre a diferença média observada em ambos os métodos acrescida ou subtraída de 1,96 desvios-padrão (média das diferenças $\pm 1,96$ DP). A análise da sensibilidade diagnóstica entre as técnicas e de forma combinada seguiu os parâmetros de acurácia vistos em outros trabalhos.^{12,13} Todas as avaliações usaram um alfa de 0,05 como base de aceitação das hipóteses estatísticas.¹⁴ As amostras doadas não tinham nenhum tipo de dados clínicos ou documentais dos doadores e eram usufruíveis apenas para testes de garantia de qualidade.

RESULTADOS

Foram vistos nas amostras positivas pela técnica Coproplus® 47 lâminas consideradas como verdadeiro positivo (VP), 3 lâminas falso negativo (FN), 4 lâminas falso positivo (FP) e 46 lâminas verdadeiro negativo (VN), indicando sensibilidade de 94% (intervalo de confiança: 89-96%).

A técnica pelo método de Hoffman apresentou: 49 lâminas VP, 1 lâmina FN, 3 lâminas FP e 47 lâminas VN, indicando sensibilidade de 98% (intervalo de confiança: 95-99%).

A análise gráfica pelo método Bland-Altman mostrou existir concordância entre os dois métodos de identificação de cistos avaliados, quando se plotam as diferenças entre a quantidade de cistos contra as médias de ambos os valores, já que a maioria dos valores plotados permaneceu dentro do limite de concordância de $\pm 1,96$ DP (Figuras 1 e 2). Não foi possível comparar a quantidade de cistos nas amostras não contaminadas (Figura 3), sendo assim, é inviável o cálculo da especificidade diagnóstica.

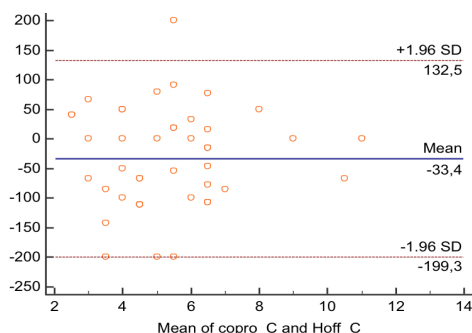


Figura 1. Análise gráfica de Bland-Altman da quantidade de cistos observados em amostras contaminadas (valores percentuais), identificados com o kit Coproplus® e pelo método de HPJ.

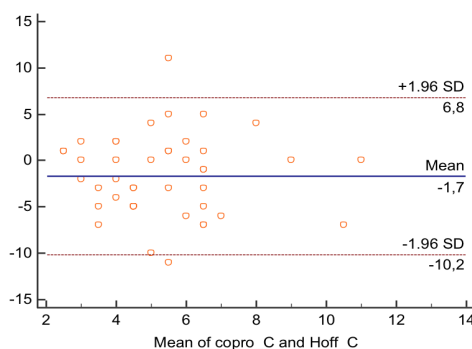


Figura 2. Análise gráfica de Bland-Altman da quantidade de cistos observados em amostras contaminadas, identificados com o kit Coproplus® e pelo método de HPJ.

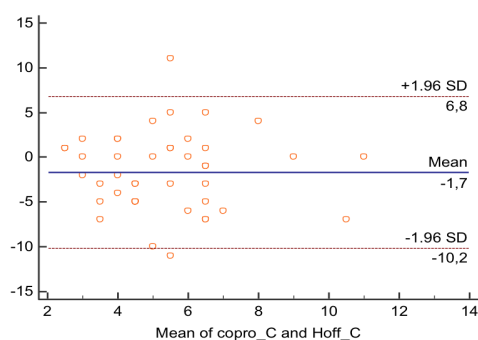


Figura 3. Impossibilidade de interpretação dos resultados provenientes da análise gráfica de Bland-Altman devido à pequena quantidade de cistos observados em amostras não-contaminadas, identificados com o kit Coproplus® e pelo método de HPJ.

DISCUSSÃO

O tema em estudo tem um aspecto importante sobre as técnicas de acurácia diagnóstica dicotômica: a capacidade do método de acertar o diagnóstico. A finalidade deste é estabelecer um elo entre as respostas, uma vez que essas interpretações contribuem para a obtenção dos resultados desejáveis.

A técnica Coproplus® apresenta-se como uma aplicação recente junto às práticas parasitológicas, e a análise estatística de seu desempenho pode ampliar suas aplicações junto a levantamentos epidemiológicos, dada sua praticidade e eficiência, tanto na fase pré quanto na analítica.⁸

Ao compararmos os métodos Coproplus® e HPJ, constatamos que a diferença de sensibilidade é de 4%; esse valor nos dá a ideia da funcionabilidade de ambas metodologias, de modo que os métodos são aprazíveis dentro das aplicações laboratoriais.

Análises de eficácia dessas técnicas parasitológicas já foram padronizadas em relação a uma possível situação de quantificação para ovos de helmintos.⁹ Corroborar-se os resultados dessa pesquisa, visto que observamos um perfil de desempenho similar entre os métodos; entretanto, com os dados obtidos neste estudo, verificou-se que para protozoários, a utilização de apenas um método parasitológico não é suficiente para identificar todas as amostras. Os métodos mostraram eficiência na identificação dos parasitas intestinais, porém nem todos os agentes foram identificados simultaneamente nas duas técnicas e em números de cistos, o que leva à conclusão de que técnica pode complementar a outra, sendo sugerido a utilização de ambas com base no aumento da sensibilidade diagnóstica. De acordo com Mendes et al.,¹⁰ em laboratórios de rotina seria importante realizar mais de um método de diagnóstico para detectar as formas parasitárias de protozoários e helmintos, principalmente quando há baixa carga parasitária. Os métodos utilizados se mostraram um meio rápido e barato para o estudo também de cistos, sendo exames não invasivos e úteis para levantamentos de perfil diagnóstico e epidemiológico.

Novos estudos devem ser efetuados com base em amostras populacionais, colhidas em situações convencionais envolvendo público vivente em áreas de alta endemicidade, para que assim o teste seja desafiado.

REFERÊNCIAS

1. Pacheco SJ. Estigmatização social pela leishmaniose cutânea no estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Reciis – Rev Eletron Comun Inf Inov Saúde*. 2017;11(3). doi: 10.29397/reciis.v11i3.1091
2. Grott SC, Hartmann B, Silva Filho HH, Franco RMB, Goulart JAG. Detecção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. na água bruta das estações de tratamento no município de Blumenau, SC, Brasil. *Rev Ambient Água*. 2016;11(3):689-701. doi: 10.4136/ambi-agua.1853
3. Dias LR, Pequeno IFP, Cavalcante UMB, Silva CR, Lima MBL, Freitas FIS. Estudo coproparasitológico e epidemiológico de crianças e manipuladores de alimentos durante 3 anos em uma creche da Paraíba. *Rev Epidemiol Control Infec*. 2017;7(2):90-5. doi: 10.17058/reci.v7i2.7981

4. Pina ILT. Detecção de *Cryptosporidium*, *Giardia* e *Escherichia coli* em vegetais consumidos crus e possíveis implicações em saúde pública [tese] [Internet]. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa; 2017 [citado 2019 jul 14]. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/13220>
5. Brandão ML, Chame M, Cordeiro JLP, Chaves SAM. Diversidade de helmintos intestinais em mamíferos silvestres e domésticos na Caatinga do Parque Nacional Serra da Capivara, Sudeste do Piauí, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2009;18 Supl. 1:19-28. doi: 10.4322/rbvp.018e1004
6. Sudré AP, Macedo HW, Peralta RHS, Peralta JM. Diagnóstico da estrogiloidíase humana: importância e técnicas. *Rev Patol Trop*. 2006;35(3):173-84. doi: 10.5216/rpt.v35i3.1876
7. Hoffman WA, Pons JA, Janer JL. The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. *J Public Health Trop Med*. 1934;9:238-98.
8. Araújo AJUS, Kanamura HY, Dias LCS, Gomes JF, Araújo SM. Coprotest® quantitativo: quantificação de ovos de helmintos em amostras fecais utilizando-se sistema de diagnóstico comercial. *J Bras Patol Med Lab*. 2003;39(2):115-24. doi: 10.1590/S1676-24442003000200005
9. De Carli GA. Parasitologia clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas [Internet]. 2a ed. São Paulo: Atheneu; 2007 [citado 2020 jun 29]. Disponível em: https://www.academia.edu/28431021/Parasitologia_C%C3%ADnica-Geraldo_Attilio_de_Carli_biomedlivros
10. Mendes CR, Teixeira ATLS, Pereira RAT, Dias LCS. Estudo comparativo de técnicas parasitológicas: Kato-Katz e coprotest®. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005;38(2):178-80. doi: 10.1590/S0037-86822005000200010
11. Pinto RM, Vicente JJ, Noronha D, Gonçalves L, Gomes DC. Helminth parasites of conventionally maintained laboratory mice. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1994;89(1):22-40. doi: 10.1590/S0074-02761994000100007
12. Ferraz RRN, Namba TK, Nigro CA, Rodrigues FSM, Fornari JV, Barnabé AS. Comparação entre os métodos de extração de metacercárias de *Ascocotyle* sp (Trematoda: Digenea) dos tecidos de *Mugil liza* Valenciennes, 1836 (Teleostei: Mugilidae). *Ciênc Anim Bras*. 2010;15(3):354-61. doi: 10.1590/1809-6891v15i328163
13. Altman DG, Bland JM. assessing agreement between methods of measurement. *Clin Chem*. 2017;63(10):1653-4. doi: 10.1373/clinchem.2016.268870
14. Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst Rev*. 2015;4(1):10-6. doi: 10.1186/2046-4053-4-1

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Carolina Praeiro da Silva, Anderson Sena Barnabe e Renato N. Ferraz: contribuíram na concepção, delineamento do artigo, leitura das amostras, análise e redação do artigo, além das análises estatísticas.

Katia R. Aranda e Tatiana de Campos Mello: contribuíram para o planejamento, revisão das línguas inglesa e espanhola no resumo, contribuição para análise do texto e revisão e aprovação final do artigo.