



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Faculdade de Medicina Veterinária  
Câmpus de Araçatuba

**Bianca Evelin Belão**

**EFICÁCIA DE MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE *Giardia*  
spp EM CÃES: REVISÃO SISTEMÁTICA**

**Araçatuba – São Paulo  
2017**

**Bianca Evelin Belão**

**Eficácia de métodos diagnósticos de *Giardia* spp em cães: revisão sistemática**

Trabalho Científico, como parte do Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, câmpus de Araçatuba, para obtenção do grau de Médico Veterinário.

**Orientadora: Profa. Dra. KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI**

**Araçatuba – São Paulo  
2017**

## **ENCAMINHAMENTO**

Encaminhamos o presente Trabalho Científico para que a Comissão de Estágios Curriculares tome as providências cabíveis.

---

**Bianca Evelin Belão**  
**Estagiária**

---

**Profa. Dra. KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI**  
**Orientadora**

**Araçatuba – São Paulo**  
**Junho / 2017**

## DEDICATÓRIA

A Deus, que tornou esse sonho possível. À minha família, que sempre acreditou em mim. À Clara, que chegou para iluminar nossos dias. Ao Gregório, que foi meu fiel companheiro durante todos esses anos, sempre com olhar carinhoso e um apoio incondicional, ainda que silencioso. À Nina, Estrela e Nicky, que me inspiraram a chegar até aqui. À professora Katia, que me orientou com paciência, dedicação e sempre com um sorriso no rosto. A todos os professores e colaboradores dessa faculdade que tenho orgulho de chamar de minha, UNESP Araçatuba.

## EPÍGRAFE

“Não possuis casa, navio, terra. Mas tens um cão.” – trecho do poema  
“*Consolo na praia*”, de Carlos Drummond de Andrade.

# Eficácia de métodos diagnósticos de *Giardia* spp em cães: revisão sistemática

Bianca Evelin Belão

## RESUMO

Apesar de haverem diversas opções diagnósticas na detecção de *Giardia* spp em cães, pouco se sabe sobre a eficácia dos testes disponíveis. A partir disso, uma revisão sistemática foi elaborada com base na hipótese da existência de um método diagnóstico com sensibilidade e especificidade superior entre todos os descritos na literatura. As bases de dados consultadas foram PubMed e Capes, com o uso dos termos “Giardiasis AND Diagnosis AND Dogs”, e os critérios de inclusão foram trabalhos publicados entre 2007 e 2017, escritos em língua inglesa e que avaliavam resultados dos métodos diagnósticos apenas em cães. Cinco artigos atenderam a esses critérios. Na interpretação desses estudos, foi concluído que não há um método que se mostre mais eficaz no diagnóstico de *Giardia* spp em cães quando utilizado isoladamente, porém a combinação de técnicas como a flutuação em sulfato de zinco e o ELISA aumenta significativamente a sensibilidade dos resultados, agregando confiabilidade ao diagnóstico.

**Palavras-chave:** Giardíase. Ensaio de imunoadsorção enzimática. Imunofluorescência. Gastroenterite.

# Efficacy of diagnosis methods of *Giardia* spp in dogs: systematic review

Bianca Evelin Belão

## SUMMARY

Although there are several diagnostic options in the detection of *Giardia* spp in dogs, little is known about the effectiveness of the available tests. From this, a systematic review was elaborated based on the hypothesis of existence of a diagnostic method with higher sensitivity and specificity among all those described in the literature. The databases consulted were PubMed and Capes, using the terms “Giardiasis AND Diagnosis AND Dogs”, and the inclusion criteria were articles published between 2007 and 2017, written in English language and evaluating results of diagnostic methods only in dogs. Five articles attended to these criteria. In the interpretation of these studies, it was concluded that there is no method that is more effective in the diagnosis of *Giardia* spp in dogs when used individually, but the combination of techniques such as zinc sulfate flotation and ELISA significantly increases the sensitivity of the results, adding reliability to the diagnosis.

**Palavras-chave:** Giardiasis. Enzyme immunoassay. Immunofluorescence. Gastroenteritis.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Métodos diagnósticos e número de animais investigados nos estudos selecionados de acordo com autor e ano .....	14
---	----



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ensaio imunoenzimático em fase sólida);

F ZnSO<sub>4</sub> = Flutuação em sulfato de zinco;

IFD = Imunofluorescência direta;

SNAP G = *Giardia* SNAP Test ;

SNAP I = SNAP Imunocromatografia para detecção de antígenos;

SRT = *Single Rapid Test* (teste único rápido);

TRT = *Triple Rapid Test* (teste triplo rápido).

;

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	11
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	13
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	14
4. CONCLUSÃO .....	18
5. REFERÊNCIAS .....	19

## 1 INTRODUÇÃO

*Giardia* spp são flagelados encontrados no trato intestinal de humanos, animais domésticos e silvestres, como pássaros e anfíbios do mundo todo. Este gênero contém múltiplas espécies, que são em sua maioria indistinguíveis morfologicamente, sendo identificadas as espécies *Giardia duodenalis*, *Giardia agilis*, *Giardia muris*, *Giardia microti*, *Giardia ardeae* e *Giardia psittaci*. A primeira delas é uma sinonímia de *Giardia intestinalis* ou *Giardia lamblia*, sendo a espécie que infecta pessoas, cães e gatos (TANGTRONGSUP; SCORZA; 2010).

A infecção ocorre pela ingestão de cistos de *Giardia* spp na água e alimentos contaminados. O excistamento inicia-se no estômago, pela ação do pH ácido na parede do cisto, e termina no duodeno (SOGAYAR; GUIMARAES; 2000). Assim, ocorre a ruptura da parede do cisto e a liberação de dois trofozoítos, os quais se aderem à superfície das células epiteliais das microvilosidades do duodeno e do jejuno dos hospedeiros. Esta aderência acontece por meio de uma força de sucção ou pela contração de proteínas do disco adesivo ventral, e também pode ocorrer pela interação de proteínas do protozoário com receptores de células epiteliais. Após, acontece multiplicação por fissão binária, e estabelecimento do protozoário na mucosa do intestino delgado. O processo de formação dos cistos ocorre devido à resposta imunológica e esses são eliminados nas fezes uma a duas semanas após a infecção, sendo que em condições adequadas de temperatura e umidade permanecem infectantes por no mínimo dois meses (JERICÓ et al., 2015).

A manifestação clínica mais comum da giardíase é a intestinal. As diarreias variam entre agudas, crônicas ou intermitentes (MUNDIM et al., 2003). Os sintomas são caracterizados por fezes pastosas, fétidas ou diarreicas, com muco, esteatorreia, irritabilidade, náuseas, constipação intestinal, dores abdominais, desidratação e emagrecimento (JERICÓ et al., 2015). Estes aparecem de um a sete dias antes da detecção de cistos de *Giardia* spp nas fezes. O paciente pode evoluir para cura ou avançar para uma fase crônica que pode durar anos com a eliminação de cistos sem sinais clínicos ou com apresentação de episódios de diarreia (RIVERA et al., 2002).

O diagnóstico baseia-se na detecção de cistos ou trofozoítos de *Giardia* spp nas fezes, entretanto os animais podem eliminar cistos de maneira intermitente. A identificação dos mesmos pode ser realizada por meio de exame microscópico das fezes frescas, através das técnicas de flutuação em sulfato de zinco ou em sacarose. Em amostras diarreicas, os trofozoítos são identificados por sua movimentação circular. O método de ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (ELISA) pode ser utilizado para diagnóstico de *Giardia* spp, e visa detectar coproantígenos nas fezes (JERICÓ et al., 2015).

A elevada ocorrência de giardíase em cães, o alto número de casos diagnosticados erroneamente e as diversas opções diagnósticas dessa doença levaram ao seguinte questionamento: “qual o método de maior especificidade e sensibilidade para diagnosticar giardíase em cães?”, dando origem a essa revisão sistemática, cujo objetivo é investigar a hipótese de que há um método mais eficaz para diagnosticar infecções por *Giardia* spp.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Esta revisão sistemática consiste em um levantamento bibliográfico que foi realizado e revisado em maio de 2017 e teve como bases de dados o PubMed e o portal Capes. A pergunta para a elaboração da revisão sistemática foi estruturada com base nos elementos do PICO, conceituado pela “Medicina Baseada em Evidência”: Paciente: cães com suspeita de giardíase; Intervenção: métodos diagnósticos; Comparação: diferentes testes diagnósticos; Outcome/desfecho: teste de maior sensibilidade e especificidade na detecção de *Giardia* spp. Essa pergunta de pesquisa gerou a seguinte estratégia para busca nas bases de dados informadas: *Giardiasis AND diagnosis AND dogs*. Após refinamento da pesquisa para artigos entre 2007 e 2017, foram identificados 97 e 254 estudos nas bases de dados PubMed e Capes, respectivamente. Pela análise do resumo, da metodologia e seleção de trabalhos que foram escritos em inglês e avaliavam testes diagnósticos realizados apenas em cães, foram selecionados cinco artigos entre 2007 e 2016. Literatura complementar foi utilizada na elaboração da introdução.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Tabela 1 - Métodos diagnósticos e número de animais investigados nos estudos selecionados de acordo com autor e ano**

<b>Autor</b>	<b>Ano</b>	<b>Nº de animais</b>	<b>Método diagnóstico</b>
GEURDEN T. et al.	2008	413	Flutuação em sacarose/ IFD/ SNAP I
RISHNIW M. et al.	2010	20	F ZnSO <sub>4</sub> /IFD/ ELISA/ SNAP G
RIMHANEN-FINNE R. et al.	2007	150	IFD/ELISA
COSTA M. et al.	2016	51	SNAP G /F ZnSO <sub>4</sub> / SRT/ TRT
ALVES J.; SANTOS A.	2016	49	F ZnSO <sub>4</sub> e ELISA

Na Tabela 1 podem ser observados os testes diagnósticos utilizados em cada estudo, sendo que a maioria dos trabalhos selecionados estudaram a eficácia dos testes de flutuação em ZnSO<sub>4</sub>, imunofluorescência direta e ELISA. Estes métodos são os mais comumente encontrados na literatura, justificando o maior interesse dos autores em avaliar sua sensibilidade e especificidade na detecção de *Giardia* spp.

GEURDEN et al. (2008) comparou três métodos diagnósticos (Tabela 1). As amostras fecais foram obtidas de animais conduzidos pelos proprietários às clínicas veterinárias por distúrbios gastrointestinais (141) e de cães selecionados aleatoriamente cujo histórico clínico era desconhecido (272). Como conclusão, as técnicas de flutuação em sacarose, imunofluorescência direta e SNAP Imunocromatografia foram consideradas bastante específicas para identificar *Giardia duodenalis* nesses animais, apresentando taxa de especificidade de 92 a 95%. O teste de imunofluorescência direta (IFD) foi ligeiramente mais específico e sensível que os demais.

Em amostras fecais de 20 cães com apresentação subclínica de giardíase, coletadas três vezes por semana durante 120 dias, foi realizada imunofluorescência direta em sua totalidade, flutuação em sulfato de zinco em aproximadamente 34 amostras de cada animal e testes de coproantígenos em aproximadamente 17 amostras por cão. Resultados semelhantes em relação ao teste de IFD foram constatados, com demonstração de superioridade aos demais métodos avaliados, principalmente em relação à flutuação em sulfato de zinco, que apresentava muitos

resultados falso-negativos, mesmo quando realizada por profissional altamente qualificado e em condições de prevalência alta. Por meio do ELISA e do Giardia SNAP Test foi verificada maior sensibilidade (93%) em relação à técnica de flutuação em ZnSO<sub>4</sub> (72-78%) . Esse trabalho concluiu que a acurácia de testes considerados padrão ouro para diagnóstico da infecção por *Giardia* spp em cães é questionável (RISHNIW et al., 2010).

Em um terceiro trabalho, um total de 150 amostras fecais caninas de consistência normal foram utilizadas, sendo que para 133 animais foram coletadas duas alíquotas, e apenas uma para 17 animais num intervalo de 5 a 7 dias. O teste de IFD foi utilizado como padrão ouro, e os animais foram considerados positivos quando apresentavam uma ou duas amostras reagentes sucessivas para *Giardia* spp. Comparado à IFD, o teste ELISA obteve uma sensibilidade de 100% e especificidade de 95%. Portanto, não houve demonstração de superioridade da acurácia da imunofluorescência, como ocorreu nos resultados de Geurden et al (2008) e Rishniw et al (2010) . Também foi constatado que os antígenos utilizados para o *Giardia* ELISA, preparados a partir de fezes humanas, foram capazes de detectar genótipos específicos para animais. Devido à eliminação intermitente de cistos de *Giardia* spp nas fezes, a literatura recomenda a utilização de duas amostras para o diagnóstico da doença. Nesse estudo, porém, uma amostra fecal demonstrou-se suficiente para detectar a infecção nos cães. Também foi observado que o número de cães positivos é maior nos animais jovens, e que todos os cães infectados apresentavam genótipos específicos para animais, o que indica um risco reduzido de transmissão zoonótica (RIMHANEN-FINNE R. et al., 2007).

Dentre os 51 animais cujas amostras foram coletadas no estudo de COSTA et al. (2016), 41 apresentavam histórico de diarreia em suas anamneses. Foi comparada a eficácia da técnica de flutuação em ZnSO<sub>4</sub> em relação ao SNAP *Giardia* Test e a outros dois kits comerciais, o *Single Rapid* e o *Triple Rapid Giardia Tests*. No primeiro método diagnóstico, as amostras foram consideradas positivas quando os dois avaliadores (com experiência na técnica) identificavam cistos de *Giardia* spp. O SNAP Test foi tido como positivo quando tanto a área a ser testada quanto o ponto controle se coravam em azul em até 5 minutos. Já o SRT e o TRT foram considerados positivos quando as faixas da área de teste e da área de controle do kit se coravam em vermelho (COSTA et al., 2016).

Houve diferença significativa entre os resultados positivos do SRT e do TRT, sendo que o TRT teve 24 casos confirmados de infecção, enquanto o SRT teve apenas 15 casos. Considerando que os testes são produzidos pelo mesmo fabricante e possivelmente contém o mesmo anticorpo para detecção de *Giardia* spp, essa discrepância entre os resultados é difícil de ser explicada. No entanto, essa informação não é fornecida pelo fabricante. Uma possibilidade apontada por El-Nahas (2013) seria que o *Single Test* é desenvolvido para cães e gatos, enquanto que o *Triple Test* é voltado apenas para cães, o que poderia indicar uso de diferentes anticorpos ou limites de detecção, justificando a baixa sensibilidade do *Single Test* (COSTA et al., 2016).

No estudo supramencionado, o teste de flutuação em ZnSO<sub>4</sub> e SNAP G foram considerados métodos de referência, devido ao seu amplo uso na rotina clínica e ao grande número de trabalhos avaliando a performance dos mesmos, indicando alta especificidade apesar da sensibilidade relativamente baixa. No entanto, Mekaru et al (2007) demonstrou que quando esses testes são realizados em paralelo e seus resultados são comparados àqueles onde a imunofluorescência direta foi empregada como padrão ouro, a sensibilidade combinada dos métodos tem um aumento significativo (de 0,85 para 0,98). Por esse motivo, os resultados foram considerados positivos verdadeiros quando detectados no SNAP e/ou teste de flutuação em ZnSO<sub>4</sub>. Este trabalho concluiu que ambos os testes rápidos apresentam sensibilidade menor que a combinação dos testes SNAP G e de flutuação em sulfato de zinco (COSTA et al., 2016).

Também foi avaliada a prevalência de *Giardia* spp em cães jovens unindo as técnicas de ELISA e flutuação em ZnSO<sub>4</sub> em um outro trabalho. Das 49 amostras fecais analisadas, cinco foram positivas com a técnica de flutuação e seis com o teste ELISA. Na combinação de ambos os resultados, cinco cães foram positivos para infecção por *Giardia* spp. Desse modo, foi concluído que a associação dessas técnicas aumenta a capacidade diagnóstica na rotina clínica e diminui o risco de resultados falso-positivos, uma vez que a sensibilidade aumenta significativamente com essa manobra. Esse procedimento também se mostra vantajoso pelo fato de ambos os testes serem de fácil execução e baixo investimento financeiro, pois não exigem equipamentos caros para sua realização (ALVES; SANTOS. 2016).



A técnica de flutuação em ZnSO<sub>4</sub>, uma das mais comumente utilizadas na rotina clínica, possui baixa sensibilidade quando empregada isoladamente, mesmo se realizada por profissional especializado na técnica, potencializando o risco de resultados falso-negativos. Por isso, deve ser associada a outros testes para aumentar sua confiabilidade (ALVES; SANTOS; 2016; COSTA et al., 2016; RISHNIW et al., 2010).

Após o levantamento de trabalhos para realização desta revisão sistemática, foi constatado que há uma carência de estudos clínicos randomizados avaliando a eficácia dos diferentes métodos diagnósticos da giardíase em cães, fazendo-se necessária a realização de mais experimentos.

#### 4 CONCLUSÃO

Por meio da interpretação de estudos já existentes, é possível concluir que não há um teste diagnóstico que se mostre superior em relação aos demais quando utilizado isoladamente na detecção de *Giardia* spp. Porém, a combinação de técnicas como a flutuação em sulfato de zinco e o ELISA é altamente recomendável na rotina clínica, uma vez que a sensibilidade dos resultados obtidos tem um aumento significativo, agregando confiabilidade ao diagnóstico para posterior instituição da terapêutica correta.

## 5 REFERÊNCIAS

ALVES, J.; SANTOS, A. Prevalence of *Giardia* spp. in young dogs using a combination of two diagnostic methods. **Acta Parasitologica**, v. 61, n. 2, p. 261-266, 2016.

COSTA, M. et al. Diagnostic accuracy of two point-of-care kits for the diagnosis of *Giardia* species infection in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 57, n. 6, p. 318-322, 2016.

EL-NAHAS, A. et al. *Giardia* diagnostic methods in human fecal samples: a comparative study. **Cytometry Part B: Clinical Cytometry**, v. 84, n. 1, p. 44-49, 2013.

GEURDEN, T. et al. A Bayesian evaluation of three diagnostic assays for the detection of *Giardia duodenalis* in symptomatic and asymptomatic dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 157, n. 1, p. 14-20, 2008.

JERICÓ, M.; KOGIKA, M.; DE ANDRADE NETO, J. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. Rio de Janeiro: Roca, 2015, p. 690-694.

MEKARU, R. et al. Comparison of direct immunofluorescence, immunoassays, and fecal flotation for detection of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in naturally exposed cats in 4 Northern California animal shelters. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 5, p. 959-965, 2007.

MUNDIM, M. J. S.; SOUZA, S.Z.; HORTÊNCIO, S. M. ; CURY, M. C. Frequência de *Giardia* spp. por duas técnicas de diagnóstico em fezes de cães. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.55, n.6, p.13. Belo Horizonte, 2003.

RIMHANEN-FINNE, R. et al. Evaluation of immunofluorescence microscopy and enzyme-linked immunosorbent assay in detection of Cryptosporidium and Giardia infections in asymptomatic dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 145, n. 3, p. 345-348, 2007.

RISHNIW, M. et al. Comparison of 4 Giardia diagnostic tests in diagnosis of naturally acquired canine chronic subclinical giardiasis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 2, p. 293-297, 2010.

RIVERA, M. et al. Giardiasis intestinal. Mini-revisión. **Investigación Clínica**, v. 43, n. 2, 2002.

SOGAYAR, M. I. T. L.; GUIMARÃES, S.; NEVES, D. P. Giardia lamblia. **Parasitologia humana**, v. 10, p. 107-113, 2000.

TANGTRONGSUP, S.; SCORZA, V. Update on the diagnosis and management of Giardia spp infections in dogs and cats. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 25, n. 3, p. 155, 2010.