

Corelarea examenului coproparazitar cu testul imunoenzimatic ELISA în protozooze umane

Eugenia TIRIFON, Adina GATEA*

MVD, PhD, Laborator Simona, București

* Chimist, Director Laborator Simona, București

REZUMAT. Giardioza și criptosporidioza au fost diagnosticate prin corelarea metodelor de examinare coproparazitologică, cu cele imunoparazitologice – ELISA.

Experimentul a fost efectuat pe 176 probe de materii fecale.

Pentru 65,11% din probele investigate microscopic s-a relevat absența formelor parazitare, care a fost ulterior corelată cu rezultatele negative ale testelor ELISA.

La 32,55% din probele luate în studiu s-a constatat prezența microscopică a protozoarelor (*G. lamblia* și *C. parvum*), care a fost corelată atât cu aspectul modificat al materiilor fecale, cât și cu rezultatele pozitive ale testelor ELISA.

În experiment este relevată importanța corelării examenului microscopic, cu cel macroscopic și utilitatea confirmării sau infirmării prin testul imunoenzimatic - ELISA.

Introducere

Protozoozele luate în studiu sunt parazitoze intestinale ubiquitare produse de flagelate din genul *Giardia* și sporozoare din genul *Cryptosporidium*, cu desfășurarea ciclului vital parazitar, în special în celulele intestinale.

În principal, patogeneza agenților etiologici constă în fenomene de malabsorbție, cu distrugerea microbiotei intestinale: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* și implicit a activității β -galactozidazei. (1,3,4)

Evoluția acestor fenomene patologice este facilitată de: absența celulelor plasmaticice IgA din produsul de secreție al glandelor mucoasei intestinale și implicit deficiența secretorie IgA, cu predominanța nodulilor limfoizi; ulcer gastrointestinal, afecțiuni ale canalelor biliare și pancreatice; sindrom imunodeficitar (AIDS) care evoluează în asocieră cu diferite categorii de paraziți și agenți microbieni.

Testul ELISA prezintă avantaje în diagnosticarea și supravegherea epidemiologică a protozoozelor, deoarece examinarea microscopică este limitată de experiența examinatorului, precum și de eliminarea intermitentă a chisturilor de protozoare.

Material și metodă

Examinările au fost efectuate randomizat, într-o perioadă de patru luni, pe un număr de 176 probe de materii fecale provenite de la pacienți cu vârsta cuprinsă între 6 luni și 67 de ani, cu diagnostic prezumtiv predominant - de parazitoză intestinală.

Pentru o probă de materii fecale luată în studiu s-a efectuat examenul coproparazitologic și imunoparazitologic - prin corelarea a trei metode de examinare:

- examenul **macroscopic** - din punct de vedere:

- al consistenței și culorii;

- al prezenței: formelor parazitare, pseudomembranelor și striurilor sanguine;

- examenul **microscopic** al materiilor fecale a constat în:

- examinarea preparatelor native sau colorate cu soluție Lugol;

- examinarea prin metoda de îmbogățire Willis-Hung.

• investigațiile imunologice pentru detectarea coproantigenelor de protozoare - *Giardia lamblia* și *Cryptosporidium parvum* s-a efectuat cu truse ELISA de la IVD Research Inc. Carlsbad, USA.

Rezultate

1. Rezultatele examinării microscopice pentru 65,11% (n = 115) din probele luate în studiu au relevat absența formelor parazitare, respectiv *Giardia lamblia* și *Cryptosporidium parvum*. (fig.1)

Absența microscopică a protozoarelor a fost corelată cu rezultatul negativ al testului ELISA și cu aspectul macroscopic normal al materiilor fecale.

Din această categorie de probe examinate, unele prezentau aspect macroscopic modificat, la care s-a confirmat microscopic existența parazitului *Ascaris lumbricoides*.

2. Prin examinarea microscopică a 32,55% din probele luate în studiu (n = 57) s-a constatat prezența protozoarelor, din care: 28,55% (n = 50) pentru chisturile de *G. lamblia* și 3,99% (n = 7) pentru oochisturile de *C. parvum*.

Existența celor două categorii de paraziți a fost confirmată prin pozitivitatea rezultatelor testelor

ELISA pentru *G. lamblia* și *C. parvum*. Rezultatul pozitiv pentru ELISA a fost corelat cu aspectul macroscopic predominant modificat al materiilor fecale: consistența semisolidă, lichidă, gelatinoasă și culoare modificată.

În anumite situații, abundența formelor parazitare în câmpul microscopic a coincis cu valoare crescută în densități optice la testul ELISA.

3. Pentru 2,32% din probele examinate microscopic (n = 4) s-a relevat absența chisturilor de *G. lamblia* și rezultat pozitiv pentru testul ELISA.

4. Prin rezultatele examenelor parazitologice s-a confirmat predominant, aspectul de monoparazitism în organismul infestat - 97% din cazurile examinate (n 171).

Pentru 3% din probele examinate (n = 5) s-a constatat aspectul de poliparazitism - asocieri între infestații cu protozoare (*G. lamblia* sau *C. parvum*) și helminți (*Ascaris lumbricoides*, *Hymenolepis nana*).

5. Într-un procent nesemnificativ din probe s-a reliefat microscopic, prezența rară a chisturilor și oochisturilor de *G. lamblia* și *C. parvum*, pentru care valorile ELISA au fost negative, dar cu un nivel crescut de densități optice, de aproximativ 120 - 140, apropiat de valoarea cut-off-ului.

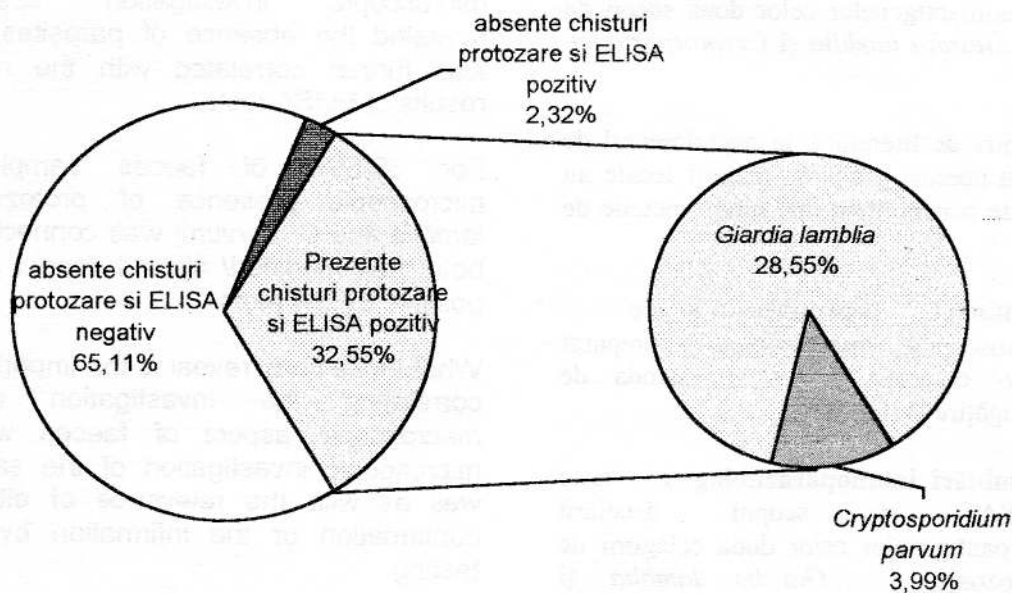


Figura 1
Rezultatele examinărilor microscopice și ale testelor ELISA

Discuții

Conform datelor recente din literatură, prin examenul coproparazitologic efectuat într-o colectivitate de copii infectați cu HIV s-au semnalat infestații cu: *Cryptosporidium parvum* – 9,88%, *Giardia lamblia* – 53,48%, precum și cazuri suspecte de infestare cu *Cryptosporidium parvum* – 13,37%.(5)

S-a efectuat un studiu pe 75 de copii spitalizați, prin diagnosticarea giardiozei din punct de vedere parazitologic și serologic – prin testul de imunofluorescență indirectă. (2)

Eficiența celor două metode de diagnostic în giardioză a fost studiată separat (pe probe diferite): 29,78% din probe au fost pozitive pentru diagnostic coproparazitologic iar 50% din probe au fost pozitive pentru diagnostic ELISA. (6)

Comparând datele din literatură, cu rezultatele obținute în acest experiment se pot discuta următoarele aspecte.

În literatură se menționează că examenele coproparazitologice au fost efectuate în general, pentru o singură specie de parazit. Pentru o probă luată în studiu, nu s-au utilizat în paralel cele două metode de diagnostic: coproparazitologic și imunoparazitologic - teste ELISA pentru decelarea coproantigenelor celor două specii de protozoare: *Giardia lamblia* și *Cryptosporidium parvum*.

Spre deosebire de literatură, în experimentul de față, pentru aceeași probă de materii fecale au fost efectuate concomitent mai multe metode de examinare:

- **examinări coproparazitologice** – macroscopice, microscopice – preparat nativ- colorația Lugol și metoda de îmbogățire Willis-Hung;
- **examinări imunoparazitologice** – teste ELISA, în scopul decelării coproantigenelor celor două categorii de protozoare - *Giardia lamblia* și *Cryptosporidium parvum*.

Concluzii

1. Pentru 32,55% din probele examinate microscopic, prezența chisturilor de *Giardia lamblia* și oocisturilor de *Cryptosporidium parvum*, a fost confirmată prin pozitivitatea rezultatelor testelor ELISA și a fost corelată cu aspectul macroscopic predominant modificat al materiilor fecale.

2. În 65,11% din probele examinate microscopic nu s-au constatat paraziți, rezultat confirmat imunologic.

3. Rezultatele investigațiilor de laborator relevă importanța corelării examenului macroscopic, cu cel microscopic și utilitatea confirmării sau infirmării prin testul imunoenzimatic - ELISA.

SUMMARY

Corelation between the coproparasitological exam and ELISA in human protozoonosis

Giardiasis and cryptosporidiosis were diagnosed by coproparasitological methods in correlation with the imunoparasitological ones - ELISA.

The experiment was conducted on a number of 176 faeces sample. 65,11% of the microscopic investigation specimens revealed the absence of parasites, which was further correlated with the negative results of ELISA tests.

For 32,55% of faeces sample, the microscopic presence of protozoa (*G. lamblia* and *C. parvum*) was connected with both their modified/ altered aspect and the positive ELISA tests.

What those finds reveal is the importance of correlating the investigation of the macroscopic aspect of faeces with the microscopic investigation of the same, as well as with the relevance of either the confirmation or the infirmation by ELISA testing.

Bibliografie

1. Buret et al., 1992, Pathophysiology of small intestinal malabsorption in gerbils infected with *G. lamblia*. Gastro 103: p.506-516.
2. Drăgotescu Irena și col., Corelație între diagnosticul parazitologic și diagnosticul serologic în giardioză, Revista Română de Parazitologie, Vol. X, nr.1, pag. 36-38.
3. Farthing N.J.,1991, Parasitic and fungal infections of the digestive tract. Pediatric Gastrointestinal Disease.
4. Mantovani S.et al., 1991, Lactose malabsorption in children with symptomatic *G. lamblia* infection:Feasibility of yogurt supplementation. J. of Ped Gastro 9(3): 295-300.
5. Mătușa Rodica și col., 2000, Parazitoze intestinale oportuniste la copii infectați HIV, Constanța, 2000, Revista Română de Parazitologie, Vol. X, nr.2, pag. 61-64.
6. Stoicescu Ramona, Victoria Braga, L. Voineagu, Giardioza la copii din colectivități – diagnosticată prin metode clasice și moderne, Revista Română de Parazitologie, Vol. X, nr.1, pag. 83.