

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

REGIELLY CAROLINE RAIMUNDO COGNIALLI

**LIMIAR DE POSITIVIDADE E SENSIBILIDADE DOS MÉTODOS DE FAUST
et al. E LUTZ PARA DETECÇÃO DE CISTOS DE *Giardia duodenalis***

CURITIBA

2013

REGIELLY CAROLINE RAIMUNDO COGNIALLI

**LIMIAR DE POSITIVIDADE E SENSIBILIDADE DOS MÉTODOS DE FAUST
et al. E LUTZ PARA DETECÇÃO DE CISTOS DE *Giardia duodenalis***

Monografia apresentada ao Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências do curso de Pós-graduação Latu sensu em Análises Clínicas, para obtenção do título de especialista em Análises Clínicas.

Orientadora: Prof^a. Dra. Débora do Rocio Klisiowicz

CURITIBA

2013

RESUMO

Os enteroparasitos são considerados um problema de saúde pública e são comumente associados a regiões com baixo nível socioeconômico. O presente estudo teve como objetivo determinar e comparar o limiar de positividade e a sensibilidade dos métodos de centrífugo-flutuação em sulfato de zinco (Faust *et al.*) e sedimentação espontânea (Lutz) para o diagnóstico de cistos de *Giardia duodenalis*. Para obtenção de amostras fecais com quantidades conhecidas de cistos de *G. duodenalis*, amostras positivas para o parasito foram purificadas e quantificadas, posteriormente alíquotas com diferentes quantidades foram adicionadas a amostras fecais negativas para parasitos. Após a contaminação de oito amostras negativas com quantidades variando entre 1.000 e 200.000 cistos por grama de fezes (c/g/f), as mesmas foram submetidas aos métodos de Faust *et al.* e Lutz, onde o primeiro se mostrou mais sensível para a detecção de cistos de *G. duodenalis*. O limiar de positividade do método de Faust *et al.* foi de 11.000 c/g/f, e do método de Lutz foi de 100.000 c/g/f, portanto cargas parasitárias inferiores a esses limiares levariam a resultados falso-negativos. O método de Lutz não é adequado para o diagnóstico de giardíase, portanto deve ser sempre utilizado em conjunto com o método de Faust *et al.*

Palavras-chave: *Giardia duodenalis*, sensibilidade, limiar de positividade, Faust *et al.*, Lutz.

ABSTRACT

The intestinal parasites are considered a public health problem and are commonly associated with regions with low socioeconomic status. The present study aimed to determine and compare the positivity threshold and sensitivity of the methods of zinc sulfate centrifugal flotation (Faust *et al.*) and spontaneous sedimentation (Lutz) for the diagnosis of *Giardia duodenalis*. To obtain fecal samples containing known amounts *G. duodenalis* cysts, the samples with the parasite were purified and quantified, then aliquots with different amounts were added to fecal samples negative for parasites. After the contamination of eight negative samples with amounts ranging between 1.000 and 200.000 cysts per gram of feces, they were subjected to methods of Faust *et al.* and Lutz, where the first was more sensitive for the detection of *G. duodenalis* cysts. The positivity threshold of the method of Faust *et al.* was 11.000 c/g/f, and the method of Lutz was 100.000 c/g/f, so parasitic loads below those thresholds would lead to false-negative results. The method of Lutz is not suitable for the diagnosis of giardiasis, therefore must always be associated with the method Faust *et al.*

Keywords: *Giardia duodenalis*, sensitivity, positivity threshold, Faust *et al.*, Lutz.

SUMARIO

1. INTRODUÇÃO	6
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	8
3. RESULTADOS	9
4. DISCUSSÃO	11
5. CONCLUSÕES	13
6. REFERÊNCIAS	14

1. INTRODUÇÃO

As enteroparasitoses são consideradas um problema de saúde pública devida sua alta prevalência e sua ampla distribuição geográfica (MASCARINI; DONALISIO, 2006; DAGCI *ET AL.*, 2008; CABRAL-MIRANDA *ET AL.*, 2010), podendo acarretar má-absorção de nutrientes, anemia, diarreia crônica, desnutrição e dores abdominais (BUSCHINI *ET AL.*, 2007). Estima-se que 3,5 bilhões de pessoas estão infectadas por parasitos intestinais em todo o mundo, e dessas, 450 milhões estão doentes, sendo a maioria crianças (WHO, 2013).

O diagnóstico de enteroparasitos é realizado principalmente através de exames coproparasitológicos, os quais são exames de baixo custo, de simples execução e com boa sensibilidade (WHO, 1987; NÚÑEZ *ET AL.*, 1997; SAVIOLI *ET AL.*, 2006; TRABELSI *ET AL.*, 2012). Existem diversos métodos para a realização de exames coproparasitológicos, sendo que cada um possui especificidade e sensibilidade diferente para cada parasito e nenhum método isolado é capaz de diagnosticar todas as formas parasitárias (CHAVES *ET AL.*, 1979; NUNES *ET AL.*, 1993; SOUZA; AMOR, 2010).

Giardia duodenalis (sin. *Giardia lamblia* ou *Giardia intestinalis*) é uma espécie de enteroprotzoário cosmopolita e estima-se que infecta cerca de 2.8 milhões pessoas a cada ano, principalmente crianças na faixa etária de 0-5 anos de idade (ALI; HILL, 2003). A maioria dos infectados são assintomáticos, porém podem ocorrer manifestações clínicas como diarreia crônica, má-absorção de nutrientes e perda de peso (CARDOSO *ET AL.*, 1995; ALI; HILL, 2003). O diagnóstico da giardíase é realizado, principalmente, pela demonstração de trofozoítos ou cistos do parasito nas fezes, através de exames coproparasitológicos, porém o diagnóstico se torna mais difícil, uma vez que, o parasito libera os cistos nas fezes de forma intermitente e o diagnóstico exige experiência do laboratorista (FLANAGAN, 1992; TIMOTHY; HILL, 2001).

No Brasil a prevalência de *G. duodenalis* é relatada variando de 2,7% a 74,1% (UCHÔA *ET AL.*, 2001; BENCKE *ET AL.*, 2006; BISCEGLI *ET AL.*, 2009; MONTEIRO *ET AL.*, 2009; DAMAZIO *ET AL.*, 2010), porém esse tipo de comparação

é inviável, visto que não existe uma padronização dos métodos coproparasitológicos utilizados, o número de coletas realizadas e nem mesmo o número de lâminas a serem examinadas em cada método. Essa falta de padronização torna os dados epidemiológicos não confiáveis, prejudicando a elaboração de medidas de controle.

O método de Faust *et al.* (FAUST *ET AL.*, 1938) é considerado mais sensível para a detecção de cistos de protozoários quando comparado ao método de Lutz ou Hoffman, Pons e Janer (LUTZ, 1919; HOFFMAN *ET AL.*, 1934; NUNES *ET AL.*, 1993; CANTOS *ET AL.*, 2011) porém de acordo com Souza e Amor (2010) o método mais e/ou somente utilizado na rotina laboratorial é o método de Lutz.

Apesar da elevada importância em se conhecer o limiar de positividade dos métodos de Faust *et al.* e Lutz para a detecção de cistos de *G. duodenalis* não existe nenhum trabalho publicado. Sabendo-se disso, o objetivo do presente trabalho foi determinar e comparar o limiar de positividade e a sensibilidade dos métodos de Faust *et al.* e Lutz para o diagnóstico de cistos de *G. duodenalis*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de fezes provenientes de crianças participantes do projeto de extensão “Epidemiologia e Controle de Entero e Ectoparasitoses em Crianças de Centros Municipais de Educação Infantil” foram processadas pelos métodos de centrífugo-flutuação em sulfato de zinco (Faust *et al.*) e sedimentação espontânea (Lutz) no laboratório de Parasitologia da Universidade Federal do Paraná. As amostras positivas para *G. duodenalis* foram submetidas ao método de purificação de cistos descrito por Roberts-Thomson (ROBERTS-THOMSON *ET AL.*, 1976). Após a purificação, as suspensões resultantes, contendo cistos de *G. duodenalis*, foram quantificadas em Câmara de Neubauer.

Para obter amostras de fezes com quantidades conhecidas de cistos de *G. duodenalis* por grama de fezes (c/g/f), variando de 1.000 a 200.000 c/g/f, amostras de fezes negativas para enteroparasitos foram pesadas em balança analítica Shimadzu AY220, e a partir do peso foi calculado a quantidade a ser adicionada das suspensões de cistos de *G. duodenalis*. As fezes negativas foram homogeneizadas com as suspensões até que uma consistência pastosa fosse obtida, para que houvesse uma distribuição uniforme dos cistos na amostra fecal.

As amostras fecais contaminadas experimentalmente com cistos de *G. duodenalis*, juntamente com outras amostras de fezes negativas para enteroparasitos, foram processadas pelos métodos Faust *et al.* e Lutz por três profissionais com experiência em Parasitologia, sendo dois bioquímicos e um biólogo. Cada profissional examinou três lâminas da mesma amostra fecal para cada método. O estudo foi conduzido de maneira duplo-cego (VIDAL; CATAPANI, 2005).

Os dados foram analisados quanto à sensibilidade e especificidade para diagnóstico de cistos de *G. duodenalis*.

O teste de McNemar foi utilizado para avaliar a discordância entre método de Faust *et al.* e o método de Lutz na detecção de cistos de *G. duodenalis*.

3. RESULTADOS

Em todas as amostras fecais negativas (n=4) e na amostra contendo 1.000 c/g/f o resultado dos três profissionais em todas as lâminas examinadas foi negativo para cistos de *G. duodenalis*, tanto no método de Faust *et al.* quanto no método de Lutz (Tabela 1).

O resultado foi positivo na amostra com 10.000 c/g/f somente no método de Faust *et al.* e por apenas um profissional, o qual identificou cisto de *G. duodenalis* na segunda lâmina examinada. Já na amostra contendo 11.000 c/g/f o resultado foi positivo para os três avaliadores apenas no método de Faust *et al.*, porém os cistos não foram observados em todas as lâminas examinadas.

A partir da amostra contendo 30.000 c/g/f todos os resultados foram positivos para *G. duodenalis* pelos três profissionais no método de Faust *et al.*, porém somente a partir de 100.000 c/g/f os avaliadores puderam identificar os cistos no método de Lutz e nem todas as lâminas examinadas nesse método foram positivas.

No presente estudo observou-se que há discordância de diagnóstico entre os dois métodos ($p < 0,0001$), tendo o método de Faust *et al.* diagnosticado maior proporção de cistos de *G. duodenalis* quando comparado ao método de Lutz.

TABELA 1 - RESULTADOS OBSERVADOS NOS EXAMES COPROPARASITOLÓGICOS PARA DETECÇÃO DE CISTOS DE *G. duodenalis* PELOS MÉTODOS DE FAUST *et al.* E LUTZ PELOS TRÊS PROFISSIONAIS AO EXAMINAR TRÊS LÂMINAS DA MESMA AMOSTRA FECAL

	Amostra negativa (n=4)		Amostra 1.000 cistos/g		Amostra 10.000 cistos/g		Amostra 11.000 cistos/g		Amostra 30.000 cistos/g		Amostra 50.000 cistos/g		Amostra 100.000 cistos/g		Amostra 150.000 cistos/g		Amostra 200.000 cistos/g	
	F	L	F	L	F	L	F	L	F	L	F	L	F	L	F	L	F	L
Profissional 1																		
Lâmina 1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
Lâmina 2	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
Lâmina 3	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
Profissional 2																		
Lâmina 1	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
Lâmina 2	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
Lâmina 3	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
Profissional 3																		
Lâmina 1	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
Lâmina 2	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+
Lâmina 3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+

F Método de Faust *et al.*

L Método de Lutz ou Hoffman, Pons e Janer

- Resultado negativo

+ Resultado positivo

4. DISCUSÃO

No presente trabalho o método de Faust *et al.* foi mais sensível para a detecção de cistos de *G. duodenalis* (76,34%) em relação ao método de Lutz (37,5%). Em estudo similar Chaves *et al.* (1979) e Souza *et al.* (2003) não observaram diferença estatística entre os métodos para o diagnóstico de protozoários, porém nesses estudos a carga parasitária não foi determinada.

Para determinar o limiar de positividade foi observado que o exame de três lâminas foi essencial, tanto do método de Faust *et al.* quanto o de Lutz, visto em que algumas amostras somente foi possível observar o parasito na segunda ou terceira lâmina. Portanto, o exame de no mínimo três lâminas é fundamental para aumentar a sensibilidade do exame, corroborando estudo publicado por Tibiriçá *et al.* (2009).

O limiar de positividade do método de Faust *et al.* de 11.000 c/g/f para o diagnóstico de *G. duodenalis* foi próximo ao trabalho realizado por Castanho (2004), o qual utilizando metodologia diferente encontrou positividade em amostras com 10.000 c/g/f, porém nesse estudo a carga parasitária foi apenas estimada, ao contrário do presente estudo onde as amostras foram previamente purificadas, concentrando as amostras, e posteriormente quantificadas. Portanto, cargas parasitárias inferiores a esse limiar de positividade levariam a resultados falso-negativos pelo método de Faust *et al.*, o qual é considerado o melhor método para diagnóstico de cistos de *G. duodenalis*, uma vez que fornece um campo com menor quantidade de detritos (FAUST ET AL., 1939; SHRIVASTAV, 1954).

Para o método de Lutz, o qual é muitas vezes o único utilizado na rotina laboratorial, foi necessária uma alta carga parasitária (100.000 c/g/f) para que o resultado fosse positivo, portanto esse método não é indicado para o diagnóstico de infecções por *G. duodenalis*.

Outro fator que deve ser considerado para a realização de exames coproparasitológicos de rotina, é que devido à liberação intermitente de cistos de *G. duodenalis* nas fezes, o exame de apenas uma única amostra de fecal pode induzir resultados falso-negativos, portanto a análise de amostras

múltiplas aumenta a sensibilidade do método (HIATT *ET AL.*, 1995; TRABELSI *ET AL.*, 2012).

Novos métodos diagnósticos foram desenvolvidos para a pesquisa de *G. duodenalis*, como o método de ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*), o qual tem sido amplamente estudado e tem mostrado uma alta sensibilidade (UNGAR *ET AL.*, 1984; DUTT *ET AL.*, 1991; HIATT *ET AL.*, 1995; CASTANHO, 2004; VIDAL; CATAPANI, 2005; CHAKAROVA, 2010). Apesar do método de ELISA ser mais sensível para o diagnóstico de *G. duodenalis* quando comparado ao método de Faust *et al.* (SOUZA *ET AL.*, 2003; CASTANHO, 2004; VIDAL; CATAPANI, 2005) tal método não é indicado para a realização de exames coproparasitológicos de rotina nos laboratórios de análises clínicas, pois além ser mais caro não permite o diagnóstico de mais de um enteroparasito na mesma amostra fecal (MACHADO *ET AL.*, 2001; VIDAL; CATAPANI, 2005; EL-NAHAS *ET AL.*, 2013).

5. CONCLUSÕES

O limiar de positividade para detecção de cistos de *G. duodenalis* foi determinado pela primeira vez para os métodos de Faust *et al.* e Lutz, tal informação é essencial para tentar reduzir os resultados falso-negativos na rotina laboratorial.

Os resultados corroboram que o método de Faust *et al.* é mais sensível que o método de Lutz para o diagnóstico de giardíase, uma vez que possibilita a identificação de cistos de *G. duodenalis* em amostras fecais contendo a partir de 11.000 c/g/f. Portanto os laboratórios de análises clínicas não devem utilizar apenas o método de Lutz para processar as amostras de fezes na rotina, devendo sempre associar mais de um método coproparasitológico, para, dessa forma, ampliar a pesquisa dos enteroparasitos e minimizar os resultados falso-negativos. Além disso, outro ponto importante é a necessidade de examinar no mínimo três lâminas para cada método coproparasitológicos empregado.

Estes dados poderão ser usados em futuros trabalhos para a discussão da prevalência dessa importante parasitose intestinal, além de contribuir para uma padronização dos métodos coproparasitológicos utilizados na rotina laboratorial.

6. REFERÊNCIAS

ALI, S. A.; HILL, D. R. *Giardia intestinalis*. **Curr. Opin. Infect. Dis.**, v. 16, n. 5, p. 453-60, 2003.

BENCKE, A. *et al.* Enteroparasitoses em escolares residentes na periferia de Porto Alegre, RS, Brasil. **Rev. Patol. Trop.**, v. 35, n. 1, p. 31-36, 2006.

BISCEGLI, T. S. *et al.* Estado nutricional e prevalência de enteroparasitoses em crianças matriculadas em creche. **Rev. Paul. Pediatr.**, v. 27, n. 3, p. 289-295, 2009.

BUSCHINI, M. L. T. *et al.* Spacial distribution of enteroparasites among school children from Guarapuava, State of Paraná, Brazil. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 10, n. 4, p. 568-578, 2007.

CABRAL-MIRANDA, G.; DATTOLI, V. C. C.; DIAS-LIMA, A. Enteroparasitos e condições socioeconômicas e sanitárias em uma comunidade Quilombola do semiárido Bahiano. **Rev. Patol. Trop.**, v. 39, n. 1, p. 48-55, 2010.

CANTOS, G. A.; GALVÃO, M.; LINÉCIO, J. Comparação de Métodos Parasitológicos tendo como Referencial o Método de Faust para a Pesquisa de Cistos de Protozoários. **NewsLab**, v. 104, p. 160-165, 2011.

CARDOSO, G. S.; SANTANA, A. D. C.; AGUIAR, C. P. Prevalência e aspectos epidemiológicos da giardíase em cheches no Município de Aracajú, SE, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 28, n. 1, p. 25-31, 1995.

CASTANHO, R. E. P. **Estudo do limiar de positividade do método imunoenzimático (ELISA) para pesquisa de coproantígeno de *Giardia lamblia* Stiles, 1915. Sua utilização como exame de controle de cura após terapêutica.** 108 f.. Tese (Pós-graduação em Análises Clínicas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP, Araraquara, 2004.

CHAKAROVA, B. Comparative evaluation of the diagnostic methods for detection of *Giardia intestinalis* in human fecal samples. **Trakia J. Sci.**, v. 8, n. 2, p. 174-179, 2010.

CHAVES, A. *et al.* Estudo comparativo dos métodos coprológicos de Lutz, Kato-Katz e Faust modificado. **Rev. Saúde Públ.**, v. 13, p. 348-352, 1979.

DAGCI, H. *et al.* The prevalence of intestinal parasites in the province of Izmir, Turkey. **Parasitol. Res.**, v. 103, n. 4, p. 839-45, 2008.

DAMAZIO, S. M. *et al.* Parasitoses intestinais em creches municipais de São Mateus/ES. **Rev. Saúde**, v. 4, n. 1, p. 83, 2010.

DUTT, P.; MEHTA, S.; VINAYAK, V. K. Enzyme-linked immunosorbent assay for copro-diagnosis of giardiasis and characterisation of a specific *Giardia lamblia* antigen in stools. **J. Med. Microbiol.**, v. 34, p. 271-275, 1991.

EL-NAHAS, H. A. *et al.* Giardia diagnostic methods in human fecal samples: a comparative study. **Cytometry B. Clin. Cytom.**, v. 84, n. 1, p. 44-9, 2013.

FAUST, E. C. *et al.* A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. In: preliminary communication. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 18, p. 169-183, 1938.

FAUST, E. C. *et al.* Comparative efficiency of various technics for the diagnosis of protozoa and helminths in feces. **J. Parasitol.**, v. 25, n. 3, p. 241-262, 1939.

FLANAGAN, P. A. Giardia--diagnosis, clinical course and epidemiology. A review. **Epidemiol. Infect.**, v. 109, n. 1, p. 1-22, 1992.

HIATT, R. A.; MARKELL, E. K.; NG, E. How many stool examinations are necessary to detect pathogenic intestinal protozoa? **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 53, n. 1, p. 36-9, 1995.

HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. **J. Public Health**, v. 9, p. 283-298, 1934.

LUTZ, A. O. *Shistosomum mansoni* segundo observações feitas no Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 11, p. 121-155, 1919.

MACHADO, R. L. D. *et al.* Comparação de quatro métodos laboratoriais para diagnóstico da *Giardia lamblia* em fezes de crianças residentes em Belém, Pará. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 34, n. 1, p. 91-93, 2001.

MASCARINI, L. M.; DONALISIO, M. R. Epidemiological aspects of enteroparasitosis at daycare centers in the city of Botucatu, State of São Paulo, Brazil. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 9, n. 3, p. 297-308, 2006.

MONTEIRO, A. M. C. *et al.* Parasitoses intestinais em crianças de creches públicas localizadas em bairros periféricos do município de Coari, Amazonas, Brasil. **Rev. Patol. Trop.**, v. 38, n. 4, p. 284-290, 2009.

NUNES, M. P. O. *et al.* Avaliação dos métodos de Faust e cols., de Hoffman e cols., de Baerman modificado, utilizados na rotina sistemática, para o diagnóstico das enteroparasitoses. **Rev. Bras. Anál. Clín.**, v. 25, n. 1, p. 25-26, 1993.

NÚÑEZ, F. A.; GINORIO, D. E.; FINLAY, C. M. Control de la calidad del diagnóstico coproparasitológico en la provincia de Ciudad de La Habana, Cuba. **Cad. Saúde Públ.**, v. 13, n. 1, p. 67-72, 1997.

ROBERTS-THOMSON, I. C. *et al.* Giardiasis in the mouse: an animal model. **Gastroenterol.**, v. 71, n. 1, p. 57-61, 1976.

SAVIOLI, L.; SMITH, H.; THOMPSON, A. *Giardia* and *Cryptosporidium* join the 'Neglected Diseases Initiative'. **Trends Parasitol.**, v. 22, n. 5, p. 203-82, 2006.

SHRIVASTAV, J. B. Comparative efficiency of three different techniques for the diagnosis of cystic forms of intestinal protozoa and helminthic ova in faeces. **Indian J. Med. Res.**, v. 42, n. 4, p. 497-508, 1954.

SOUZA, D. S. M. *et al.* Comparison between immunomagnetic separation, coupled with immunofluorescence, and the techniques of Faust *et al.* and Lutz for the diagnosis of *Giardia lamblia* cysts in human feces. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 45, n. 6, p. 339-342, 2003.

SOUZA, R. F.; AMOR, A. L. M. Controle de qualidade de técnicas realizadas nos laboratórios de parasitologia da Secretaria Municipal de Saúde do Município de Salvador, Bahia. **RBAC**, v. 42, n. 2, p. 101-105, 2010.

TIBIRIÇÁ, S.H.C. *et al.* Validação do número de lâminas para realização do método de sedimentação espontânea das fezes. **HU Rev.**, v. 35, n. 2, p. 105-110, 2009.

TIMOTHY, G. B.; HILL, D. R. Treatment of Giardiasis. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 14, n. 1, p. 114-128, 2001.

TRABELSI, S.; AOUINET, A.; KHALED, S. Procédure et indications d'un examen parasitologique des selles. **La Tunisie Medicale**, v. 90, n. 6, p. 431-434, 2012.

UCHÔA, C. M. A. *et al.* Parasitoses intestinais: prevalência em creches comunitárias da cidade de Niterói, Rio de Janeiro - Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 60, n. 2, p. 97-101, 2001.

UNGAR, B. L. *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of *Giardia lamblia* in fecal specimens. **J. Infec. Dis.**, v. 149, n. 1, p. 90-7, 1984.

VIDAL, A. M. B.; CATAPANI, W. R. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) immunoassaying versus microscopy: advantages and drawbacks for diagnosing giardiasis. **São Paulo Med. J.**, v. 123, n. 6, p. 282-285, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Parasitic Diseases**, 2013. Disponível em: <http://www.who.int/vaccine_research/diseases/soa_parasitic/en/index2.html>. Acesso em: 12/01/2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Prevention and control of intestinal parasitic infection**. Expert Committee. Geneva: Technical Report Series, 749 1987.