

AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO MÉTODO DE ELISA PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-*Coxiella burnetii* FRENTE AO MÉTODO PADRÃO OURO DE DIAGNÓSTICO, A IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA

Igor Rosa Meurer¹, Marcio Roberto Silva², Marcos Vinícius Ferreira Silva³, Ana Íris de Lima Duré³, Talita Émile Ribeiro Adelino³, Alana Vitor Barbosa da Costa³, Chislene Pereira Vanelli⁴, Tatiana Rozental⁵, Elba Regina Sampaio de Lemos⁵ e José Otávio do Amaral Corrêa^{1,6}

1. Universidade Federal de Juiz de Fora, Programa de Pós-Graduação em Saúde, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil;
2. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil;
3. Fundação Ezequiel Dias, Laboratório Central de Saúde Pública do Estado de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil;
4. Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil;
5. Fundação Oswaldo Cruz, Laboratório de Hantaviruses e Rickettsioses, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil;
6. Universidade Federal de Juiz de Fora, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

RESUMO

A bactéria *Coxiella burnetii* é o agente etiológico da febre Q, uma zoonose que apresenta amplo espectro de manifestações nos seres humanos, desde casos assintomáticos até complicações graves e fatais. A confirmação do diagnóstico da febre Q ocorre principalmente a partir de testes sorológicos, sendo o método de imunofluorescência indireta (IFI) a técnica de referência. A utilização do método de ELISA tem sido discutida em vários países do mundo. Porém, seus resultados têm variado muito em relação a sensibilidade e especificidade da técnica. Assim, o presente estudo teve como objetivo comparar o método de ELISA utilizado frente ao método padrão ouro de diagnóstico, a IFI, para analisar sua possível utilização como método de triagem e/ou de confirmação no diagnóstico sorológico da febre Q. Foram analisadas 437 amostras de soro de pacientes residentes em Minas Gerais, Brasil, para detecção qualitativa de anticorpos das classes IgM anti-*C. burnetii* de fase II e IgG anti-*C. burnetii* de fase I e II. Em uma análise geral, o método de ELISA apresentou sensibilidade de 13,04%, especificidade de 98,55%, valor preditivo positivo de 33,33%, valor preditivo negativo 95,33% e acurácia de 94,05%. A partir desses resultados é possível concluir que o método de ELISA empregado, nas condições desta pesquisa, não deve ser indicado como método de triagem para o diagnóstico sorológico da febre Q,

podendo ser utilizado como método confirmatório caso algum resultado negativo obtido por outro método seja duvidoso. Nesse contexto, destaca-se que mais estudos precisam ser realizados para investigar a sensibilidade desse método.

Palavras-chave: Febre Q, Diagnóstico e ELISA.

ABSTRACT

The *Coxiella burnetii* bacterium is the etiologic agent of Q fever, a zoonosis that has a wide spectrum of manifestations in humans, from asymptomatic cases to serious and fatal complications. Confirmation of the diagnosis of Q fever occurs mainly through serological tests, with the indirect immunofluorescence method (IFI) being the reference technique. The use of the ELISA method has been discussed in several countries around the world. However, its results have varied greatly in relation to the sensitivity and specificity of the technique. Thus, the present study aimed to compare the ELISA method used against the gold standard diagnostic method, the IFI, to analyze its possible use as a screening and/or confirmation method in the serological diagnosis of Q fever. 437 serum samples from patients residing in Minas Gerais, Brazil were analyzed for the qualitative detection of antibodies of IgM classes anti-C. burnetii phase II and IgG anti-C. burnetii phase I and II. In a general analysis, the ELISA method showed a sensitivity of 13.04%, specificity of 98.55%, a positive predictive value of 33.33%, a negative predictive value of 95.33% and accuracy of 94.05%. From these results it is possible to conclude that the ELISA method employed, under the conditions of this research, should not be indicated as a screening method for the serological diagnosis of Q fever, and can be used as a confirmatory method if any negative result obtained by another method is doubtful. In this context, it is highlighted that more studies need to be carried out to investigate the sensitivity of this method.

Keywords: Q Fever, Diagnosis, ELISA

1. INTRODUÇÃO

A febre Q é uma zoonose causada pelo patógeno *Coxiella burnetii*, uma pequena bactéria intracelular obrigatória altamente infecciosa (SELLENS et al., 2020; GIDDING et al., 2020). Essa bactéria apresenta resistência ambiental, podendo sobreviver por várias semanas ou meses. A principal forma de transmissão aos seres humanos ocorre através da inalação de aerossóis contaminados com produtos de animais infectados, principalmente bovinos, caprinos e ovinos. A doença em humanos pode ser classificada em aguda e crônica (VRANAKIS et al., 2020).

A infecção geralmente é assintomática, mas quando se torna sintomática, os sintomas são inespecíficos, variando de uma doença autolimitada semelhante à influenza, a sintomas mais graves de pneumonia, hepatite e endocardite, podendo ser fatal (GIDDING et al., 2020). Essa zoonose é considerada um importante problema de saúde pública (RODRÍGUEZ-ALONSO et al., 2020).

O diagnóstico de febre Q é confirmado, em grande parte, a partir de testes sorológicos. O diagnóstico clínico é difícil de ser realizado devido à semelhança com uma série de doenças infecciosas ou não infecciosas (MARES-GUIA, 2015).

Várias técnicas sorológicas estão disponíveis, mas o teste de imunofluorescência indireta (IFI) tornou-se a técnica de referência. O diagnóstico sorológico é fácil de ser estabelecido, com testes sendo realizados em amostras de sangue pareadas, coletadas na fase aguda e de convalescência. Além disso, o teste sorológico permite a diferenciação de infecções de febre Q agudas e crônicas. O método de IFI tem a vantagem de exigir apenas pequenas quantidades de antígeno - *C. burnetii* fase I (crônica) e fase II (aguda) com a cepa Nine Mile (MAURIN; RAOULT, 1999; ANGELAKIS; RAOULT, 2010; MARES-GUIA, 2015). Entretanto, tem como desvantagens o fato de ser uma técnica mais cara se comparada a outros métodos sorológicos, a subjetividade na interpretação do resultado da fluorescência e a impossibilidade de sua automação (MEEKELenkAMP et al., 2012).

Entre os outros possíveis métodos de diagnóstico da febre Q estão a microaglutinação, fixação de complemento, radioimunoensaio, teste de hemólise indireta, “Enzyme-linked Immunosorbent Assay” (ELISA), “Enzyme Linked Immuno Fluorescent Assay” (ELIFA), “dot immunoblotting”, e “Western blotting” (MARES-GUIA, 2015).

O diagnóstico molecular a partir da reação em cadeia da polimerase (PCR) tem sido usado com sucesso para detectar DNA de *C. burnetii* em culturas de células e amostras clínicas (MARES-GUIA, 2015; MAURIN; RAOULT, 1999). As técnicas de biologia molecular são consideradas ferramentas importantes no diagnóstico da doença aguda, pois permitem um diagnóstico e tratamento oportunos, embora de custo ainda elevados (ALVES et al., 2017).

Meekelenkamp et al. (2012) concluíram que a detecção por ELISA de IgM específica para a fase II de *C. burnetii* pode substituir a IFI como um teste de triagem para o diagnóstico presuntivo de febre Q aguda. Em estudo de Kantsø et al. (2012) foi avaliada a sensibilidade e a especificidade de dois kits comerciais de ELISA para a detecção de anticorpos anti-*C. burnetii*. Os resultados de sensibilidade do método variaram muito entre as classes de anticorpos que foram investigadas e atingiram o valor mínimo de 15% e máximo de 91%. Diante do exposto, é possível constatar a existência de variação entre os resultados referentes a avaliação do desempenho do método de ELISA neste trabalho.

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo comparar um método de ELISA frente ao método padrão ouro de diagnóstico, a IFI, para analisar sua possível utilização como método de triagem e/ou de confirmação no diagnóstico sorológico da febre Q.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas, pelos métodos de ELISA e de IFI, um total de 437 amostras de soro de pacientes com suspeita de dengue, independentemente de faixa etária, gênero e etnia, que foram coletadas entre um e dez dias de sintomas, de diferentes municípios do estado de Minas Gerais, enviadas à Fundação Ezequiel Dias (Funed) no período entre janeiro de 2017 e agosto de 2018 para o diagnóstico da dengue e que apresentaram resultado negativo.

O teste de Imunofluorescência Indireta foi realizado nas amostras de soro dos pacientes para detecção qualitativa de anticorpos das classes IgM anti-*C. burnetii* de fase II e IgG anti-*C. burnetii* de fase I e fase II utilizando-se lâminas comerciais (SCIMEDX Corporation, Denville, New Jersey, USA).

O teste de ELISA foi realizado nas amostras de soro dos pacientes para detecção qualitativa de anticorpos das classes IgM anti-*C. burnetii* de fase II e IgG anti-*C. burnetii* de fase I e fase II utilizando-se, respectivamente, kits comerciais SERION ELISA classic *Coxiella burnetii* Phase II IgM; SERION ELISA classic *Coxiella burnetii* Phase I IgG; SERION ELISA classic *Coxiella burnetii* Phase II IgG. Foi utilizado um equipamento automatizado para a realização do ELISA (Elisys Quattro - HUMAN, Número de Série: 9163940131), sendo seguidas as recomendações do fabricante.

A sensibilidade, a especificidade, o valor preditivo positivo (VPP), o valor preditivo negativo (VPN) e a acurácia do método de ELISA para detecção de anticorpos anti-*C. burnetii* em amostras de soro foram realizados frente ao método padrão ouro de diagnóstico, a Imunofluorescência Indireta, para analisar sua possível utilização como método de triagem e/ou de confirmação no diagnóstico sorológico da febre Q.

A sensibilidade, a especificidade, o VPP e o VPN foram calculados a partir do método utilizado por Akobeng (2007), no qual a sensibilidade de um teste é definida como a proporção de pessoas com uma doença que terão um resultado positivo para ela; a especificidade é expressa pela proporção de pessoas sem uma doença e que terão um resultado negativo para ela; o VPP é definido como a proporção de pessoas com um resultado positivo que realmente têm a doença; o VPN é expresso pela proporção de pessoas com um resultado negativo que não têm doença. Já a acurácia de um teste, segundo Nunes et al. (2015), é definida como sendo o número ou a proporção de resultados do teste avaliados que são corretamente classificados (verdadeiros positivos e verdadeiros

negativos). Porém, como não foi possível ter amostras pareadas para a realização do diagnóstico sorológico, sendo utilizadas amostras únicas por paciente, a sensibilidade, a especificidade, o VPP, o VPN e a acurácia foram calculados considerando a reatividade e não reatividade das amostras em uma análise geral e em relação a cada classe de anticorpo investigada.

Dessa forma, a sensibilidade, a especificidade, o VPP, o VPN e a acurácia do método de ELISA para detecção de anticorpos anti-*C. burnetii* foram realizados considerando-se quatro situações: sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia geral; sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia para detecção de IgM anti-*C. burnetii* de fase II; sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase I; sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase II.

A sensibilidade, a especificidade, o VPP, o VPN e a acurácia do método de ELISA em uma análise geral foram obtidos considerando pacientes com pelo menos um tipo de anticorpo reativo pelo método de IFI comparado com pacientes com pelo menos um tipo de anticorpo reativo pelo método de ELISA.

A sensibilidade, a especificidade, o VPP, o VPN e a acurácia do método de ELISA para detecção de IgM anti-*C. burnetii* de fase II foram calculados a partir da comparação dos resultados obtidos na detecção de IgM anti-*C. burnetii* de fase II pelo método de ELISA em relação aos encontrados pelo método de IFI.

A sensibilidade, a especificidade, o VPP, o VPN e a acurácia do método de ELISA para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase I foram calculados a partir da comparação dos resultados obtidos na detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase I pelo método de ELISA em relação aos encontrados pelo método de IFI.

A sensibilidade, a especificidade, o VPP, o VPN e a acurácia do método de ELISA para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase II foram calculados a partir da comparação dos resultados obtidos na detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase II pelo método de ELISA em relação aos encontrados pelo método de IFI.

Para o cálculo de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia foram consideradas amostras verdadeiras reativas (VR), amostras verdadeiras não-reativas (VNR), amostras falsas reativas (FR), amostras falsas não-reativas (FNR) do método de ELISA em relação ao método de IFI; amostras reativas (VR + FR) e amostras não-reativas (VNR + FNR) em relação ao método de ELISA; amostras reativas (R) e amostras não-reativas (NR) em relação ao método de IFI; e total de amostras analisadas (T).

Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Juiz de Fora, sob Parecer 2.303.238. Posteriormente foi submetida ao mesmo Comitê de Ética uma emenda ao projeto, com aprovação a partir do número de Parecer 3.673.989.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. RESULTADOS

Entre as 437 amostras analisadas pelo método de IFI, 23 foram reativas para pelo menos uma classe de anticorpos anti-*C. burnetii*. Já em relação ao método de ELISA nove amostras foram reativas para pelo menos uma classe de anticorpos anti-*C. burnetii* e duas amostras tiveram resultado indeterminado para uma classe de anticorpos.

Porém, ao comparar esses resultados com os encontrados pelo método de IFI (padrão ouro), considerando como amostra reativa aquela que foi reativa para pelo menos uma classe de anticorpos, têm-se três amostras “verdadeiras reativas” e seis amostras “falsas reativas”. Vale destacar que as amostras com resultado indeterminado não foram reativas pelo método de IFI.

3.1.1. Sensibilidade, Especificidade, Valor Preditivo Positivo, Valor Preditivo Negativo e Acurácia – Geral

No quadro 1, apresenta-se a distribuição dos dados para o cálculo de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia do método de ELISA em uma análise geral.

Quadro 1. Dados para o cálculo de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia geral do método de ELISA.

		IFI (Padrão Ouro)		
		Reativo	Não Reativo	
ELISA	Reativo	3 (VR)	6 (FR)	9 (VR + FR)
	Não Reativo	20 (FNR)	408 (VNR)	428 (FNR + VNR)
		23 (R)	414 (NR)	437 (T)

A sensibilidade geral do método de ELISA foi calculada a partir da divisão do número de amostras verdadeiras reativas (VR) pelo número de amostras reativas (R), obtendo-se um resultado de 13,04% de sensibilidade.

A especificidade geral do método de ELISA foi calculada a partir da divisão do número de amostras verdadeiras não-reativas (VNR) pelo número de amostras não-reativas (NR), obtendo-se um resultado de 98,55% de especificidade.

O VPP geral do método de ELISA foi calculado a partir da divisão do número de amostras verdadeiras reativas (VR) pela soma do número de amostras verdadeiras reativas com o número de amostras falsas reativas (VR + FR), obtendo-se um resultado de 33,33% de VPP.

O VPN geral do método de ELISA foi calculado a partir da divisão do número de amostras verdadeiras não-reativas (VNR) pela soma do número de amostras falsas não-reativas com o número de amostras verdadeiras não-reativas (FNR + VNR), obtendo-se um resultado de 95,33% de VPN.

A acurácia geral do método de ELISA foi calculada a partir da divisão da soma do número de amostras verdadeiras reativas (VR) com o número de amostras verdadeiras não-reativas (VNR) pela soma do número de amostras verdadeiras reativas (VR), amostras falsas reativas (FR), amostras falsas não-reativas (FNR) e amostras verdadeiras não-reativas (VNR), obtendo-se um resultado de 94,05% de acurácia.

3.1.2. Sensibilidade, Especificidade, Valor Preditivo Positivo, Valor Preditivo Negativo e Acurácia - IgM anti-*C. burnetii* de fase II

A distribuição dos dados para o cálculo de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia do método de ELISA para detecção de IgM anti-*C. burnetii* de fase II é apresentada no quadro 2.

Quadro 2. Dados para o cálculo de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia para detecção de IgM anti-*C. burnetii* de fase II do método de ELISA.

		IFI (Padrão Ouro)		
		Reativo	Não Reativo	
ELISA	Reativo	1 (VR)	4 (FR)	5 (VR + FR)
	Não Reativo	4 (FNR)	428 (VNR)	432 (FNR + VNR)
		5 (R)	432 (NR)	437 (T)

A sensibilidade para detecção de IgM anti-*C. burnetii* de fase II do método de ELISA foi calculada a partir da divisão do número de amostras verdadeiras reativas (VR) pelo número de amostras reativas (R), obtendo-se um resultado de 20,00% de sensibilidade.

A especificidade para detecção de IgM anti-*C. burnetii* de fase II do método de ELISA foi calculada a partir da divisão do número de amostras verdadeiras não-reativas (VNR) pelo número de amostras não-reativas (NR), obtendo-se um resultado de 99,07% de especificidade.

O VPP para detecção de IgM anti-*C. burnetii* de fase II do método de ELISA foi calculado a partir da divisão do número de amostras verdadeiras reativas (VR) pela soma do número de amostras verdadeiras reativas com o número de amostras falsas reativas (VR + FR), obtendo-se um resultado de 20,00% de VPP.

O VPN para detecção de IgM anti-*C. burnetii* de fase II do método de ELISA foi calculado a partir da divisão do número de amostras verdadeiras não-reativas (VNR) pela soma do número de amostras falsas não-reativas com o número de amostras verdadeiras não-reativas (FNR + VNR), obtendo-se um resultado de 99,07% de VPN.

A acurácia para detecção de IgM anti-*C. burnetii* de fase II do método de ELISA foi calculada a partir da divisão da soma do número de amostras verdadeiras reativas (VR) com o número de amostras verdadeiras não-reativas (VNR) pela soma do número de amostras verdadeiras reativas (VR), amostras falsas reativas (FR), amostras falsas não-reativas (FNR) e amostras verdadeiras não-reativas (VNR), obtendo-se um resultado de 98,17% de acurácia.

3.1.3. Sensibilidade, Especificidade, Valor Preditivo Positivo, Valor Preditivo Negativo e Acurácia - IgG anti-*C. burnetii* de fase I

A distribuição dos dados para o cálculo de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia do método de ELISA para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase I é apresentada no quadro 3.

A sensibilidade para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase I do método de ELISA foi calculada a partir da divisão do número de amostras verdadeiras reativas (VR) pelo número de amostras reativas (R), obtendo-se um resultado de 0% de sensibilidade.

Quadro 3. Dados para o cálculo de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase I do método de ELISA.

		IFI (Padrão Ouro)		
		Reativo	Não Reativo	
ELISA	Reativo	0 (VR)	0 (FR)	0 (VR + FR)
	Não Reativo	9 (FNR)	428 (VNR)	437 (FNR + VNR)
		9 (R)	428 (NR)	437 (T)

A especificidade para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase I do método de ELISA foi calculada a partir da divisão do número de amostras verdadeiras não-reativas (VNR) pelo número de amostras não-reativas (NR), obtendo-se um resultado de 100,00% de especificidade.

O VPP para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase I do método de ELISA foi calculado a partir da divisão do número de amostras verdadeiras reativas (VR) pela soma do número de amostras verdadeiras reativas com o número de amostras falsas reativas (VR + FR), obtendo-se um resultado de 0% de VPP.

O VPN para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase I do método de ELISA foi calculado a partir da divisão do número de amostras verdadeiras não-reativas (VNR) pela soma do número de amostras falsas não-reativas com o número de amostras verdadeiras não-reativas (FNR + VNR), obtendo-se um resultado de 97,94% de VPN.

A acurácia para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase I do método de ELISA foi calculada a partir da divisão da soma do número de amostras verdadeiras reativas (VR) com o número de amostras verdadeiras não-reativas (VNR) pela soma do número de amostras verdadeiras reativas (VR), amostras falsas reativas (FR), amostras falsas não-reativas (FNR) e amostras verdadeiras não-reativas (VNR), obtendo-se um resultado de 97,94% de acurácia.

3.1.4. Sensibilidade, Especificidade, Valor Preditivo Positivo, Valor Preditivo Negativo e Acurácia - IgG anti-*C. burnetii* de fase II

A distribuição dos dados para o cálculo de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia do método de ELISA para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase II é apresentada no quadro 4.

Quadro 4. Dados para o cálculo de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase II do método de ELISA.

		IFI (Padrão Ouro)		
		Reativo	Não Reativo	
ELISA	Reativo	1 (VR)	6 (FR)	7 (VR + FR)
	Não Reativo	12 (FNR)	418 (VNR)	430 (FNR + VNR)
		13 (R)	424 (NR)	437 (T)

A sensibilidade para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase II do método de ELISA foi calculada a partir da divisão do número de amostras verdadeiras reativas (VR) pelo número de amostras reativas (R), obtendo-se um resultado de 7,69% de sensibilidade.

A especificidade para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase II do método de ELISA foi calculada a partir da divisão do número de amostras verdadeiras não-reativas (VNR) pelo número de amostras não-reativas (NR), obtendo-se um resultado de 98,58% de especificidade.

O VPP para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase II do método de ELISA foi calculado a partir da divisão do número de amostras verdadeiras reativas (VR) pela soma do número de amostras verdadeiras reativas com o número de amostras falsas reativas (VR + FR), obtendo-se um resultado de 14,29% de VPP.

O VPN para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase II do método de ELISA foi calculado a partir da divisão do número de amostras verdadeiras não-reativas (VNR) pela soma do número de amostras falsas não-reativas com o número de amostras verdadeiras não-reativas (FNR + VNR), obtendo-se um resultado de 97,21% de VPN.

A acurácia para detecção de IgG anti-*C. burnetii* de fase II do método de ELISA foi calculada a partir da divisão da soma do número de amostras verdadeiras reativas (VR) com o número de amostras verdadeiras não-reativas (VNR) pela soma do número de amostras verdadeiras reativas (VR), amostras falsas reativas (FR), amostras falsas não-reativas (FNR) e amostras verdadeiras não-reativas (VNR), obtendo-se um resultado de 95,88% de acurácia.

3.2. DISCUSSÃO

A sensibilidade do método de ELISA para detecção de anticorpos IgM anti-*C. burnetii* de fase II (20,00%), IgG anti-*C. burnetii* de fase I (0%), IgG anti-*C. burnetii* de fase II (7,69%),

além de sua análise geral (13,04%), teve resultados relativamente baixos, o que indica que ele é um método pouco sensível nas condições das amostras analisadas, ou seja, ele tem uma baixa capacidade de identificar corretamente, para triagem, os pacientes que foram infectados pelo agente causador da febre Q. Dessa forma, o método de ELISA não é indicado para ser utilizado como um método de triagem no diagnóstico da febre Q, já que sua baixa sensibilidade pode gerar muitos resultados falsos negativos, o que impossibilitaria uma contraprova. Nesse contexto, apenas os pacientes com resultados positivos seriam testados novamente, para sua confirmação, utilizando-se o método considerado padrão ouro. Assim, o paciente não iria realizar o tratamento específico para a febre Q podendo desenvolver a doença na sua fase crônica.

A especificidade do método de ELISA para detecção de anticorpos IgM anti-*C. burnetii* de fase II (99,07%), IgG anti-*C. burnetii* de fase I (100,00%), IgG anti-*C. burnetii* de fase II (98,58%), além de sua análise geral (98,55%), teve resultados relativamente altos, o que indica que ele é um método muito específico, ou seja, ele tem uma alta capacidade de identificar corretamente os pacientes que não foram infectados por *C. burnetii*. Adicionalmente, a alta especificidade do ELISA implica uma menor taxa de resultados falsos positivos. Dessa forma, o ELISA é indicado como um método confirmatório caso algum resultado negativo obtido pelo método considerado padrão ouro seja duvidoso.

Dados de Meekelenkamp et al. (2012) mostraram uma sensibilidade no teste de ELISA (Virion\Serion, Würzburg, Alemanha) de 85,7% e uma especificidade de 97,6% para a detecção de anticorpos anti-*C. burnetii* IgM de fase II. Ao comparar esses resultados com os encontrados no presente estudo, considerando a detecção de anticorpos anti-*C. burnetii* IgM de fase II (sensibilidade = 20,00%; especificidade = 99,07%), é possível destacar que os dois estudos apresentaram resultados próximos de especificidade, porém a sensibilidade obtida no presente estudo foi bem inferior. Já em estudo de Kantsø et al. (2012), foram comparados a sensibilidade e a especificidade de dois kits comerciais de ELISA. O kit Panbio obteve 91% de sensibilidade para anticorpos IgG e 29% para anticorpos IgM, já o Kit Vircell obteve 73% de sensibilidade para anticorpos IgG e 15% para anticorpos IgM. No que concerne à especificidade, o kit Panbio obteve 96% para anticorpos IgG e 100% para anticorpos IgM, já o Kit Vircell obteve 94% para anticorpos IgG e 94% para anticorpos IgM.

Segundo Patino e Ferreira (2017), os valores preditivos de um novo teste dependem da prevalência da doença na população, ou seja, eles não são fixos e serão diferentes em populações com maior ou menor prevalência da doença. Em populações cuja prevalência da doença for alta, o VPP aumenta e o VPN diminui. Assim, os VPPs e VPNs encontrados

no presente estudo podem variar dependendo da prevalência de anticorpos anti-*C. burnetii* nas populações de outros estudos.

O VPP do método de ELISA para detecção de anticorpos IgM anti-*C. burnetii* de fase II (20,00%), IgG anti-*C. burnetii* de fase I (0%), IgG anti-*C. burnetii* de fase II (14,29%), além de sua análise geral (33,33%), teve resultados relativamente baixos, ou seja, esses resultados de VPP indicam que o número de pacientes que realmente foram infectados por *C. burnetii* entre os pacientes com resultado reativo pelo método de ELISA foi pequeno.

O VPN do método de ELISA para detecção de anticorpos IgM anti-*C. burnetii* de fase II (99,07%), IgG anti-*C. burnetii* de fase I (97,94%), IgG anti-*C. burnetii* de fase II (97,21%), além de sua análise geral (95,33%), teve resultados relativamente altos, ou seja, esses resultados de VPN indicam que o número de pacientes que realmente não foram infectados por *C. burnetii* entre os pacientes com resultado não-reativo pelo método de ELISA foi elevado.

A acurácia do método de ELISA para detecção de anticorpos IgM anti-*C. burnetii* de fase II (98,17%), IgG anti-*C. burnetii* de fase I (97,94%), IgG anti-*C. burnetii* de fase II (95,88%), além de sua análise geral (94,05%), teve resultados relativamente altos. De acordo Nunes et al. (2015), a acurácia é uma propriedade mensurável que sintetiza a qualidade global de um teste, ou seja, ela fornece o percentual de resultados corretos (verdadeiros positivos e verdadeiros negativos). Dessa forma, a qualidade global do método de ELISA no presente estudo foi alta, principalmente devido ao grande número de amostras verdadeiras não-reativas.

Ao comparar os resultados de sensibilidade e especificidade dos três trabalhos, é possível concluir que todos obtiveram altos valores de especificidade e que os valores de sensibilidade variaram muito entre eles, o que indica a necessidade de realização de mais estudos sobre esses parâmetros relacionados ao método de ELISA no diagnóstico sorológico da febre Q.

As amostras foram coletadas e utilizadas para o diagnóstico de dengue e armazenadas em ultrafreezer à -86°C para posterior realização das técnicas de IFI e após estes a técnica de ELISA. De acordo com Kovačević et al. (2021), em geral o armazenamento de longo prazo de amostras de soro a -20°C gera resultados aceitáveis por 90 dias. No entanto, a literatura carece de informações se o armazenamento por período superior a este poderiam impactar nas dosagens de anticorpos. Este pode ser uma limitação de estudos deste tipo que precisam ser investigadas.

4. CONCLUSÃO

A análise do método de ELISA frente ao método padrão ouro de diagnóstico da febre Q, a Imunofluorescência Indireta, demonstrou, nas condições deste estudo, que ele não deve ser indicado como método de triagem no diagnóstico sorológico da febre Q, devido aos baixos valores de sensibilidade encontrados, porém, pode ser utilizado como método confirmatório caso algum resultado negativo obtido por outro método seja duvidoso, tendo em vista os altos valores de especificidade encontrados. Adicionalmente, os elevados valores de acurácia indicaram que a qualidade global do método utilizado foi alta. Por fim, ressalta-se a importância de realização de mais estudos para verificar a sensibilidade do método, uma vez que esses valores têm variado entre os estudos já realizados.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Programa de Pesquisa para o SUS (PPSUS) pelo financiamento deste projeto de pesquisa [Processo: CDS APQ 04335/17]. Agradecemos também ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Universidade Federal de Juiz de Fora pelo total apoio na realização deste estudo que fez parte de uma tese de doutorado.

6. REFERÊNCIAS

AKOBENG, A. K. Understanding diagnostic tests 1: sensitivity, specificity and predictive values. **Acta Paediatrica**, v. 96, n. 3, p. 338-341, 2007.

ALVES, J.; ALMEIDA, F.; DURO, R.; FERRAZ, R.; SILVA, S.; SOBRINHO-SIMÕES, J.; et al. Presentation and diagnosis of acute Q fever in Portugal — A case series. **IDCases**, v. 7, p. 34-37, 2017.

ANGELAKIS, E.; RAOULT, D. Review Q fever. **Veterinary Microbiology**, v. 140, n. 3-4, p. 297-309, 2010.

GIDDING, H.F.; PENG, C.Q.; GRAVES, S.; MASSEY, P.D.; NGUYEN, C.; STENOS, J.; et al. Q fever seroprevalence in Australia suggests one in twenty people have been exposed. **Epidemiology and Infection**, v. 148, n. e18, p. 1-5, 2020.

KANTSØ, B.; SVENDSEN, C.B.; JØRGENSEN, C.S.; KROGFELT, K.A. Comparison of two commercially available ELISA antibody test kits for detection of human antibodies against

Coxiella burnetii. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 44, n. 7, p. 489-494, 2012.

KOVAČEVIĆ, D.; CINCOVIĆ, M.; BELIĆ, B.; ĐOKOVIĆ, R.; MAJKIĆ, M. Blood Serum Stability Limit and Maximum Storage Time of Bovine Samples. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 49, p. 1-9, 2021.

MARES-GUIA, M.A.M.M. **Febre Q: pacientes suspeitos de dengue, animais domésticos, animais silvestres e artrópodes no Estado do Rio de Janeiro**. (Tese) Doutorado em Medicina Tropical - Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

MAURIN, M.; RAOULT, D. Q Fever. **Clinical Microbiology Review**, v. 12, n. 4, p. 518-553, 1999.

MEEKELenkamp, J.C.E.; SCHNEEBERGER, P.M.; WEVER, P.C.; LEENDERS A.C.A.P. Comparison of ELISA and indirect immunofluorescent antibody assay detecting *Coxiella burnetii* IgM phase II for the diagnosis of acute Q fever. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v.31, n. 6, p.1267-1270, 2012.

NUNES, A.A.; MARTINEZ, E.Z.; ANA, L.W.; PAZIN-FILHO, A.; COELHO, E.B.; MELLO, L.M. Testes diagnósticos no contexto da avaliação de tecnologias em saúde: abordagens, métodos e interpretação. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 48, n. 1, p. 8-18, 2015.

PATINO, C.M.; FERREIRA, J.C. Entendendo os testes diagnósticos: parte 2. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 43, n. 6, p. 408-408, 2017.

RODRÍGUEZ-ALONSO, B.; ALMEIDA, H.; ALONSO-SARDÓN, M.; LÓPEZ-BERNUS, A.; PARDO-LLEDIAS, J.; VELASCO-TIRADO, V.; et al. Epidemiological scenario of Q fever hospitalized patients in the Spanish Health System: What's new. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 90, p. 226-233, 2020.

SELLENS, E.; BOSWARD, K.L.; NORRIS, J.M.; WOOD, N.; HELLER, J.; GRAVES, S.; et al. *Coxiella burnetii* seroprevalence in unvaccinated veterinary workers in Australia: Evidence to support Q fever vaccination. **Zoonoses and Public Health**, v. 67, n. 1, p. 79-88, 2020.

VRANAKIS, I.; KOKKINI, S.; YACHNAKIS, E.; TSELENTIS, Y.; CHOCHLAKIS, D.; PSAROULAKI, A. Q fever in Greece: Findings of a 13 years surveillance study. Comparative Immunology, **Microbiology and Infectious Diseases**, v. 69, p. 1-6, 2020.