

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

**PERFIL DA DOENÇA DE CHAGAS NO LABORATÓRIO CENTRAL DO RIO
GRANDE DO SUL, BRASIL, 2011 A 2014.**

YURE PERES MEDEIROS

PORTO ALEGRE, JUNHO DE 2018.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Faculdade de Farmácia
Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

**PERFIL DA DOENÇA DE CHAGAS NO LABORATÓRIO CENTRAL DO RIO
GRANDE DO SUL, BRASIL, 2011 A 2014.**

YURE PERES MEDEIROS

Profa. Dra. Silvia Maria Spalding
Orientadora

PORTO ALEGRE, JUNHO DE 2018.

Este artigo foi elaborado segundo as normas da Revista Panamericana de Salud Pública, apresentadas em anexo.

AGRADECIMENTO

Agradeço a ajuda fundamental da minha orientadora, Silvia, pela paciência e muitas horas dedicadas ao meu auxílio.

Ao corpo técnico do LACEN/RS em especial aos profissionais Cloé Fernandes, Riene Denise Figueiredo dos Santos, Márcia Ayub de Mello, Raquel Rocha Ramos, Susana Leivas Pacheco Carneiro e Valdir Schalleberger.

Resumo

Este trabalho teve por objetivo avaliar o perfil laboratorial dos pacientes com suspeita de doença de Chagas e/ou em controle de tratamento cujas análises foram efetuadas no Laboratório Central do Estado do Rio Grande do Sul (LACEN/RS) entre os anos de 2011 e 2014. Foi realizada análise retrospectiva em 1.044 questionários clínico-laboratoriais de 685 pacientes e avaliados os resultados das metodologias de imunofluorescência indireta (IFI), de enzima-imunoensaio (ELISA) e de hemocultura. A análise estatística foi efetuada pelo software SPSS®, versão 20.0 e utilizados os testes de qui-quadrado e a avaliação de concordância de Kappa. Não foi observada diferença significativa entre as proporções de homens e mulheres e a idade média desta amostra foi de 49,6 anos. Os municípios de Minas do Leão, Arroio dos Ratos, Barão do Triunfo e Cerro Grande do Sul apresentaram a maior proporção de casos por 10.000 habitantes. A prevalência geral foi de 84,7% de indivíduos sororeagentes pela técnica de IFI e de 93,3% pela de ELISA, com concordância moderada (Kappa=0,591) entre as metodologias. Foram encontradas 174 (16,7%) hemoculturas positivas. O incremento de pesquisas com enfoque na padronização das metodologias laboratoriais e de acompanhamento do tratamento durante a infecção crônica pelo *T. cruzi* resultará na melhoria da condução deste agravo.

Palavras-Chave: Doença de Chagas, Sorologia, Hemocultura, Prevalência

Abstract

The objective of this study was to evaluate the laboratory profile of patients with suspected Chagas' disease and / or in treatment control, whose analyzes were carried out at the Laboratório Central do Estado do Rio Grande do Sul (LACEN / RS) between 2011 and 2014. A retrospective analysis was performed on 1,044 clinical and laboratorial questionnaires of 685 patients and the results of the indirect immunofluorescence (IFI), enzyme immunoassay (ELISA) and blood culture methodologies were evaluated. Statistical analysis was performed using SPSS® software, version 20.0 and the chi-square test and the kappa concordance evaluation were used. There was no significant difference between the proportions of men and women and the mean age of this sample was 49.6 years. The municipalities of Minas do Leão, Arroio dos Ratos, Barão do Triunfo and Cerro Grande do Sul had the highest proportion of cases per 10,000 inhabitants. The overall prevalence was 84.7% of seroreagent individuals by the IFI technique and 93.3% by ELISA, with moderate agreement (Kappa = 0.591) among the methodologies. 174 (16.7%) cultures positives were found. Increased research focusing on the standardization of laboratory methodologies and follow-up of treatment during chronic T. cruzi infection will result in improved management of this condition.

Key-Words: Chagas disease, Serology, Blood culture, Prevalence

Introdução

A doença de Chagas, ou tripanossomíase americana, foi descoberta e descrita por Carlos Chagas em 1909. É uma infecção transmissível causada pelo parasito *Trypanosoma cruzi* (*T.cruzi*), que pode ser transmitida pelo vetor, o triatomíneo, popularmente conhecido como barbeiro, e pode lesar o coração e órgãos do aparelho digestivo. Em zonas endêmicas, a via vetorial é considerada o mecanismo de transmissão de maior relevância epidemiológica (1), mas a transmissão pode ocorrer também por meio de transplante de órgãos, transfusões de sangue, transmissão congênita, acidentes laboratoriais com amostras e via oral (2).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (3), cerca de oito milhões de pessoas no mundo, grande parte na América Latina, estão infectadas com *Trypanosoma cruzi*, incapacitando indivíduos e causando mais de 10.000 mortes por ano. No Brasil, o número de infectados varia de 1,9 a 4,6 milhões de pessoas (4), sendo responsável por 58 928 mortes entre 2000 a 2011, o que equivale a 76,7% das mortes por doenças tropicais no país (5).

Devido à intensificação de ações de controle no Brasil, com o objetivo de erradicar o vetor a partir da década de 70, a transmissão vetorial vem apresentando uma redução sistemática, obtendo-se uma diminuição no impacto da doença na saúde da população em áreas antes consideradas endêmicas. Áreas rurais continuam sendo um grande foco da Doença de Chagas, devido à fatores relacionados ao baixo nível social da população, desconhecimento acerca da doença e as más condições de moradia que propiciam refúgio para os triatomíneos. Em 12 municípios do interior do Estado do Rio Grande do Sul (Ajuricaba, Alegria, Coronel Barros, Doutor Maurício Cardoso, Giruá, Humaitá, Ijuí, Independência, Porto Mauá, Salvador das Missões, Santo Cristo e São José do Inhacorá) foram encontrados focos residuais persistentes do Triatomíneo da espécie *Triatoma infestans* não descartando o risco de transmissão vetorial (6).

Os testes sorológicos se dividem em três categorias distintas: os convencionais como a imunofluorescência indireta (IFI), o ensaio imunoenzimático (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*-ELISA) e a hemaglutinação indireta (HAI); os alternativos como o ELISA recombinante e os não convencionais como imunoblot e quimioluminescência (7).

Em relação ao diagnóstico laboratorial, é preciso levar em conta que a Doença de Chagas apresenta duas fases: a fase aguda e a crônica. A fase aguda geralmente é assintomática e tem uma incubação de uma semana a um mês após a chegada do protozoário na corrente sanguínea. Nessa fase o diagnóstico laboratorial é feito a partir de exames parasitológicos diretos (pesquisa à fresco, métodos de concentração ou lâmina de gota espessa ou esfregaço delgado de sangue) a fim de observar o parasito circulante no sangue periférico. A pesquisa a fresco dos *Trypanosoma cruzi* é a primeira alternativa por ser rápida, de fácil realização e baixo custo. É recomendado que o paciente esteja febril no momento da coleta do sangue periférico. Os métodos sorológicos na fase aguda não são de primeira escolha, sendo mais úteis na fase aguda tardia no momento em que ocorre desaparecimento gradual dos tripanosomas na circulação periférica, e paralelamente a isso, ocorre aumento dos níveis de anticorpos IgM anti-*Trypanosoma cruzi* e posteriormente IgG (8).

A forma crônica por sua vez caracteriza-se por baixo nível de parasitemia no sangue periférico e alto nível de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma cruzi* sendo o diagnóstico essencialmente sorológico. Conforme preconizado pelo II Consenso Brasileiro de Chagas, para um diagnóstico confiável é necessário a realização do teste com um método de elevada sensibilidade, como o ELISA ou a IFI em conjunto com outro de elevada especificidade, como por exemplo, a HAI (6). No geral, os testes de ELISA, HAI e IFI são indicados para o diagnóstico, sendo que a confirmação se dá quando dois testes indicam resultado reagente, sendo que preferencialmente um dos escolhidos seja ELISA (8). É considerada inconclusiva a amostra que apresenta resultado reagente numa técnica e na outra não reagente, sendo

necessária a coleta de nova amostra e repetição das metodologias. Caso estes resultados permaneçam as amostras deverão ser encaminhadas ao laboratório de referência em Saúde Pública do Estado (LACEN).

A hemocultura e o xenodiagnóstico são métodos parasitológicos indiretos com baixa sensibilidade e sem valor diagnóstico quando o resultado é negativo. São utilizados como forma de confirmação, em caso de positivo, para esclarecimento de resultados inconclusivos no diagnóstico sorológico e também como controle de tratamento. Ambas técnicas caíram em desuso devido à limitações, longo tempo até a liberação do resultado e baixa sensibilidade (9). No Laboratório Central do Estado do Rio Grande do Sul (LACEN/RS), o método de hemocultura foi utilizado até o ano de 2014, acompanhado por duas técnicas sorológicas (ELISA e IFI) para a confirmação de diagnóstico e o acompanhamento do tratamento.

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma técnica altamente sensível para detecção do parasito, detectando fragmentos de DNA de *T.cruzi* circulando no sangue. O método molecular pode representar uma importante ferramenta para confirmação de resultados duvidosos, na triagem de doadores em bancos de sangue e como critério de cura pós-terapêutica, necessitando porém de padronização e regulamentação por órgãos competentes (10).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil laboratorial dos pacientes com suspeita de doença de Chagas e/ou em controle de tratamento, cujas análises foram efetuadas no Laboratório Central do Estado do Rio Grande do Sul entre os anos de 2011 e 2014.

Materiais e métodos

O estudo apresentou caráter retrospectivo, mediante a análise de 1.044 questionários acompanhados de requisições de exames e de análises laboratoriais realizadas no Laboratório Central de Saúde Pública do Rio Grande do Sul (LACEN/RS), no período de abril de 2011 a

julho de 2014. Foram entrevistados 685 pacientes, com idade variando de 13 a 81 anos, alguns efetuaram o acompanhamento do tratamento com a realização de uma média de três hemoculturas. De acordo com o II consenso brasileiro em Doença de Chagas (6), todos os pacientes que obtiveram resultados inconclusivos em duas ocasiões diferentes em laboratórios da rede pública ou privada e que estão em controle de tratamento devem ser encaminhados ao laboratório de referência do Estado (LACEN/RS).

O questionário foi aplicado ao paciente no momento da realização dos exames imunológicos e parasitológicos e estruturado com o objetivo de obter as seguintes informações, separadas em três blocos: dados do paciente (nome, idade, gênero, endereço, município de residência), dados da amostra/exame (data da coleta do material, exame solicitado) e dados clínicos laboratoriais (conhecimento sobre o vetor, mãe chagásica, diagnóstico de HIV e resultado da sorologia anterior). O preenchimento completo dos questionários foi realizado até setembro de 2013, no momento em que os dados clínico-laboratoriais não foram mais contabilizados.

Foi coletado pelo sistema *Vacutainer*[®] *system* (Becton Dickinson, Franklin Lakes) 10mL de sangue total para a realização das técnicas sorológicas de ELISA e IFI. O protocolo utilizado na hemocultura, com o objetivo de aumentar a sensibilidade, consistiu na coleta de 30 mL de sangue com heparina, seguido de centrifugação e posterior cultivo do meio *liver infusion tryptose* (LIT). As amostras foram incubadas a 28°C, verificadas em 30, 60 e 90 dias para verificação da presença de formas epimastigotas de *T.cruzi* (9, 10).

No diagnóstico sorológico pela IFI, foi utilizado o kit IFI-Chagas-Bio-Manguinhos®, baseado na reação dos anticorpos, quando presentes no soro, com os parasitas fixados em lâminas de microscopia. O resultado foi considerado reagente (R) quando ocorria presença de fluorescência em títulos iguais ou superiores a 1:80. Amostras classificadas como indefinidas, pelo fabricante do kit, foram aquelas que se apresentaram reagentes na diluição de 1:40 e na

próxima diluição, 1:80, não reagente. Porém, para análise estatística, foram considerados como reagentes os títulos de IFI 1:40. As amostras não reagentes (NR), não apresentaram fluorescência em diluições até 1:40, conforme a orientação do fabricante do kit utilizado.

Para a realização dos testes de ELISA foi utilizado o kit EIE Chagas GrupoBios®. O limiar de reatividade (*cut-off*) é o ponto de corte, o valor acima do qual temos menos resultados falso-positivos, e abaixo menos falso-negativos, serve de parâmetro para avaliar se o resultado da ELISA, depois de determinado pela leitura de densidade óptica, será interpretado como reagente, não reagente ou indeterminado. Cada fabricante de kit fornece os valores do *cut-off*.

O critério de inclusão no estudo foram casos encaminhados ao LACEN com solicitação de pesquisa para a Doença de Chagas mediante testes imunológicos (IFI e ELISA) e parasitológicos (hemocultura), realizados em concomitância e acompanhados de questionários clínico-laboratoriais e excluídos os que não atendiam à estes pré-requisitos.

A análise estatística foi efetuada pelo software SPSS®, versão 20.0, utilizados o teste de qui-quadrado e a avaliação de concordância de Kappa.

Resultados e Discussão

Este estudo consistiu de 1044 amostras de 685 pacientes, destes 337 (49,2%) do sexo feminino e 348 (50,8%) do masculino. De acordo com o teste qui-quadrado, não há diferença estatisticamente significativa entre as proporções de homens e mulheres ($p = 0,702$). Estes dados não confirmaram os achados de outros estudos (11, 12), que reportaram maior soropositividade em mulheres devido ao maior tempo que essas permanecem em casa realizando atividades domésticas, sendo mais expostas aos triatomíneos no interior das residências. A idade média observada foi de $49,6 \pm 12,6$ anos, concordando com a faixa etária encontrada por Oliveira *et al.*, em estudo realizado em Minas Gerais (13).

No âmbito de moradia dos pacientes, 89 municípios tiveram casos de sorologia reagente (anexo 1 e anexo 2). A região metropolitana de Porto Alegre, com maior população do Estado, totalizou 76,3% dos registros. A alta porcentagem de casos em zonas próximas à capital pode ser explicada pela necessidade dos pacientes em residirem, ao menos temporariamente, perto dos locais de tratamento, facilitando assim o deslocamento de pessoas que moram no interior do Estado. A cidade de Porto Alegre registrou 217 casos encaminhados ao LACEN/RS, o maior número entre todas as cidades gaúchas (anexo 1). Porém, efetuando a análise de ocorrência frente à população do município, apresentou uma ocorrência 1,5 casos para cada 10 000 habitantes, menor que as cidades de Minas do Leão com 7,9 registros, de Arroio dos Ratos com 6,6 registros, de Barão do Triunfo com 5,7 casos e de Cerro Grande do Sul com 4,9 em 10000 habitantes.

Em municípios com população menor que 6.000 habitantes (anexo 2), a ocorrência de um caso, pode representar um número de registros maior quando extrapolada a população para 10000 habitantes, porém o estudo não teve como objetivo avaliar as migrações dos indivíduos entre suas cidades natais e de residência atual, portanto não se pode afirmar o local onde originalmente pode ter ocorrido a transmissão da doença.

Tabela 1. Resultados de IgG anti-*Trypanosoma cruzi* (IFI e ELISA) nas 1.044 amostras processadas no LACEN/RS (2011-2014)

Sorologia		IFI			Total
		Reagente	Reagente 1:40	Não Reagente	
ELISA	Reagente	809	119	64	992 (95,0%)
	Não Reagente	0	0	52	52 (5,0%)
	Total	809 (77,5%)	119 (11,4%)	116 (11,1%)	1044 (100,0%)

Para verificar a concordância entre as duas metodologias sorológicas foi utilizado o Coeficiente de Concordância de Kappa, onde foram considerados reagentes títulos 1:40 ou superiores na IFI e o valor obtido foi de 0,591, moderada concordância. Quanto mais próximo de 1, maior é o indicativo de que existe uma concordância entre os resultados das duas metodologias e quanto mais próximo de zero, maior é o indicativo de que a concordância é puramente aleatória (14). (tabela 1)

As 64 (6,5%) amostras que apresentaram resultados discordantes nos dois testes sorológicos utilizados, todas foram reagentes pelo ELISA, resultado similar ao encontrado por Farfán-García et al. e Souza et al. que comprovaram o ótimo desempenho da técnica de ELISA, tanto no screening sorológico, quanto na sensibilidade apresentada no diagnóstico laboratorial (15,16). A diferença de resultados encontrada entre as duas técnicas pode ser explicada pela preparação antigênica diferente entre as metodologias. Na ELISA são utilizados extratos solúveis e purificados que representam a totalidade dos antígenos do *T.cruzi*, enquanto que na reação de IFI são utilizados parasitas inteiros fixados em lâmina, portanto somente os antígenos de membrana estão disponíveis para reagir com os anticorpos do soro do paciente (15 - 17).

O teste de ELISA apresenta um melhor desempenho na detecção de sororeversão frente aos métodos de HAI e IFI, de acordo com Sguassero et al (18). A sororeversão é a diminuição de títulos de anticorpos em pacientes crônicos, tratados ou não, reduzindo os números para níveis geralmente indetectáveis pelas técnicas de sorologia tradicionais.

Tabela 2 - Resultados de IgG anti-*Trypanosoma cruzi* (IFI e ELISA) e Hemocultura nas amostras processadas no LACEN/RS (2011-2014)

Sorologia	Hemocultura		Total
	Positiva	Negativa	
IFI Reagente e ELISA Reagente	159 (15,2%)	650 (62,3%)	809
IFI Reagente 1:40 e ELISA Reagente	13 (1,2%)	106 (10,1%)	119
IFI Não Reagente e ELISA Reagente	1 (0,1%)	63 (6,0%)	64
IFI e ELISA Não Reagente	1 (0,1%)	51 (4,9%)	52
Total	174 (16,7%)	870 (83,3%)	1044

Obs.: Em nenhuma amostra foram observados os perfis: **IFI Reagente 1:40 e ELISA Não Reagente e IFI Reagente e ELISA Não Reagente**

A variedade dos antígenos de T.cruzi utilizados nos extratos dos testes e a subjetividade na leitura da reação de IFI podem explicar o caso do paciente que apresentou IFI não reagente, discordando do resultado da ELISA (17) (tabela 2).

Os 119 (11,4%) resultados indefinidos, com título 1:40 reagente e 1:80 não reagente pela IFI, foram assim classificados de acordo com informação do fabricante do kit. É um valor que pode ser questionável, pois estudos utilizando kits distintos (BioMérieux Brasil®, CECON - Centro de Controle de Produtos para Diagnósticos Ltda, Biolab Diagnostica SA) usaram como padrão títulos que variavam desde 1:20 até 1:40 para determinar resultado reagente (15,16). A falta de padronização entre os fabricantes pode ter impacto nos resultados encontrados e dificulta a comparação entre as metodologias no acompanhamento dos pacientes.

O resultado positivo na hemocultura confirma a presença do protozoário circulando no sangue periférico do paciente. Neste trabalho foram encontradas 174 (16,7%) hemoculturas positivas, destas 159 (91,4%) com sorologia reagente pelas duas metodologias, 13 (7,5%) com ELISA reagente e IFI reagente com o título 1:40. (tabela 2)

Um caso apresentou a hemocultura positiva e os dois testes sorológicos não reagentes, após análise do formulário do paciente foi verificado que era um quadro receptor de transplante renal (tabela 2). O transplante de órgãos sólidos foi considerado como a possível forma de infecção (19). A utilização de medicamento imunossupressor neste transplantado manteve a sorologia negativa no momento da realização do exame laboratorial. Nesses casos, uma das condutas que podem ser adotadas determina o acompanhamento clínico e parasitológico do receptor. É necessária a realização de testes parasitológicos diretos e indiretos e exames sorológicos. Durante este seguimento é realizada semanalmente a pesquisa direta de *T.cruzi* e aos 30 e 60 dias, testes imunológicos e parasitológicos indiretos. Enquanto persistir a imunossupressão é necessário seguir o acompanhamento, sendo indicado para esses casos o uso da técnica de PCR, pois a baixa quantidade de anticorpos causa a falha de testes sorológicos. No momento em que se detectar infecção aguda, o tratamento antiparasitário deve ser administrado (6,20).

Em relação à co-infecção de Chagas com o vírus HIV, 2,5% (n=17) afirmaram serem soropositivos para HIV, 31,7% (n=217) não realizaram teste para verificar a presença do vírus ou não souberam responder, 24,1% (n=165) afirmaram ser soronegativos e 41,7% (n=286) dos formulários estavam incompletos e não apresentavam essa informação. O conhecimento de outras comorbidades é de fundamental importância para prever o prognóstico da doença de Chagas. Na ocorrência de AIDS pode ocorrer a reativação da doença de Chagas devido à imunossupressão. Nesses casos, ocorre a presença de altas taxas de parasitemia e de sinais clínicos, sendo necessário novo tratamento antiparasitário (6). A falta de informação de sorologia HIV em 31,7% dos pacientes pode apontar à subnotificação, falta de controle de carga viral o que pode causar complicações e evolução de quadros clínicos.

Um estudo internacional realizado por: Schijman e colaboradores em 2011, envolvendo diversos grupos de pesquisa (21), não recomendou o uso de PCR para diagnosticar pacientes

com a forma crônica da doença por certas limitações inerentes a metodologia, indicando seu uso para o diagnóstico em recém nascidos, no controle pós transplante de órgãos e em pacientes com co-infecção de HIV. A PCR se apresenta como alternativa para o controle pós-terapêutico (10, 22), mas devido a limitações e falta de padronização de protocolos entre os centros de saúde do país, não é utilizada como exame de rotina (6).

Os resultados negativos da hemocultura frente à sorologia podem ser em consequência da baixa sensibilidade da metodologia ou da eficácia terapêutica, considerando que na amostragem não foram identificados separadamente os pacientes em confirmação de diagnóstico laboratorial ou em controle de tratamento.

Na entrevista, 29,9% (n=205) dos pacientes relataram que desconheciam se a mãe era chagásica, 36,0% (n=247) afirmaram que ela não era chagásica, 28,3% (n=193) dos questionários não apresentavam resposta referente a essa pergunta e 5,8% (n=40) afirmaram que era portadora de doença de Chagas. Neste último grupo é importante investigar nesse caso se a transmissão se deu por via vetorial ou por outra via, sendo importante a realização de testes no restante da família com o objetivo de descobrir casos de fase aguda.

Entre os anos de 2011 e 2013, 615 pacientes foram questionados acerca do conhecimento do barbeiro; destes, 55,1% (n=339) afirmaram conhecer o vetor, enquanto que 44,9% (n=276) não souberam responder. Diversas campanhas foram realizadas ao longo dos anos no Estado a fim de conscientizar a população acerca do vetor triatomíneo. Em 2012, a Secretaria de Estadual de Saúde (SES) lançou uma ação com produção de materiais educativos e espaço nas rádios para informar acerca da identificação correta do inseto, cuidados com a casa para evitar infestação, orientações para captura do triatomíneo vivo e divulgação dos Postos de Informação de Triatomíneos (PIT) (23). O nível de conhecimento da população em estudo pode representar um reflexo positivo das campanhas criadas com o objetivo de manter o Estado livre da transmissão vetorial da doença. Outra hipótese para explicar a porcentagem de

conhecimento seria devido à passagem prévia dos pacientes em estudo encaminhados ao LACEN/RS por outros centros de estudo e a presença de pacientes em controle de tratamento, se tratando de uma população a parte que não representa a totalidade do Estado.

Foram coletadas 1044 amostras de 685 pacientes e observada nestes indivíduos a prevalência de 84,7% (n=580) sororeagentes na técnica de IFI, destes 70,2% (n=481) reagentes com títulos iguais ou superiores à 1:80 e 14,5% (n=99) com títulos de 1:40 e na de ELISA foi de 93,3% (n=639). Nas faixas etárias até 30 anos a prevalência foi igual nas duas metodologias, 81,8% (dos 13 aos 20) e 83,7% (dos 21 aos 30) .

Tabela 3 - Distribuição das amostras processadas no LACEN/RS segundo idade, IgG anti-*Trypanosoma cruzi* (IFI e ELISA) e hemocultura (2011 - 2014)

Idade (anos)	Número de casos	IFI e ELISA Reagente	IFI Não Reagente e ELISA Reagente	IFI e ELISA Não Reagente	Hemocultura Positiva	Hemocultura Negativa
13-20	11 (1,6%)	9 (1,5%)	-	2 (4,3%)	4 (2,7%)	7 (1,3%)
21-30	49 (7,2%)	41 (7,1%)	-	8 (17,4%)	15 (10,3%)	34 (6,3%)
31-40	91 (13,3%)	79 (13,6%)	6 (10,2%)	6 (13,1%)	27 (18,5%)	64 (11,9%)
41-50	194 (28,3%)	163 (28,1%)	23 (39%)	8 (17,4%)	31 (21,2%)	163 (30,2%)
51-60	195 (28,5%)	167 (28,8%)	16 (27,1%)	12 (26,1%)	46 (31,5 %)	149 (27,6%)
61-70	126 (18,4%)	105 (18,1%)	13 (22%)	8 (17,4%)	20 (13,7%)	106 (19,7%)
71-81	19 (2,8%)	16 (2,8%)	1 (1,7%)	2 (4,3%)	3 (2,1%)	16 (3%)
Total	685 (100%)	580 (100%)	59 (100%)	46 (100%)	146 (100%)	539 (100%)

A faixa etária mais atingida pela doença, foi a de 41-60 anos, somando 389 indivíduos representando 56,8% do total (tabela 3), também onde foram observados 330 (56,9%) resultados reagentes nos dois métodos sorológicos e 77 (52,7%) resultados positivos na

hemocultura. Nenhuma criança foi encaminhada ao LACEN/RS durante o período abrangido no estudo. O menor número de casos em indivíduos jovens e o aumento da média de idade da população afetada pode representar o sucesso das campanhas de controle vetorial (24). Outro fator determinante é o tempo de latência da doença, que pode durar por um período de 10 a 20 anos, com ausência de sintomas clínicos, o que dificulta o diagnóstico prévio (25, 26).

O LACEN/RS realizava, até o ano de 2014, a hemocultura juntamente com os testes sorológicos para o diagnóstico e acompanhamento terapêutico da Doença de Chagas. Atualmente há uma lacuna, pois não houve substituição dessa metodologia por outra que auxilie na confirmação dos resultados. Por conta do diagnóstico na fase crônica ser essencialmente sorológico, os LACENs de outros estados brasileiros (Bahia, Minas Gerais, Ceará), além de outros laboratórios municipais/estaduais de referência optaram por utilizar a técnica de quimioluminescência (*chemiluminescent immunoassay-CLIA*) em substituição ao método parasitológico indireto (27, 28). Trata-se de um método de elevada sensibilidade e especificidade baseado em emissão de luz na reação do antígeno/anticorpo após adição do conjugado e substrato. São utilizados quatro antígenos recombinantes diferentes na técnica, obtendo-se em média uma sensibilidade de 100% e especificidade de 96,6% (29). Atualmente já existem kits registrados pela ANVISA, apresentando resultados satisfatórios de acordo com o laboratório de referência nacional (LRN), necessitando da aprovação do Ministério da Saúde, pois não estão previstos no Consenso Brasileiro da doença de Chagas (9, 28).

O tratamento disponível pelo Sistema Único de Saúde do país é o benznidazol considerado como de eleição terapêutica e distribuído gratuitamente aos portadores da Doença de Chagas (6). É utilizado com o objetivo de controle ou cura da infecção, diminuição da transmissão do parasito e prevenção de lesões (2). A negatificação sorológica em geral ocorre até cinco anos após o tratamento; assim, recomenda-se realizar sorologia anual durante cinco anos, encerrando-se a pesquisa quando dois exames consecutivos forem não reagentes (30).

Critérios de cura mais rigorosos requerem a presença de três resultados negativos de três diferentes testes sorológicos (8).

Conclusão

Com base nesse estudo conclui-se que mesmo com concordância moderada entre as metodologias, o uso de duas técnicas sorológicas, IFI e ELISA, continua essencial para o correto diagnóstico e seguimento dos pacientes, obtendo-se poucos resultados inconclusivos durante o período abrangido pelo estudo. A hemocultura, apesar de já não ser mais utilizada e apresentar baixa sensibilidade, mostrou-se fundamental para a confirmação de casos específicos, como transplante e imunodepressão. O incremento de pesquisas com enfoque em padronização das metodologias laboratoriais e de acompanhamento do tratamento durante a infecção crônica por *T. cruzi* resultará na melhoria da condução deste agravo.

Referências bibliográficas

1. Aras R, Gomes I, Veiga M, Melo A. Transmissão vetorial da doença de Chagas em Mulungu do Morro, Nordeste do Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2003;36(3):359–63.
2. Costa M, Tavares V, Moreira D. Doença de chagas: uma revisão bibliográfica. *Rev Refacer.* 2010;1(2).
3. World Health Organization. Chagas disease (American trypanosomiasis) [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2018 fev [Acesso em: 25 março 2018]. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>.
4. Hotez PJ, Fujiwara RT. Brazil's neglected tropical diseases: an overview and a report card. *Microbes Infect.* 2014;16(8):601–6.
5. Martins-Melo FR, Ramos AN, Alencar CH, Heukelbach J. Mortality from neglected tropical diseases in Brazil, 2000–2011. *Bull World Health Organ.* 2016;94(2):103–10.
6. Dias J, Ramos A, Gontijo E, Luquetti A, Shikanai-Yasuda M, Coura J, et al. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2015. *Epidemiol e Serviços Saúde.* 2016;25(21):7–86.
7. Machado-De-Assis GF, Silva AR, Do Bem VA, et al. Posttherapeutic cure criteria in Chagas' disease: conventional serology followed by supplementary serological, parasitological, and molecular tests. *Clin Vaccine Immunol* 2012;19(8):1283–91.
8. Ministério da Saúde (BR). Recomendações sobre o diagnóstico parasitológico, sorológico e molecular para confirmação da doença de Chagas aguda e crônica. *Rev Patol Trop.* 2013 outubro;42(4):475-8.
9. Portela-Lindoso AA, Shikanai-Yasuda MA. Doença de Chagas crônica: do xenodiagnóstico e hemocultura à reação em cadeia da polimerase. *Rev Saude Publica* 2003;37(1):107–15.
10. Ferreira AW. Doença de Chagas. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e autoimunes: correlações clínico-laboratoriais. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013. p. 271-2
11. Borges-Pereira J, Zauza PL, Galhardo MC, Nogueira JS, Pereira GROL, Cunha RV. Doença de Chagas na população urbana do distrito sanitário de Rio Verde, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2001;34(5):459-66.
12. Gasparim AZ, Fontes C, Rossoni DF, Toledo MJ. Epidemiological and clinical profile of patients with Chagas disease in the Central-North area of Paraná, Southern Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [Internet]. 2018 Abril [Acesso em: 2018 maio 19]; 51(2): 225-230. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822018000200225&lng=en.
13. Oliveira FAS, Bicalho GVC, Souza-Filho LD, Silva MJ, Gomes Filho ZC. Características epidemiológicas dos pacientes com Doença de Chagas. *Rev Bras Med Família Comunidade.* 2006;6:107-13.
14. Landis RJ, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977;33:159-174.
15. Farfán-García AE, Castellanos-Domínguez YZ, Luna-Marín KP, Angulo-Silva VM. Concordancia de dos pruebas serológicas para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Rev Salud Publica.* 2013;15(2):208–19.
16. Souza RM, Amato Neto V. Discrepancies and consequences of indirect hemagglutination, indirect immunofluorescence and ELISA tests for the diagnosis of Chagas disease. *Rev Inst Med Trop.* 2012;54(3):141–3.
17. Araújo AB, Berne ME. Conventional serological performance in diagnosis of Chagas' disease in Southern Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2013;17(2):174-8.
18. Sguassero Y, Roberts KN, Harvey GB, Comandé D, et al. Course of serological tests in treated subjects with chronic *Trypanosoma cruzi* infection: a systematic review and meta-analysis of individual participant data. *Int J Infect Dis.* 2018. [Accepted Manuscript]

19. Comerlato L, Gomes AS, Conceição AT, Ribeiro AR, Gonçalves LF, Saitovitch D, et al. Transmissão de Doença de Chagas por transplante renal. *Rev HCPA*. 2000;20(3):302–6.
20. Gilber SR. Reação em cadeia da polimerase em comparação com o teste de imunofluorescência indireta (IFI) e ELISA (enzimaimunoensaio) no diagnóstico para a doença de Chagas [dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2007.
21. Schijman AG, Bisio M, Orellana L, Sued M, Duffy T, et al. International study to evaluate PCR methods for detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood samples from Chagas disease patients. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5: e931.
22. Gilber SR, Alban SM, Gobor L, Bescrovaine Jde O, Myiazaki MI, Thomaz-Soccol V: Comparison of conventional serology and PCR methods for the routine diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. *Rev Soc Bras Med Trop* 2013;46(3):310–315.
23. Secretaria de Saúde do Estado do Rio Grande do Sul. Secretaria da Saúde lança campanha sobre inseto transmissor da doença de Chagas [Internet]. Porto Alegre: Portal do Estado do Rio Grande do Sul; 2012 jul [Acesso em: 9 Jun 2018]. Disponível em: <https://estado.rs.gov.br/secretaria-da-saude-lanca-campanha-sobre-inseto-transmissor-da-doenca-de-chagas>.
24. Dias JCP. O controle da doença de Chagas no Brasil. *In*: Silveira AC, editor. El control de la enfermedad de Chagas em los países Del Cono Sur de América. Historia de una iniciativa internacional 1991/2001. Uberaba: Organização Panamericana da Saúde. Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro; 2002:146-250.
25. Barbosa LGN. Doença de Chagas 1909-2009. *Rev. LOGOS*. 2009;17:20-36.
26. Reiche EMV, Inouye MMZ, Bonametti AM and Jankevicius JV. Doença de Chagas Congênita: epidemiologia, diagnóstico laboratorial, prognóstico e tratamento. *J Pediatr*. 1996;72(3):125-132.
27. Secretaria da Saúde do Estado do Ceará. Nota técnica: Recomendações para o diagnóstico da Doença de Chagas [Internet]. Fortaleza: Núcleo de Vigilância Epidemiológica; 2018 fev [Acesso em: 19 jun 2018]. Disponível em: <http://www.saude.ce.gov.br/index.php/notas-tecnicas>.
28. Fundação Ezequiel Dias. Manual do programa de avaliação da qualidade imunodiagnóstico da Doença de Chagas [Internet]. Belo Horizonte: laboratório de referência nacional para o diagnóstico de Doença de Chagas; 2016 [Acesso em: 19 jun 2018]. Disponível em: <http://www.funed.mg.gov.br/wp-content/uploads/2011/07/Manual-PAQ-chagas.pdf>
29. Iborra-Bendicho MA, Albert-Hernández M, Márquez-Contreras C, Segovia-Hernández M. ARCHITECT Chagas: a new diagnostic tool in Chagas disease. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30:463– 465.
30. Ministério da Saúde (BR). Caderno de atenção básica: vigilância em saúde, zoonoses. Brasília: Ministério da Saúde; 2009.

Anexo 1 - Municípios com mais de quatro casos reportados de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma cruzi* em exames realizados no LACEN/RS entre os anos de 2011-2014.

Município	Número de casos	% de ocorrência	População município*	Ocorrência em 10.000 habitantes
1. Alvorada	40	5,84	195.673	2,0
2. Arroio dos Ratos	9	1,31	13.606	6,6
3. Barão do Triunfo	4	0,58	7.018	5,7
4. Butiá	5	0,73	20.406	2,5
5. Cachoeirinha	11	1,60	118.278	0,9
6. Campo Bom	4	0,58	60.074	0,7
7. Canoas	33	4,8	323.827	1,0
8. Caxias do Sul	8	1,16	435.564	0,2
9. Cerro Grande do Sul	5	0,72	10.268	4,9
10. Charqueadas	4	0,58	35.320	1,1
11. Eldorado do Sul	13	1,89	34.343	3,8
12. Erechim	7	1,01	96.087	0,7
13. Esteio	15	2,18	80.755	1,9
14. Farroupilha	4	0,58	63.635	0,6
15. Gravataí	66	9,58	255.660	2,6
16. Guaíba	22	3,19	95.204	2,3
17. Minas do Leão	6	0,87	7.631	7,9
18. Novo Hamburgo	14	2,03	238.940	0,6
19. Porto Alegre	217	31,49	1.409.351	1,5
20. Santa Cruz do Sul	19	2,76	118.374	1,6
21. SantAna do Livramento	4	0,58	82.464	0,5
22. São Jerônimo	6	0,87	22.134	2,7
23. São Leopoldo	12	1,74	214.087	0,6
24. Sapiranga	10	1,45	74.985	1,3
25. Sapucaia do Sul	47	6,86	130.957	3,6
26. Viamão	25	3,63	239.384	1,0

*População total = 10.693.929 [IBGE, 2010]

Anexo 2 - Municípios com menos de quatro casos reportados de presença de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma cruzi* em exames realizados no LACEN/RS entre os anos de 2011-2014.

Município	Número de casos	% de ocorrência	População município*	Ocorrência em 10.000 habitantes
1. Alecrim	1	0,14	7045	1,4
2. Amaral Ferrador	1	0,14	6.353	1,6
3. Barão	1	0,14	5.741	1,7
4. Barra do Ribeiro	3	0,44	12.572	2,4
5. Bom Retiro do Sul	1	0,14	11.472	0,9
6. Cachoeira do Sul	3	0,44	83.827	0,3
7. Camaquã	2	0,29	62.764	0,3
8. Campo Novo	1	0,14	5.459	1,8
9. Candelaria	1	0,14	30.171	0,3
10. Capão da Canoa	2	0,29	42.040	0,5
11. Capela Santana	1	0,14	11.612	0,9
12. Capivari do Sul	1	0,14	3.890	2,6
13. Carazinho	1	0,14	59.317	0,2
14. Carlos Barbosa	1	0,14	25.192	0,4
15. Cerro Grande	1	0,14	2.417	4,1
16. Chувиска	1	0,14	4.944	2,0
17. Crissiumal	1	0,14	14.084	0,7
18. Dom Feliciano	1	0,14	14.380	0,7
19. Encruzilhada do Sul	3	0,44	24.534	1,2
20. Estância Velha	3	0,44	42.574	0,7
21. Estrela	1	0,14	30.619	0,3
22. Giruá	1	0,14	17.075	0,6
23. Gramado	1	0,14	32.273	0,3
24. Horizontina	2	0,29	18.348	1,0
25. Igrejinha	2	0,29	31.660	0,6
26. Independência	1	0,14	6.618	1,5
27. Ivoti	3	0,44	19.874	1,5
28. Jacuizinho	1	0,14	2.507	4,0
29. Lagoão	1	0,14	6.185	1,6
30. Lajeado	3	0,44	71.445	0,4
31. Montenegro	2	0,29	59.415	0,3
32. Nova Hartz	2	0,29	18.346	1,1
33. Nova Petrópolis	2	0,29	19.045	1,0
34. Nova Prata	2	0,29	22.830	0,9
35. Nova Santa Rita	3	0,44	22.716	1,3
36. Pantano Grande	1	0,14	9.895	1,0
37. Passo Fundo	2	0,29	184.826	0,1
38. Pelotas	1	0,14	328.275	0,03
39. Portão	1	0,14	30.920	0,3
40. Rio Grande	2	0,29	197.228	0,1
41. Rio Pardo	3	0,44	37.591	0,8
42. Riozinho	1	0,14	4.330	2,3
43. Roque Gonzales	1	0,14	7.203	1,4

44. Rosário do Sul	1	0,14	39.707	0,2
45. Santo do Jacuí	1	0,14	11.880	0,8
46. Salvador do Sul	1	0,14	6.747	1,5
47. Santa Clara do Sul	1	0,14	5.697	1,8
48. Santa Maria	1	0,14	261.031	0,04
49. Santa Rosa	1	0,14	68.587	0,1
50. Santana da Boa Vista	2	0,29	8.242	2,4
51. Santiago	1	0,14	49.071	0,2
52. Santo Ângelo	3	0,44	76.275	0,4
53. São Gabriel	1	0,14	60.425	0,2
54. São Sebastião do Caí	1	0,14	21.932	0,5
55. Sarandi	3	0,44	21.285	1,4
56. Tapes	2	0,29	16.629	1,2
57. Taquara	1	0,14	54.643	0,2
58. Torres	1	0,14	34.656	0,3
59. Tramandaí	2	0,29	41.585	0,5
60. Três Coroas	1	0,14	23.848	0,4
61. Três Passos	1	0,14	23.965	0,4
62. Vera Cruz	2	0,29	23.983	0,8
63. Vitória das Missões	1	0,14	3.485	2,9

*População total = 10.693.929 [IBGE, 2010]