

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL NA DOENÇA DE CHAGAS: SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE E IMPLICAÇÕES CLÍNICAS

COMPARATIVE EVALUATION OF LABORATORY DIAGNOSTIC TECHNIQUES IN CHAGAS DISEASE: SENSITIVITY, SPECIFICITY, AND CLINICAL IMPLICATIONS

Kathleen Martins Lessa Sousa¹

Júlia Cristina Mota Costa²

Hylane Luiz Damascena³

RESUMO: A doença de Chagas, causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi*, é endêmica em algumas regiões da América Latina e representa um grave problema de saúde pública. O diagnóstico preciso e rápido desempenha um papel fundamental na gestão eficaz da doença, permitindo uma intervenção terapêutica adequada e prevenindo a transmissão. Este trabalho realizou um estudo comparativo de diferentes técnicas laboratoriais de diagnóstico da doença de Chagas, com foco na sensibilidade, especificidade e outras características relevantes dessas técnicas. As técnicas analisadas incluem ELISA (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática), PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), ensaio de imunofluorescência e Western Blot. Através de uma revisão da literatura científica, serão explorados os resultados de estudos comparativos que avaliaram a eficácia destas técnicas em diferentes cenários clínicos e epidemiológicos. Além disso, são discutidos fatores que podem influenciar a acurácia diagnóstica, como o estágio da doença e a diversidade genética do parasita. O estudo visa fornecer informações essenciais aos profissionais de saúde, pesquisadores e formuladores de políticas, ajudando-os a escolher a técnica diagnóstica mais adequada para tratar eficazmente a doença de Chagas.

3255

Descritores (DeCS): Doença de Chagas. Diagnóstico laboratorial. ELISA. PCR. Imunofluorescência. Western Blot. Sensibilidade. Especificidade. Epidemiologia. Saúde pública.

ABSTRACT: Chagas disease, caused by the parasite *Trypanosoma cruzi*, is endemic in certain regions of Latin America and represents a significant public health issue. Accurate and swift diagnosis plays a pivotal role in the effective management of the disease, enabling appropriate therapeutic intervention and preventing transmission. The general objective of the study was to compare different laboratory diagnostic techniques for Chagas disease, with a focus on sensitivity, specificity, and other relevant characteristics of these techniques. The analyzed techniques encompass ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), PCR (Polymerase Chain Reaction), immunofluorescence assay, and Western Blot. Through a review of scientific literature, the results of comparative studies evaluating the effectiveness of these techniques in various clinical and epidemiological settings will be explored. Additionally, factors that may influence diagnostic accuracy, such as the disease stage and genetic diversity of the parasite, are discussed. The study aims to provide essential information to healthcare professionals, researchers, and policymakers, assisting them in selecting the most suitable diagnostic technique to effectively address Chagas disease.

Keywords (DeCS): Chagas Disease. Laboratory Diagnosis. ELISA. PCR. Immunofluorescence. Western Blot. Sensitivity. Specificity. Epidemiology. Public Health.

¹Bacharelanda em Biomedicina pelo Centro Universitário Uni LS.

² Bacharelanda em Biomedicina pelo do Centro Universitário Uni LS.

³ Profa. Dra. do curso em Bacharel em Biomedicina pelo Centro Universitário Uni LS.

1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas é uma patologia infecciosa causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, sendo endêmica em muitos países da América Latina. A doença é transmitida por insetos vetores, como o *Triatoma infestans*, ou por transfusão sanguínea, transplante de órgãos ou de forma congênita, de mãe para filho (BRASIL, 2018; COURA et al., 2014).

O diagnóstico precoce e preciso da doença de Chagas é essencial para evitar complicações graves, como a miocardiopatia chagásica, a dilatação do esôfago ou do cólon, além de permitir o tratamento oportuno da doença. Diversas técnicas de diagnóstico estão disponíveis, incluindo a microscopia direta, a sorologia, a biologia molecular e a cultura de parasitos (COURA et al., 2014; PINHO et al., 2017).

Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo realizar uma comparação das diferentes técnicas de diagnóstico laboratorial para a doença de Chagas, avaliando sua sensibilidade e especificidade em pacientes infectados. Serão incluídos na análise estudos recentes e relevantes, que descrevam a utilização das diferentes técnicas de diagnóstico em pacientes humanos com doença de Chagas (ALMEIDA et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2018).

A revisão sistemática da literatura permitirá identificar as limitações e vantagens de cada uma das técnicas de diagnóstico utilizadas para a doença de Chagas, contribuindo para aprimorar o diagnóstico da doença e para a elaboração de estratégias de controle e prevenção da infecção por *T. cruzi* (COURA et al., 2014; PINHO et al., 2017) 3256

1.1 METODOLOGIA

Para alcançar o objetivo proposto foi realizada uma revisão bibliográfica sistemática. A busca foi realizada nas bases de dados: Scientific Electronic Library Online (SciELO), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e PubMed.

Nos sites de pesquisa mencionados foram utilizados os seguintes Descritores em Ciência da Saúde (DeCS): Doença de Chagas; Diagnóstico laboratorial; ELISA; PCR. A pesquisa à base de dados foi realizada em janeiro de 2023.

Os critérios de exclusão adotados foram: artigos em duplicata, artigos que não estão disponíveis na íntegra e artigos não disponíveis de forma gratuita. Como critérios de inclusão foram utilizados artigos que em seu conteúdo abordam o tema, nos idiomas português ou inglês, entre os anos 2010 a 2022.

Extração dos dados: Os dados foram extraídos dos estudos incluídos e organizados em uma planilha, incluindo informações sobre o tipo de técnica de diagnóstico utilizada,

sensibilidade, especificidade, número de pacientes incluídos no estudo e localização geográfica do estudo.

Análise dos dados: Os dados foram analisados utilizando a estatística descritiva, verificando em porcentagem o valor da especificidade e sensibilidade.

Comparação das técnicas de diagnóstico: As diferentes técnicas de diagnóstico foram comparadas em termos de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo.

Limitações do estudo: As limitações deste estudo incluem a seleção restrita dos estudos, com exclusão de estudos em outros idiomas e estudos em animais, o que pode limitar a generalização dos resultados. Além disso, a análise estatística foi baseada em dados agregados, o que pode não refletir as diferenças em desempenho das técnicas de diagnóstico em diferentes populações e contextos clínicos.

1.2 DOENÇA DE CHAGAS

A doença de Chagas é uma doença causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, transmitido por insetos chamados “barbeiros” ou “chupança”. A doença de Chagas é considerada um problema de saúde pública em muitos países da América Latina, onde cerca de 6 a 7 milhões de pessoas estão infectadas pelo parasita e mais de 25 milhões estão em risco (PAIVA et al., 2017).

3257

O diagnóstico da doença de Chagas baseia-se na detecção do parasita ou de seus produtos em diversas amostras biológicas do paciente, como sangue, urina e saliva. Várias técnicas de diagnóstico estão disponíveis para detectar o *T. cruzi*, incluindo testes sorológicos, parasitológicos e moleculares. O teste sérico é mais comumente usado para diagnosticar a doença de Chagas. Eles detectam anticorpos produzidos pelo organismo em resposta à infecção por *T. cruzi*. Dentre os testes sorológicos atualmente disponíveis, os mais destacados são o ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), a imunofluorescência indireta (IFI) e a hemaglutinação indireta (HAI). ELISA é um teste rápido e sensível que permite a detecção de anticorpos específicos contra *T. cruzi* apresenta alta sensibilidade e especificidade (ALVES et al., 2018). O IFI e o HAI são testes baratos, mas apresentam menor sensibilidade e especificidade que o ELISA (SILVA et al., 2017).

1.3 EXAMES PARASITOLÓGICOS DIRETOS

Pesquisa a Fresco de Tripanossomatídeos: Neste método, o sangue do paciente é examinado para detectar a presença dos tripanossomatídeos (parasitas) diretamente.

Métodos de Concentração: São usados quando a pesquisa a fresco é negativa. Esses métodos aumentam a sensibilidade e são recomendados quando o paciente apresenta sintomas por mais de 30 dias.

Lâmina Corada de Gota Espessa ou Esfregaço: É menos sensível que os métodos diretos e é mais comum em áreas onde a malária é endêmica.

1.4 EXAMES PARASITOLÓGICOS INDIRETOS

Xenodiagnóstico: Envolve a alimentação de triatomíneos (insetos vetores) com o sangue do paciente. Após um período de observação, as fezes dos insetos são examinadas em busca de parasitas. (NEILANE et al.,2009)

Hemocultura: Esta técnica envolve o cultivo do parasita em meios de cultura para identificar sua presença. Em comparação com os métodos diretos, a hemocultura é conhecida por sua maior sensibilidade. (BETHÂNIA et al.,2012)

Exames Sorológicos: ELISA (Ensaio Imunoenzimático): Esta técnica identifica a presença de anticorpos da classe IgG contra o T. cruzi. O ELISA é uma abordagem altamente sensível e amplamente empregada para esse fim.. (JOSÉ ANTONIO et al.,2023)

Imunofluorescência Indireta (IFI): Envolve a reação de anticorpos do paciente com antígenos do T. cruzi. É uma técnica sensível e padronizada. (NEILANE et al.,2009)

3258

Hemaglutinação Indireta (HAI): Usa a aglutinação de hemácias recobertas com antígenos do T. cruzi na presença de anticorpos específicos. (DANIELA F.A et al.,2009)

Detecção de anticorpos IgM: Este método é mais complexo e é empregado quando há suspeita de infecção aguda, especialmente se os métodos diretos apresentam resultados negativos. (JOSÉ ANTONIO et al.,2023)

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR): Baseia-se na amplificação de sequências de DNA específicas do T. cruzi. Embora seja uma técnica valiosa, sua disponibilidade pode ser limitada. (NEILANE et al.,2009)

Western Blot: Essa abordagem utiliza a eletroforese para separar as proteínas do parasita e detectar a presença de anticorpos no soro do paciente. (BETHÂNIA et al.,2012)

Métodos parasitológicos, como microscopia direta e hemocultura, permitem a detecção direta do T. cruzi em amostras biológicas. Embora esses métodos sejam altamente específicos, sua sensibilidade é limitada, o que pode levar a resultados falso-negativos em pacientes com baixas cargas parasitárias (ALVES et al., 2018). Técnicas moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), permitem a detecção do DNA do T. cruzi em amostras biológicas. Esses

métodos possuem alta sensibilidade e especificidade e permitem a detecção de parasitas mesmo em pacientes com baixas cargas parasitárias (RIBEIRO et al., 2019).

Embora existam diversas técnicas disponíveis para diagnosticar a doença de Chagas, nenhum método pode ser considerado o padrão ouro para detecção do parasita. A escolha da técnica diagnóstica mais adequada depende das características do paciente e das condições laboratoriais disponíveis. A combinação de diferentes métodos diagnósticos pode aumentar a sensibilidade e a especificidade do diagnóstico e melhorar o tratamento dos pacientes com doença de Chagas (PAIVA et al., 2017).

Quadro 1 – Estudos utilizados para extração de dados de sensibilidade e especificidade.

Nome dos Autores	Título da Pesquisa	Ano da Pesquisa	Número de Pessoas voluntárias	Local de Publicação	Local do estudo
Luquetti AO, Cruz RE, Pinto Dias JC	Evaluation of the performance of Chagas Stat-Pak, a rapid diagnostic test for Chagas disease	2009	446	Memórias do Instituto Oswaldo Cruz	Brasil
Umezawa ES, Bastos SF, Coura JR, Levin MJ, Gonzalez A, Rangel-Aldao R, Zingales B, Luquetti AO, da Silveira JF	Evaluation of an Immunochromatographic Dipstick Test for Rapid Detection of Trypanosoma cruzi-Specific Antibodies in Humans, Reservoirs, and Vectors	1996	213	Journal of Clinical Microbiology	Brasil
Schijman AG et al	Comparison of PCR Methods for Detection of Trypanosoma cruzi DNA in Blood Samples from Chagas Disease Patients	2011	280	Journal of Clinical Microbiology	América central
Pinazo MJ, Guerrero L, Posada E, Rodríguez E, Soy D, Gascon J	Evaluation of the performance of two rapid tests for the diagnosis of Chagas disease in a non-endemic area	2010	106	Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene	Mexico

Elaborado pelos autores

Extração de dados

Quadro 2 – Sensibilidade e especificidade dos testes analisados no estudo de LUQUETTI et al 2018 e PINHEIRO et al., 2017.

Técnica de Diagnóstico	Número de Pacientes	Localização Geográfica do Estudo	Sensibilidade	Especificidade
ELISA	466	Brasil	92,7% - 100%	97,6% - 100%
PCR	280	Brasil	84,5% - 100%	93,3% - 100%
Teste rápido	213	América central	53,8% - 89,7%	93,8% - 100%
Hemocultura	106	Mexico	19,2% - 39,1%	N/A (Não especificado)

Elaborado pelos autores (adaptado de LUQUETTI et al 2009, UMEZAWA ES et al 1996, SCHIJMAN AG et al 2011, PINAZO MJ et al 2010)

Com base na análise dos quatro de estudo realizados em pacientes humanos, a técnica de ELISA apresentou a maior sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da doença de Chagas, com valores variando de 92,7% a 100% para sensibilidade e de 97,6% a 100% para especificidade. A técnica de PCR também demonstrou bom desempenho, com sensibilidade de 84,5% a 100% e especificidade de 93,3% a 100%.

Já o teste rápido apresentou sensibilidade e especificidade variáveis entre os estudos, com valores entre 53,8% e 89,7% para sensibilidade e entre 93,8% e 100% para especificidade. Por fim, a técnica de hemocultura apresentou baixa sensibilidade, variando de 19,2% a 39,1%, mas ainda é importante para a confirmação diagnóstica em casos suspeitos.

[...] Muitos são os métodos de diagnóstico da doença de Chagas, sejam eles diretos ou indiretos, na fase aguda ou crônica, assim facilitando o diagnóstico e um possível tratamento da doença de uma forma efetiva. Os métodos vêm melhorando ao longo dos anos e se tornando mais precisos em seus resultados. Um dos problemas relacionados a eles é o custo-benefício, onde os métodos mais precisos são mais caros, e, assim, os métodos tradicionais de diagnósticos são mais comumente utilizados por serem mais acessíveis.” (DANIELA FERREIRA ALVES et al., 2019, p.330)

2. TRATAMENTO DA DOENÇA DE CHAGAS

Fase aguda: O tratamento parasiticida está indicado em todos os casos agudos da doença de Chagas, independentemente do mecanismo de transmissão. Isto também inclui casos de reativação em pacientes imunocomprometidos. Infecções congênitas: O tratamento antiparasitário é recomendado quando há presença de parasitas no sangue do bebê ou quando a soropositividade (IgG) é detectada após os seis ou nove meses de idade. (PINHEIRO et al., 2017)

Infecções incidentais: Circunstâncias consideradas de alto risco de infecção, como feridas cortantes ou contato com membranas mucosas durante o manuseio de culturas de *Trypanosoma cruzi* ou sangue de pacientes com suspeita de infecção parasitária alta parasitemia, amostras de sangue devem ser colhidas primeiro para realização inicial sorologia. O tratamento antiparasitário com benzonidazol é indicado prontamente nos casos confirmados (soroconversão) e deve durar no mínimo 30 dias, com acompanhamento clínico e sorológico. (PINHEIRO et al., 2017)

Fase crônica: O tratamento parasiticida na fase crônica não é consensual. Porém, é indicado em menores de 12 anos porque estudos mostram resultados positivos. Em adultos, a literatura atualmente não fornece evidências claras da sua eficácia na modificação da história natural da doença, mas alguns estudos sugerem um benefício em determinados grupos. (ALVES et al., 2018)

Quadro 3 – Recomendações para o tratamento de acordo com a fase da doença.

Recomendação	Fase de início do tratamento
O tratamento parasiticida é indicado em todos os casos agudos da doença de Chagas, independentemente do mecanismo de transmissão. Isso inclui também os casos de reativação em pacientes imunodeprimidos.	Fase Aguda
O tratamento parasiticida é recomendado quando há a presença do parasita no sangue do recém-nascido ou a detecção de soro positivo (IgG) após seis ou nove meses de vida.	Infecção Congênita
Casos considerados de alto risco de contaminação, como ferimentos perfurocortantes ou contato com mucosas durante o manuseio de culturas de <i>Trypanosoma cruzi</i> ou sangue de pacientes com suspeita de alta parasitemia, devem ter o sangue coletado previamente para realização de sorologia inicial. O tratamento parasiticida com benzonidazol é indicado prontamente nos casos confirmados (virada sorológica), e o tratamento deve se estender por um período mínimo de 30 dias, com acompanhamento clínico e sorológico.	Infecção Acidental
O tratamento parasiticida na fase crônica não é consensual. No entanto, está indicado em crianças menores de 12 anos, pois estudos demonstraram resultados positivos. Em adultos, a literatura até o momento não oferece evidências claras de sua eficácia na modificação da história natural da doença, mas alguns estudos sugerem benefícios em determinados grupos	Fase Crônica

Elaborado pelos autores (adaptado de TEDC, 2009).

Tratamento dos casos agudos e crônicos recentes: Os Ministérios da Saúde desses países decidiram fornecer tratamento tanto para os casos agudos como para os crônicos recentes da doença de Chagas. Isso significa que pacientes que apresentam a doença em seus estágios iniciais recebem tratamento. (GALVÃO et al., 2022)

Tratamento da forma crônica indeterminada tardia e de portadores de cardiopatia ou da forma digestiva sem maior gravidade: Para pacientes com a forma crônica indeterminada tardia da doença, bem como portadores de cardiopatia ou da forma digestiva sem maior gravidade, a decisão de tratar depende de vários fatores. Isso inclui a droga envolvida no tratamento e a avaliação dos riscos e benefícios. A decisão também é tomada em consenso entre o paciente e o médico, com ambos cientes do alcance do tratamento. (GALVÃO et al., 2022)

Busca por novas drogas: Há uma busca contínua por novas drogas com alta atividade antiparasitária e um perfil de segurança melhor para tratar portadores da infecção chagásica. Um exemplo mencionado é o posaconazol. (GALVÃO et al., 2022)

Prevenção da evolução da doença: O grande benefício do tratamento da fase indeterminada da doença de Chagas é a prevenção da evolução da doença para suas formas graves. Portanto, o tratamento nessa fase é importante para evitar complicações futuras. (MARIA et al., 2008)

Desafio de capacitação de profissionais de saúde: Além do desenvolvimento de drogas mais eficazes e com menos efeitos adversos, um grande desafio atual é capacitar profissionais de saúde para o diagnóstico e tratamento da doença de Chagas. Isso é essencial para garantir que os pacientes recebam o tratamento adequado.

CONCLUSÃO

A conclusão da comparação dos 4 estudos é que a técnica de ELISA apresentou a maior sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da doença de Chagas em pacientes humanos, seguida pela técnica de PCR e pelo teste rápido. A técnica de hemocultura apresentou baixa sensibilidade, mas ainda é importante para a confirmação diagnóstica em casos suspeitos. Além disso, é necessário considerar fatores como custo, disponibilidade de recursos e infraestrutura laboratorial na escolha da técnica de diagnóstico mais adequada para cada contexto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, R. M.; BARBOSA, M. G.; MARTINS, T. A. S.; FERREIRA-SILVA, M. M.; SANTOS, C. M.; BORGES, M. A. S. **Diagnóstico molecular da doença de Chagas: uma revisão.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 51, n. 5, p. 579-586, 2018.

BETHÂNIA ALMEIDA; FABIANO SANTILIANO, Levantamento dos Métodos de Diagnóstico Para a Doença de Chagas, Enciclopédia biosfera, v. 8 n. 14 (2012): EDIÇÃO Vol. 08 Nº 14 – 2012, acessado em 2023: <https://www.conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/3980>

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para atenção integral às pessoas com doença de Chagas. Brasília, DF: **Ministério da Saúde**, 2018. Disponível em: http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_clinico_diretrizes_terapeuticas_doenca_chagas.pdf. Acesso em: 20 abr. 2023.

COURA, J. R., DIAS, J. C. P., & DE MACEDO, V. (2014). O controle da doença de Chagas no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 47(Suppl 1), 46-50.

DIAS, J. C. P.; RAMOS, A. N. Jr. Doença de Chagas: uma nova epidemiologia faz necessária uma mudança de paradigma. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 5-6, 2011.

GALVÃO, L. M. C.; SILVA, L. K.; CORREIA, D.; VILAS-BÔAS, L. C.; DECASTRO, L.; PACHECO, L. K. A.; ANDRADE, G. M. Q. Detecção de anticorpos IgG anti-Trypanosoma cruzi em amostras de sangue total coletadas em papel de filtro: análise comparativa de seis testes comerciais no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, n. 3, p. 356-361, 2017. CRUZ-PINEDA, W. D.; Parra-Rojas, I., Rodríguez-Ruíz, H. A., Illades-Aguiar, B., Matia-García, I., & Garibay-Cerdenares, O. L.. The regulatory role of insulin in energy metabolism and leukocyte functions. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 111, n. 1, p. 197-208, 2022. Disponível em: <https://jlb.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/JLB.2RU1220-847R?af=R>

3263

JOSÉ ANTONIO; ANIS RASSI JR; GLÁUCIA M. M. OLIVEIRA; LUÍS CLAUDIO L. CORREIA; ALBERTO N. R. JÚNIOR, SBC Guideline on the Diagnosis and Treatment of Patients with Cardiomyopathy of Chagas Disease – 2023, Arquivo Brasileiro de Cardiologia, p. 124-137, 2023, acessado em 2023: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37377258/>

LUQUETTI AO, CRUZ RE, PINTO DIAS JC. Evaluation of the performance of Chagas Stat-Pak, a rapid diagnostic test for Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 2009; 104(2): 207-210.

MARIA F.O.; APARECIDA T.N.; VÂNIA M.O.P; ALCIDÉSIO S.S.J; HELENA L.L.C.; IVO C.B.C. **Journal of Tropical Pathology**, v. 8, p. 213-223, 2008. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Aparecida-Nagao-Dias-2/publication/269911720_Tratamento_etiologico_da_doenca_de_Chagas_no_Brasil/links/54c54f5c0cf2911c7a550021/Tratamento-etologico-da-doenca-de-Chagas-no-Brasil.pdf

NEILANE R.F, BESSA.T.; ERIC, ANTÔNIO S.C.M; DANIELA F.A. Métodos de diagnóstico para a doença de Chagas: uma atualização. **Revista Brasileira de Análises clínicas**, v. 05, p. 330-333, 2009. Disponível em: <https://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2019/04/RBAC-vol-50-4-2018-edi%C3%A7%C3%A3o-completa-com-corre%C3%A7%C3%B5es.pdf#page=32>

PINAZO MJ, GUERRERO L, POSADA E, RODRÍGUEZ E, SOY D, GASCON J. Evaluation of the performance of two rapid tests for the diagnosis of Chagas disease in a non-

endemic area. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2010; 104(10): 544-550

PINHEIRO, S. L., SERRA-FREIRE, N. M., MACEDO, O. C., CARVALHO, S. F. G., MENDONÇA, C. L. F., & SILVA, E. D. O. (2017). Comparative analysis of serological and molecular tests for the diagnosis of Chagas disease in a non-endemic area in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, 59, e32.

RASSI JR, A., RASSI, A., & MARIN-NETO, J. A. (2010). Chagas disease. **The Lancet**, 375(9723), 1388-1402.

SABINO, E. C., LEE, T. H., MONTALVO, L., NGUYEN, M. L., LEIBY, D. A., CARRICK, D. M., & BUSCH, M. P. (2013). Antibody levels correlate with detection of *Trypanosoma cruzi* DNA by sensitive polymerase chain reaction assays in seropositive blood donors and possible resolution of infection over time. **Transfusion**, 53(6), 1257-1265.

SCHIJMAN AG, BISIO M, ORELLANA L, SUED M, DUFFY T, MEJIA JARAMILLO AM, CURA C, AUTER F, VERON V, QVARNSTROM Y, DEBORGGRAEVE S, HIJAR G, ZULANTAY I, LUCERO RH, VELAZQUEZ E, TELLEZ T, SANCHEZ LEON Z, GALVÃO L, NOLDER D, MONJE RUMI M, LEVI JE, RAMIREZ JD, ZORRILLA P, FLORES M, JERCIC MI, CRISANTE G, AÑEZ N, DE CASTRO AM, GONZALEZ CI. Comparison of PCR Methods for Detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in Blood Samples from Chagas Disease Patients. *Journal of Clinical Microbiology*, 2011; 49(4): 1421-1424.

UMEZAWA ES, BASTOS SF, COURA JR, LEVIN MJ, GONZALEZ A, RANGEL-ALDAO R, ZINGALES B, LUQUETTI AO, DA SILVEIRA JF. Evaluation of an Immunochromatographic Dipstick Test for Rapid Detection of *Trypanosoma cruzi*-Specific Antibodies in Humans, Reservoirs, and Vectors. *Journal of Clinical Microbiology*, 1996; 34(7): 1882-1885. 3264