



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Instituto de Medicina Social

Pedro Emmanuel Alvarenga Americano do Brasil

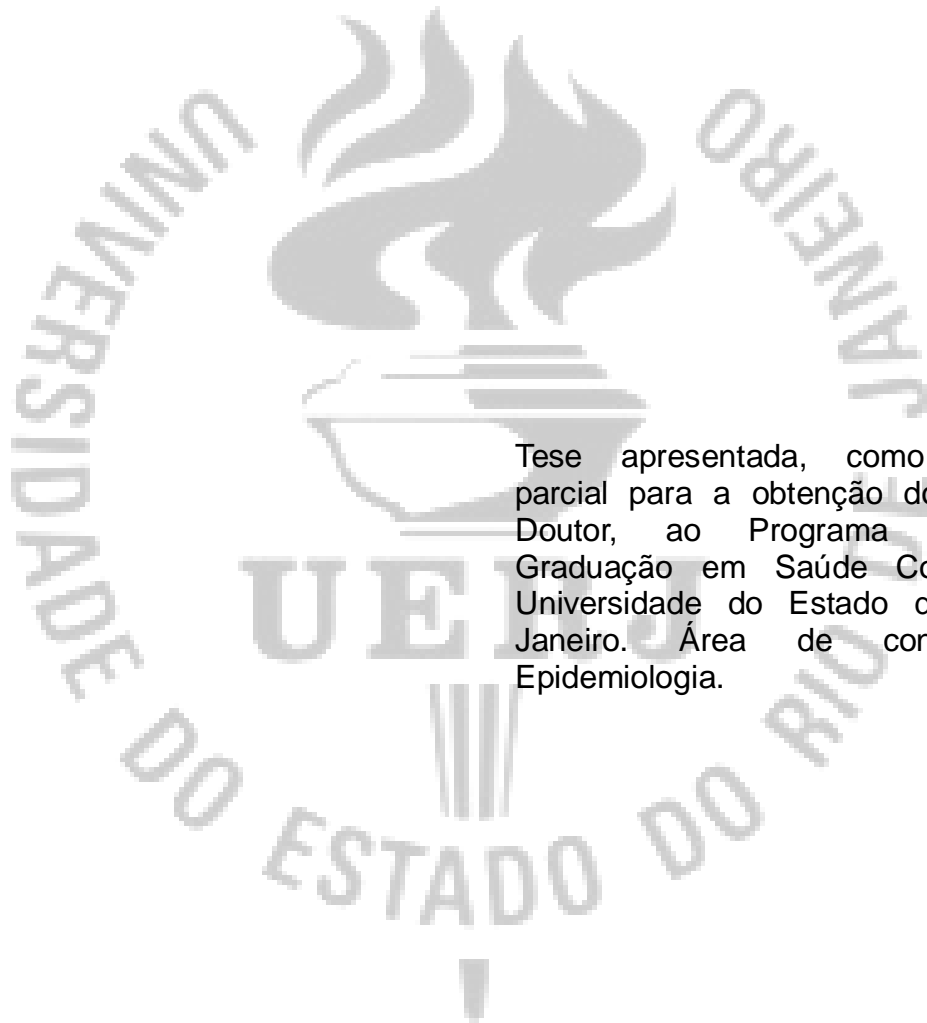
**Contribuição para o diagnóstico da doença de Chagas crônica na
prática clínica**

Rio de Janeiro

2010

Pedro Emmanuel Alvarenga Americano do Brasil

Contribuição para o diagnóstico da doença de Chagas crônica na prática clínica



Tese apresentada, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Epidemiologia.

Orientador: Prof. Dr. José Ueleres Braga

Rio de Janeiro

2010

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CBC

B823 Brasil, Pedro Emmanuel Alvarenga Americano.
Contribuição para o diagnóstico da doença de Chagas crônica na
prática clínica / Pedro Emmanuel Alvarenga Americano Brasil. –
2010.
150f.

Orientador: José Ueleres Braga.
Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro,
Instituto de Medicina Social.

1. Chagas, Doença de – Diagnóstico – Teses. 2.
Tripanossomose – Teses. 3. Teste imunoenzimático – Teses. 4.
Reação em cadeia de polimerase – Teses. 5. ELISA. 6.
Metanálise. I. Braga, José Ueleres. II. Universidade do Estado do
Rio de Janeiro. Instituto de Medicina Social. III. Título.

CDU 616.937

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total e parcial desta tese,
desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Pedro Emmanuel Alvarenga Americano do Brasil

Contribuição para o diagnóstico da doença de Chagas crônica na prática clínica

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Epidemiologia.

Aprovado em 13 de dezembro de 2010

Banca examinadora:

Prof. Dr. José Ueleres Braga (Orientador)
Instituto de Medicina Social – UERJ

Prof. Dr. Claudio José Struchiner
Instituto de Medicina Social – UERJ

Prof. Dr. Eros Antônio de Almeida
Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP

Prof. Dr. Evandro da Silva Freire Coutinho
Instituto de Medicina Social – UERJ

Dr. Roberto Magalhães Saraiva
Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas – FIOCRUZ

Rio de Janeiro

2010

DEDICATÓRIA

Para Ruy, Luna e Fabiana.

AGRADECIMENTOS

Aos parceiros:

Alejandro Marcel Hasslocher Moreno

Marcelo Teixeira de Holanda

Liane de Castro

Luiz Henrique Conde Sangenis

Sérgio Salles Xavier

Aos contribuidores:

Ana Luiza Boechat

Carla Renata Ferreira dos Santos

Eleonora Carregal

Daniel Tavares Almeida de Paiva

Fabiana Maria da Consta Fonseca

Ingebourg Georg

Marcelino José Jorge

Maria Regina Cotrim Guimarães

Valdilea Gonçalves Veloso dos Santos

Veruska Artioli Michalski

Casas entre bananeiras
mulheres entre laranjeiras
pomar amor cantar.

Um homem vai devagar.
Um cachorro vai devagar.
Um burro vai devagar.
Devagar... as janelas olham.

Eta vida besta, meu Deus.

Carlos Drummond de Andrade

RESUMO

BRASIL, Pedro Emmanuel Alvarenga Americano do. *Contribuição para o diagnóstico da doença de Chagas crônica na prática clínica*. 2010. 150f. Tese (Doutorado em Saúde Coletiva) – Instituto de Medicina Social, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

Em diferentes diretrizes para doença de Chagas crônica há diferentes algoritmos de execução de testes sorológicos. No entanto, há poucas referências quanto aos pacientes que devem ser submetidos à investigação sorológica, além dos indícios de que os testes ELISA possuem limitações e que o uso da PCR é controverso. Este trabalho contém resultados de dois estudos; o primeiro teve como objetivo rever a literatura sobre diagnóstico de doença de Chagas crônica e sumarizar a performance dos testes ELISA e PCR, e o segundo desenvolver um modelo de predição clínica para doença de Chagas crônica. O primeiro estudo foi uma revisão sistemática. Resumos relevantes foram procurados em bases remotas (MEDLINE, LILACS, EMBASE, SCOPUS, ISIWeb) e em bibliografia de textos completos. As investigações originais foram consideradas elegíveis para este trabalho quando estimassem sensibilidade e especificidade, ou confiabilidade (ou permitissem sua estimativa) de testes ELISA ou PCR para o diagnóstico de doença de Chagas crônica. A heterogeneidade mostrou-se elevada em cada teste (ELISA e PCR) e o efeito de ponto de corte foi detectado em subgrupos. A sensibilidade e a especificidade sumárias do teste ELISA foram 97,7% [96,7%-98,5%] e 96,3% [94,6%-97,6%] respectivamente. O teste ELISA com antígenos recombinantes apresentou medidas sumárias de sensibilidade e especificidade de 99,3% [97,9%-99,9%] e 97,5% [88,5%-99,5%], respectivamente. A heterogeneidade da PCR não foi explicada, porém foi detectado um efeito de ponto de corte. A sensibilidade sumária da PCR foi de 50% a 90%, e sua especificidade sumária foi de aproximadamente 100%. Há testes comerciais cujos relatórios técnicos não são acessíveis e por isso não foram incluídos nesta revisão. O segundo trabalho foi um estudo transversal com pacientes recrutados sequencialmente por estarem sob suspeita de serem portadores de doença de Chagas. Neste estudo foram incluídos 352 pacientes e a prevalência da doença de Chagas foi de 20,74%. Os preditores que compuseram o modelo final foram: referenciamento por banco de sangue, número de irmãos com doença de Chagas, presença de BRD 3º grau ao ECG, presença de EV isolada ao ECG, relato de ter residido em área rural no passado, presença de BDAS ao ECG, radiografia com sinal de cardiomegalia, ausência de hipertensão arterial, número de parentes com AVE, relato de ter habitado em vivenda de estuque/taipa no passado. Esse modelo apresentou uma área sob a curva ROC de 0,90. Um nomograma foi elaborado para estimativa individual de probabilidades de ser portador de doença de Chagas crônica.

Palavras-chave: Doença de Chagas. *Trypanosoma cruzi*. Diagnóstico. Sensibilidade e Especificidade. Metanálise. Modelos de predição.

ABSTRACT

Different guidelines for chronic Chagas disease recommend different serological tests algorithms. However, recommendations on who should be submitted to serological investigation are scarce. Several evidence points that ELISA has limitations and PCR utility is controversial. This thesis combines results from two different studies. The first study sought to review chronic Chagas disease literature about diagnostic testes and to summarize and compare ELISA's and PCR's performances. The second study aimed to develop a clinical prediction model for chronic Chagas disease. The first study was a systematic review. Relevant studies were searched using remote databases (MEDLINE, LILACS, EMBASE, SCOPUS, ISIWeb) and references from included and excluded reports. Original investigations were selected if sensitivity and specificity, or reliability were estimated (or if there were data available for it's calculation) regarding ELISA or PCR for chronic Chagas disease diagnosis. Heterogeneity was high for both tests (ELISA and PCR) and a threshold effect was detected in particular subgroups. ELISA's summary sensitivity and specificity were 97.7% [96.7%-98.5%] and 96.3% [94.6%-97.6%] respectively. ELISA-rec (with recombinant antigens) summary sensitivity and specificity were 99.3% [97.9%-99.9%] and 97.5% [88.5%-99.5%] respectively. PCR's heterogeneity was not explained, but a threshold effect was detected. PCR's summary sensitivity ranged from 50% to 90%, and specificity was nearly 100%. There were commercial tests which technical reports were not accessible, and, therefore, were not included in this review. The second study was designed as a cross-sectional study, and included a total of 352 consecutive patients under suspicion of chronic Chagas disease. Chagas disease prevalence was 20.7%. The following predictors were kept in the final model: blood bank referral; number of brothers or sisters with Chagas disease; complete right bundle branch block at ECG, isolated premature ventricular beat at ECG; past history of living in a rural area in the past; left anterior fascicular block at ECG; radiograph with evidence of cardiomegaly; absence of arterial hypertension; number of relatives with stroke; past history of living in mud houses in the past. This model showed an area under ROC curve of 0.90. A nomogram was developed to estimate individual probabilities of being a carrier of chronic Chagas disease.

Keywords: Chagas disease. *Trypanosoma cruzi*. Diagnosis. Sensitivity and Specificity. Meta-analysis. Prediction models.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIC	critério de Akaike
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AUC	área sob a curva ROC
AVE	acidente vascular encefálico
BDAS	bloqueio divisional ântero-superior esquerdo
BRD	bloqueio do ramo direito
BRE	bloqueio do ramo esquerdo
DNA	ácido desoxirribonucleico
DOR	<i>diagnostic odds ratio</i> ou razão de chance diagnóstica
ECG	eletrocardiograma
ELISA	<i>enzyme linked immunosorbent assay</i> ou ensaio imunoenzimático
ELISA-rec	ensaio imunoenzimático com antígenos recombinantes
EUA	Estados Unidos da América
EV	extrassístole ventricular
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HA	hemaglutinação
HAI	hemaglutinação indireta
HSROC	<i>hierarchical summary receiver operating characteristics</i>
ICC	insuficiência cardíaca congestiva
IFI	imunofluorescência indireta

IPEC	Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas
K-DNA	DNA do kinetoplasto
MCMC	Cadeias de Markov via simulação de Monte Carlo
ML	máxima verossimilhança
MP	marca-passo
ns-DNA	DNA nuclear satélite
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-americana de Saúde
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> ou reação em cadeia da polimerase
QUADAS	<i>Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies</i>
ROC	<i>receiver operating characteristics</i>
SISNEP	Sistema Nacional sobre Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos
SROC	<i>summary receiver operating characteristics</i>
TCLE	termo de consentimento livre e esclarecido
TDR	<i>Tropical Disease Research</i> ou programa especial de treinamento em doenças tropicais
VIF	<i>Variance Inflation Factors</i>

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	11
1	OBJETIVO	18
2	QUESTÕES TEÓRICO-METODOLÓGICAS	18
2.1	Da revisão sistemática	19
2.2	Dos modelos de predição clínica	22
3	RESULTADO	26
3.1	Artigo 1 – ELISA versus PCR para o diagnóstico de doença de Chagas crônica: revisão sistemática e metanálise.	26
3.1.1	<u>Resumo</u>	26
3.1.2	<u>Introdução</u>	27
3.1.3	<u>Método</u>	29
3.1.4	<u>Resultados</u>	36
3.1.5	<u>Discussão</u>	85
3.1.6	<u>Limitações da revisão</u>	90
3.1.7	<u>Conclusões</u>	91
3.1.8	<u>Considerações finais</u>	92
3.1.9	<u>Referências</u>	93
3.2	Artigo 2 – O meu paciente tem doença de Chagas crônica? Desenvolvimento de um modelo de predição clínica.	107
3.2.1	<u>Resumo</u>	107
3.2.2	<u>Introdução</u>	108
3.2.3	<u>Método</u>	108
3.2.4	<u>Resultados</u>	112
3.2.5	<u>Discussão</u>	126
3.2.6	<u>Conclusão</u>	130
3.2.7	<u>Referências</u>	131
4	CONCLUSÃO	136
	REFERÊNCIAS	137
	APÊNDICE A – Formulário correspondente à avaliação clínica do artigo 2	141
	APÊNDICE B – Formulário para registro da avaliação do ECG para o Artigo 2	144
	APÊNDICE C – Formulário para registro da avaliação radiográfica para o Artigo 2	145
	APÊNDICE D – Formulário para registro de dados utilizados no Artigo 1	146
	ANEXO – Figuras exibidas durante avaliação médica.	151

INTRODUÇÃO

Em 1909, Carlos Chagas atribuiu um quadro clínico de sinais e sintomas a uma doença febril até então desconhecida. A partir de então, com um exame direto (gota de sangue observada em uma lâmina de vidro através de um microscópio – o mesmo utilizado para o diagnóstico de malária até os dias de hoje), identificou um novo parasito.(1) Esta nova entidade sistêmica foi então nomeada por Miguel Couto como moléstia de Chagas, cujo agente infeccioso é um parasito atualmente denominado *Trypanosoma cruzi*.(2)

Já nesta época, o próprio Carlos Chagas descreveu que os métodos parasitológicos diretos não possuíam a mesma capacidade de identificação do parasito na fase aguda e na fase crônica da doença, pois acreditava ser mais difícil encontrar parasitos circulantes no sangue periférico através do exame direto após a fase aguda. Então, sugeriu a inoculação de sangue em cobaias.(1) O diagnóstico da doença de Chagas através da inoculação em cobaias baseava-se no achado de formas esquizogônicas do *T. cruzi* no pulmão do animal após um período de incubação. Era uma técnica trabalhosa e demorada, que exigia manutenção das cobaias, e seu resultado final somente era possível após o sacrifício dos animais. Em 1913, Carlos Chagas divulgou que estas formas evolutivas teriam sido equivocadamente atribuídas ao *T. cruzi*, mas na verdade eram formas evolutivas do *Pneumocystis carinii*.(3) o que fez com que o método fosse abandonado.

Na mesma época, houve uma iniciativa liderada por Oswaldo Cruz para desenvolver um teste que pudesse ser usado na fase crônica, dado que os testes vigentes não eram promissores. A partir de uma reação de fixação de complemento desenvolvida(4) e adaptada para o diagnóstico da sífilis,(5) veio a ideia de verificar se tal reação seria adequada também para doença de Chagas. A primeira descrição de pesquisa de anticorpos contra *T. cruzi* data de 1913, deve-se a Guerreiro e Machado,(6) e foi considerado o primeiro teste sorológico para a doença. Trata-se de uma reação de fixação de complemento inicialmente desenvolvida com antígenos de sangue, baço e fígado de cães infectados experimentalmente com *T. cruzi*. Logo se tornou conhecida como a reação de Guerreiro e Machado ou de Machado-Guerreiro, que foi o único teste sorológico disponível durante mais de 50 anos.

Em 1914, o xenodiagnóstico(7) passaria a ser utilizado. É um método parasitológico

que consiste no exame direto das fezes ou hemolinfa dos insetos transmissores após terem se alimentado de sangue dos sujeitos infectados ou sob suspeita da doença. Seu autor argumentou que esta técnica poderia ser utilizada como ferramenta para isolamento do parasito após a fase aguda. Deu ênfase ao aspecto operacional, pois os insetos são capazes de ingerir até 500 vezes o volume de sangue passível de ser examinado em exame a fresco, são facilmente criados e exigiam pouca manutenção, são pequenos e fáceis de serem transportados. Da mesma forma, os pacientes aceitavam melhor o repasto dos insetos do que a punção venosa, dado que o inseto lhes eram familiar e sua picada é indolor. Essa argumentação procede já que as investigações da doença de Chagas na época se davam em Lassance, lugarejo ao norte de Minas Gerais, cerca de 28 horas de trem a partir do Rio de Janeiro. Carregar insetos em uma longa viagem de trem se tornou uma alternativa mais viável do que transportar equipamentos como microscópios e vidrarias, bem menos práticos e mais frágeis.

O hemocultivo foi introduzido como método diagnóstico parasitológico da doença de Chagas na década de 1940, como uma alternativa ao xenodiagnóstico para o isolamento do parasito.(8) Passou, porém, por um período relativamente longo de descrédito por apresentar uma sensibilidade de aproximadamente 6%,(9,8) menor que a do xenodiagnóstico.

O xenodiagnóstico foi ganhando popularidade entre os pesquisadores a partir da década de 1950, pois possui uma sensibilidade de aproximadamente 50%, maior que o método direto na fase crônica(9) e era uma técnica operacionalmente mais razoável que o hemocultivo em áreas rurais ou remotas.(7,10) Porém, o xenodiagnóstico também possuía limitações como a falta de padronização das espécies e número de insetos utilizados no teste, reações alérgicas dos pacientes ao repasto do inseto, e dificuldades de realizar testes seriados, as quais dificultavam sua aceitação entre os estudiosos.

Outras metodologias para testes sorológicos foram desenvolvidas até a década de 1960, como os testes de precipitação, a aglutinação de látex e a floculação, que foram abandonados devido a limitações quanto a eficiência ou custo.

Já na década de 1960, outras metodologias promissoras para o diagnóstico sorológico da infecção surgiram, como hemaglutinação indireta (HAI), em 1962.(11) Havia duas principais motivações para o desenvolvimento deste teste: (a) a performance aquém do desejado dos testes parasitológicos na fase crônica e (b) a incapacidade da reação de Guerreiro e Machado se difundir na medida das necessidades, devido a dificuldades técnicas,

como a instabilidade dos antígenos preconizados. Ao mesmo tempo, houve experiências bem sucedidas com testes de hemaglutinação para outras doenças como hidatidose, toxoplasmose e esquistossomose. Nesta primeira avaliação, o teste apresentou sensibilidade de 94% e especificidade de 99%, quando comparado à reação de Guerreiro e Machado como teste de referência. Apesar de ser operacionalmente mais fácil que a reação de Guerreiro e Machado, a conservação dos antígenos para a hemaglutinação era mais difícil.(11)

O primeiro teste de imunofluorescência indireta (IFI) para o diagnóstico laboratorial de *T. cruzi* foi divulgado em 1966.(12) Nesta época, outros testes de imunofluorescência estavam sendo desenvolvidos para leishmaniose visceral e tegumentar, bem como para outras doenças causadas por parasitos e fungos. A motivação do desenvolvimento de imunofluorescência para doença de Chagas era o potencial de ser operacionalmente mais simples que a reação de Guerreiro e Machado. O teste de imunofluorescência apresentou resultados de sensibilidade e especificidade de 100% quando comparado com a reação de Guerreiro e Machado. No entanto, houve reações cruzadas quando analisado com amostras de outras doenças, como como foi o caso dos pacientes com leishmaniose visceral, o que fez com que a especificidade fosse estimada em 93%. O teste apresentou boa aceitação pois era possível analisar mais de um soro simultaneamente em diversas diluições, e os antígenos utilizados eram obtidos com relativa facilidade a partir de *T. cruzi* cultivado. Esse teste é utilizado até os dias de hoje e foi muito pouco modificado.

O xenodiagnóstico passou a ser utilizado de forma rotineira somente na década de 1970, quando houve sugestões para padronização do método,(13) como o uso de mais de uma espécie e a aplicação de 40 ninfas por teste. Neste período também se sabia que o xenodiagnóstico direto (repasto direto no paciente) possuía resultados semelhantes ao método indireto (repasto em frasco contendo sangue do paciente).(9)

Também na década de 1970, a técnica de hemocultivo para *T. cruzi* foi aperfeiçoada pelo incremento de coletas seriadas, pelo aumento de volume das coletas e do tempo de observação do cultivo. A utilização de mais uma técnica simultaneamente fez com que a sensibilidade da hemocultura fosse elevada até 94%.(9) Entretanto, os resultados do hemocultivo são de difícil reprodução e sofrem muita variação entre os diferentes autores e protocolos. Atualmente se aceita que sua sensibilidade seja aproximadamente 50% na fase crônica da doença de Chagas.(9,10) Como método parasitológico, sofre dos mesmos problemas que o xenodiagnóstico, pois é uma técnica laboriosa quando comparada com os

testes sorológicos e seus resultados demoram até 180 dias.

Diferentes autores estimaram a sensibilidade do xenodiagnóstico entre 9% e 87% e do hemocultivo entre 0% e 94% na fase crônica da doença de Chagas.(9) Ambas técnicas caíram em desuso para o diagnóstico de doença de Chagas crônica a medida que os testes sorológicos se popularizaram, pois possuem baixa sensibilidade quando comparado com os testes sorológicos. Por isso, o xenodiagnóstico e o hemocultivo passaram a ser utilizados principalmente em ambiente de pesquisa para isolamento do parasito.

Em 1975, a técnica de ensaio imunoenzimático (ELISA) foi utilizada pela primeira vez para doença de Chagas.(14) Em sua primeira avaliação, apresentou sensibilidade e especificidade de 99% e 98%, respectivamente. Apesar de apresentar performances semelhantes a outras técnicas recentemente desenvolvidas, seu apelo operacional era ainda maior: era mais barata e simples que os testes anteriores (IFI e HA), requeria quantidades mínimas de plasma (com 10 µl era possível realizar diversos testes do mesmo paciente), que era utilizado em apenas uma única diluição, as placas poderiam ser previamente sensibilizadas com antígenos, e, se refrigeradas adequadamente, poderiam ser transportadas e utilizadas em localidades distantes. Além disso, com espectrofotômetros (portáteis ou não), a leitura do teste passava a ser independente do operador e possibilitava a análise de centenas de testes por dia.(14)

Nas décadas de 1970 e 1980, com a tecnologia de purificação dos antígenos e de elaboração de antígenos recombinantes, muitas investigações tentaram incorporar essas inovações principalmente na técnica ELISA. Desde então, os testes ELISA e IFI vêm se consolidando como boas técnicas e são atualmente recomendadas como testes diagnósticos para a doença de Chagas crônica.(15-19) Na década de 1980, já era consenso a utilização de testes sorológicos para o diagnóstico da doença crônica e o teste de Guerreiro e Machado foi progressivamente substituído devido a sua performance aquém dos outros testes sorológicos e às suas limitações operacionais.

Já no final da década de 1980, outra fase do diagnóstico laboratorial da doença de Chagas se iniciou, com o desenvolvimento de técnicas moleculares, como a reação em cadeia da polimerase.(20) Foram técnicas rotuladas como muito promissoras devido à especificidade dos fragmentos de DNA utilizados como sonda e à especificidade das sequências alvo das sondas em relação à espécie. Desde então, diversas aplicações dos testes moleculares foram estudadas como diagnóstico de doença de Chagas nas fases aguda e crônica, e como desfecho

do tratamento tripanocida. Alguns aperfeiçoamentos vêm sendo explorados desde então, identificação de novas sequências alvo de amplificação, a utilização de diferentes oligonucleotídeos, e a utilização de técnicas diversas como hibridização, amplificações aninhadas, e em tempo-real. Porém, os testes moleculares ainda são considerados testes não convencionais(16) por apresentarem padronizações e performances que variam segundo os diferentes autores e por não serem amplamente disponíveis.

Há dois aspectos a serem considerados na semiótica do paciente com suspeita de doença de Chagas: o tempo de doença e da localização preferencial do acometimento da doença. Quanto ao tempo de infecção, também há dois períodos distintos: o da doença aguda (período até aproximadamente 60 dias após o início da infecção quando é possível observar facilmente parasitos em grande quantidade no sangue periférico) e o da doença crônica (que acontece após o período de infecção aguda).(2) Clinicamente a doença de Chagas crônica pode se apresentar como forma cardíaca (quando se manifesta com distúrbios de condução elétrica, disfunção ventricular ou eventos tromboembólicos), como forma digestiva (quando se manifesta com distúrbios anatômicos ou de motilidade do esôfago ou do intestino), como forma mista (uma combinação das duas anteriores) ou como forma indeterminada (quando se evidencia infecção pelo *T. cruzi* mas não há evidência de um acometimento determinado, ou seja, testes sorológicos para doença de Chagas reatores, ECG, radiografia de tórax, radioscopia contrastada do esôfago e clister opaco sem alterações).(2)

A forma indeterminada da doença de Chagas crônica é considerada por muitos autores a mais frequente de todas. Por ser uma forma carente de sinais e sintomas, a história de exposição do paciente é o único elemento que pode conduzir à suspeita da doença: contato ou convivência com o vetor, mãe ou irmãos com doença de Chagas, ingestão de carne de caça (animais que podem fazer parte do ciclo silvestre da doença) ou de outros alimentos contaminados, receitação de sangue ou de órgãos de sujeito potencialmente infectado.(2)

A forma cardíaca é a forma de maior morbidade e que mais frequentemente leva ao óbito. Pode se apresentar basicamente de três formas: arritmias (sintomáticas ou não sintomáticas), disfunção ventricular (assintomática, compensável ou refratária) ou através de eventos tromboembólicos como acidentes vasculares encefálicos. As combinações variadas de arritmias, intensidade da disfunção ventricular e a resposta às medidas de controle da insuficiência cardíaca foram agrupadas como no estadiamento proposto no consenso brasileiro.(15) Os acometimentos da forma cardíaca podem ser referidos pelo paciente como

palpitações, síncope, cansaço e restrição progressiva a atividades físicas.(2) Os achados de acometimento cardíaco que frequentemente conduzem à suspeita de doença de Chagas são arritmias como bloqueios átrio-ventriculares, bloqueios de ramo, batimentos ventriculares prematuros, ondas Q, modificações de segmento ST, fibrilação atrial e aumento da dispersão de QT, aumento da área cardíaca à radiografia, aumento de ventrículo esquerdo, disfunção ventricular, e aneurisma ventricular ao ecocardiograma. Apesar de tais achados serem frequentemente associados à morbidade da doença de Chagas crônica,(21) sua capacidade de predição de doença de Chagas é desconhecida.

A forma digestiva da doença de Chagas crônica pode se apresentar com acometimento esofágico ou colônico. Quando o acometimento é esofágico, quatro podem ser os achados: discinesia do esôfago, acalasia, megaesôfago, ou uma combinação dos anteriores. O principal sintoma é a disfagia, também descrito como “mal do engasgo”, mas podem ser observados odinofagia, soluços e dores torácicas atípicas próximas ou distantes do momento da refeição.(2,15) O acometimento do cólon na doença de Chagas crônica ocorre de forma semelhante ao do esôfago com modificações da motilidade ou da forma (como o megacólon). O sintoma predominante é a constipação, mas podem ser referidos tenesmo, meteorismo e aumento do volume abdominal. A obstrução intestinal, o fecaloma, o volvo e algumas deformidades anatômicas podem ser achados de doença intestinal.(2,15)

A interpretação dos sinais, para o diagnóstico, é condição inerente ao raciocínio clínico do médico.(22,23) A racionalidade da semiótica médica tradicional passa por um quadro fisiopatológico, quando as relações são traçadas a partir dos sinais inicialmente identificados, no entanto segue-se uma racionalidade probabilística intuitiva.(23) Os médicos aproximam os significados dos sinais, elaboram o que é mais provável, inferem o que pode haver de errado, testam a “verdade” (comparando um conjunto de sinais a um modelo fisiopatológico) e discriminam de forma competitiva as possibilidades elaboradas a partir do conjunto de sinais que mais se combinam para o conjunto que menos se combinam. O médico julga ter mais certeza quanto mais sinais são revelados a favor de uma determinada hipótese (um quadro fisiopatológico), e quanto mais eles se combinam ao redor desta.(23,22) A interpretação inadequada dos sinais no raciocínio clínico pode levar ao erro, bem como à interpretação inadequada de testes laboratoriais. A interpretação mais adequada dos sinais leva ao raciocínio clínico mais eficiente e a uma menor probabilidade de erro.(23,22)

Há várias fontes de erros na leitura dos sinais durante avaliação médica, como a

subjetividade, o viés pessoal e o contexto.(23) Dar significado aos sinais é um processo individual (subjetivo), dependente do conhecimento e experiência prévia (quantidade de possíveis interpretações que médico pode dar para o mesmo sinal), de tal forma que a chance favorece àqueles que estão preparados a perseguir o seu ponto de vista. Por outro lado, a experiência também pode conter o viés pessoal e dar preferencialmente o mesmo significado inicial para os mesmos sinais, fazendo que a tosse – por exemplo - seja interpretada, em primeiro lugar, como asma por alergistas, e como tuberculose por infectologistas. O contexto influencia a interpretação dos sinais, de tal forma que tudo se torna dependente. Níveis baixos de colesterol são considerados bons, mas não se o paciente estiver desnutrido; anemia macrocítica é ruim, mas não se paciente infectado por HIV fizer uso de medicamentos análogos de nucleosídeo. O médico reduz a ambiguidade dos sinais no contexto em particular, considerando os elementos sociais, os familiares, os profissionais e os empregatícios.(23,22)

A epidemiologia clínica, a medicina baseada em evidência e as análises discriminativas forneceram, nas últimas décadas, métodos quantitativos que guiam a obtenção, a análise crítica e o uso das informações médicas pertinentes ao processo de decisão.(24,23) O teorema de Bayes (“a probabilidade de doença após o teste é igual à probabilidade da doença antes do teste vezes a razão de verossimilhança do teste aplicado”) é uma abordagem numérica do processo decisório que leva em consideração o contexto através de especificação de diferentes probabilidades pré-teste, de tal forma que um mesmo teste (a mesma capacidade de incrementar a probabilidade inicial) pode levar a diferentes conclusões, ou seja, uma elevação do segmento ST ao ECG de um homem tabagista de 60 anos tem uma interpretação diferente da mesma elevação do segmento ST ao ECG de uma mulher de 24 anos que pratica natação, por estarem em diferentes contextos (diferentes probabilidades de serem portadores da mesma doença antes do teste).

É necessário conhecer as virtudes e defeitos dos sinais, bem como suas interdependências. As regras de decisão ou predição clínica são ferramentas que tornam mais explícito todo esse processo racional do médico e permitem quantificar as probabilidades nas diferentes etapas do processo, bem como ponderar as preferências relativas específicas do contexto. Se o propósito é classificar os pacientes em doentes e não doentes de forma acurada e reproduzível, o uso de regras tem produzido um impacto benéfico na atenção à saúde.(25) Os estudos sobre a predição de doença de Chagas por achados clínicos estão restritos a fase aguda da doença.(26,27) Uma possível explicação para a carência de investigações que

avaliam a performance de sinais na fase crônica da doença de Chagas é a alta prevalência da forma indeterminada, a forma mais carente de sinais.(2,28) De fato, o diagnóstico da doença de Chagas crônica se baseia quase que exclusivamente em testes sorológicos.(15)

Os dois trabalhos aqui apresentados são parte da introdução da linha de investigação em diagnóstico pelo Laboratório de Pesquisa Clínica em doença de Chagas do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) em 2006, e abordam dois aspectos diferentes do mesmo objeto: (1) avaliação das performances de testes complementares moleculares e sorológicos utilizados rotineiramente, ou promissores, já estudados na literatura para o diagnóstico da infecção crônica pelo *T. cruzi* e (2) a avaliação médica inicial do paciente suspeito ou que se torna um paciente suspeito de doença de Chagas crônica. Como parte da linha de investigação de um grupo de pesquisa clínica, a intenção final é aproximar o conhecimento gerado no campo de diagnóstico de doença de Chagas da prática clínica, com o uso de metodologias atuais.

1 OBJETIVO

Contribuir para o aperfeiçoamento do diagnóstico da doença de Chagas crônica, gerando a síntese da performance dos testes laboratoriais e com base na melhor evidência do valor diagnóstico destes testes, propor um modelo de predição clínica.

O objetivo do primeiro estudo é revisar a literatura de testes diagnósticos com a metodologia ELISA e PCR, sumarizar e comparar as suas performances.

O objetivo do segundo estudo é o desenvolvimento de um modelo de predição clínica de doença de Chagas crônica a partir de seus sinais, sintomas, história de exposição, historia familiar e achados em exames complementares.

2 QUESTÕES TEÓRICO-METODOLÓGICAS

2.1 Da revisão sistemática

Para cumprir com a proposta do primeiro estudo, foi realizada uma revisão sistemática. Destacam-se alguns aspectos metodológicos. Em 1992, estimou-se que 2 milhões de artigos médicos foram publicados e essa quantidade é crescente ao longo do tempo. Estimou-se que cerca de 15% desses artigos possuiriam valor científico duradouro. O processo de revisão da literatura será sempre de grande utilidade, dado que a capacidade de “consumo” dessa literatura é limitada. Por isso, encontrar e valorizar o conhecimento mais pertinente e relevante para um contexto específico passa a ser cada vez mais uma tarefa especializada.(29)

As revisões podem ser agrupadas em narrativas e sistemáticas. As primeiras são caracterizadas por agrupamentos de relatórios de pesquisas anteriores de forma subjetiva ou não explícita e, conseqüentemente, algumas ou muitas evidências relevantes e desconhecidas por seu autor têm um potencial maior de não serem incluídas. As revisões narrativas não utilizam a metanálise, e podem mais frequentemente conduzir a um resultado de difícil interpretação e menos conclusivo. As revisões sistemáticas têm o intuito de minimizar vieses onde os componentes são documentados em uma seção “material e métodos” e seus resultados combinam os resultados das investigações anteriores facilitando sua interpretação.(29) Os componentes primordiais devem ser especificados e explicitados antes do início do processo de revisão, a saber: a população, a comparação, a intervenção e o desfecho. No caso das revisões de testes diagnósticos, a intervenção é a definição do teste em estudo, e o desfecho é a definição do teste de referência,(30) podendo, ou não, haver comparação entre dois ou mais testes em estudo.

A uma revisão sistemática pode ou não se seguir de uma análise estatística denominada metanálise, que combina e integra os resultados de estudos independentes, considerados combináveis, com o propósito de extrair uma conclusão sobre o conjunto da pesquisa. Esta também poderia explicar diferenças entre os estudos que excedam o esperado pelo acaso.(29)

O termo “sistemática” se aplica a revisões em que os métodos são explícitos o suficiente para que os passos realizados sejam compreendidos e passíveis de reprodução. Para tal, a definição da estratégia de procura para encontrar todas as evidências relevantes é

primordial e é o que muitos consideram o que distingue uma revisão narrativa de uma revisão sistemática.(25) A fonte da literatura pode variar entre artigos de periódicos, teses, editoriais, anais de congresso e relatórios não publicados. As fontes e as formas pelas quais esses documentos podem ser encontrados podem variar entre bases eletrônicas até procura manual em bibliotecas e contato com autores e especialistas. Nesta etapa, o importante é não deixar de incluir relatórios potencialmente relevantes, por isso, as estratégias devem ser sensíveis em detrimento da precisão.(31)

Pela mesma razão, consultar o máximo possível de bases eletrônicas é recomendável. Há diversas bases eletrônicas que podem ser consultadas para esse fim como MEDLINE; EMBASE, Medion, DARE, Pascal, *Australasian Medical Index*, *Chinese Biomedical Literature Database*, LILACS, JICST-E, CINAHL, MEDICONF, IFCC, SCOPUS e ISIWeb, cujo conteúdo pode variar de acordo com os campos de interesse e região geográfica de abrangência.

O processo de avaliação dos resumos e textos completos deve ser executado de forma independente por, no mínimo, dois revisores.(30) A intenção neste momento é que a subjetividade da interpretação seja reduzida. Um dos pontos relevantes do processo é a avaliação da qualidade metodológica dos relatórios originais. Esta avaliação é pertinente quanto à crítica individual dos relatórios e à validade interna e externa.(25) Para este fim, foi desenvolvido o questionário *Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies* (QUADAS)(32,33) e uma versão simplificada do QUADAS, que poderiam ser modificados para atender às especificidades do objeto de estudo.(25) Já foram também propostas escalas e escores para a avaliação de qualidade a partir do QUADAS. No entanto, já se demonstrou que utilização de pontuação ou escalas de qualidade não atende ao propósito de sumarização e simplificação da sua interpretação, bem como perde a qualidade de comparação entre os diferentes estudos e compromete a avaliação de pontos fortes e fracos da metodologia individual e em conjunto.(34-36)

Diferente da síntese de ensaios clínicos, a síntese de testes diagnósticos é realizada através de pelo menos duas medidas (sensibilidade e especificidade) que representam a capacidade de identificar corretamente os sujeitos com e sem a condição de interesse (respectivamente). A maioria dos autores prefere sempre assumir que há heterogeneidade nas revisões de testes diagnósticos, pois a distribuição destas duas amostras entre os estudos é com muita frequência heterogênea, e a qualidade metodológica dos trabalhos incluídos é

pobre.(37)

A heterogeneidade pode ser detectada na sensibilidade, na especificidade ou em ambas. Heterogeneidade é a variação dos resultados dos trabalhos incluídos além da aceitável ao acaso.(29) Conseqüentemente, há de se considerar se os trabalhos incluídos estão representando o mesmo parâmetro desejado. Para detectar e explorar a heterogeneidade, é preciso abordar as variações de resultados, utilizando-se um dos três conceitos: (a) efeito fixo – onde, em teoria, todos os trabalhos combináveis foram incluídos e representam o mesmo parâmetro desejado, e conseqüentemente há somente uma fonte de variação atribuída ao tamanho amostral de cada estudo; (b) efeito aleatório – onde, em teoria, os estudos incluídos são uma amostra de um universo de estudos que contém os incluídos e os não incluídos (porque não foram realizados ainda ou não foram encontrados), e conseqüentemente a variação dos resultados é composta por uma variação intra e uma variação entre os estudos; (c) modelos aleatórios ou multiníveis (bivariado e *hierarchical summary receiver operating characteristics* (HSROC)) – onde, em teoria, há diferenças de base nas investigações estudadas, estas diferenças podem ser hierarquizadas e a heterogeneidade pode ser atribuída ou explicada por essa hierarquização.(29,25)

Na primeira estratégia, a heterogeneidade é explorada e a síntese é indicada quando a heterogeneidade é inexistente. Na segunda estratégia, a heterogeneidade é explorada e a síntese é indicada se há pouca ou moderada evidência de heterogeneidade. Já a última abordagem, dadas as suas propriedades e assunções iniciais, há necessidade de algum grau de heterogeneidade para que haja vantagens analíticas em relação às duas abordagens anteriores.(38) Os modelos hierarquizados ajustam os efeitos (sensibilidade e especificidade) de cada estudo para a estimativa da medida sumária. Assim, uma possível interpretação é que esta abordagem “corrige” a heterogeneidade encontrada. A “correção” desta heterogeneidade dependerá da qualidade do ajuste do modelo.

A heterogeneidade em si é considerada por muitos como um resultado tão ou mais relevante quanto a síntese, pois interpretação pode gerar conclusões.(29,25) A heterogeneidade representa sempre as diferenças do teste, da população de estudo, das localizações onde os estudos foram conduzidos, do espectro ou da prevalência da doença, porém quando nenhum desses elementos consegue explicá-la, é denominada heterogeneidade estatística.

Em revisões de testes diagnósticos há uma potencial fonte de heterogeneidade muito

particular: o chamado efeito de ponto de corte.(39,38) Os testes diagnósticos de uma revisão podem ser apresentados em um gráfico chamado de curva *summary receiver operating characteristics* (SROC), em que o eixo vertical representa a sensibilidade e o horizontal o complemento da especificidade (ou a taxa de falso positivo). Assim, o teste é tão mais acurado quanto mais a combinação se aproxima do canto superior esquerdo, onde a sensibilidade é 100% e a taxa de falso positivo é zero. Ao se observarem diversos estudos representados simultaneamente em um gráfico como este, é possível perceber que as variações dos resultados podem ser preferencialmente no eixo diagonal do canto superior esquerdo para o inferior direito, ou podem ser preferencialmente na diagonal do canto superior direito para o inferior esquerdo. No primeiro caso, há um incremento simultâneo da sensibilidade e da especificidade, o que pode ser interpretado como diferença real nas performances dos testes. No segundo caso, há uma queda da especificidade simultânea ao incremento da sensibilidade e vice-versa, o que pode ser interpretado como um intercâmbio (*trade-off*) entre a sensibilidade e a especificidade; as diferenças encontradas na performance do teste poderiam ser atribuídas a este intercâmbio. Na estratégia analítica, tal intercâmbio ocorre quando há uma correlação positiva entre a sensibilidade e a taxa de falso positivo, o que define o efeito de ponto de corte.(38,39)

Nas situações em que houver quantidades inaceitáveis de heterogeneidade inexplicada, recomenda-se a descrição dos achados da revisão. Dado que a heterogeneidade foi explorada e não encontrada, é possível realizar a síntese através do efeito fixo. Se a heterogeneidade foi revelada, pode-se contorná-la através de duas diferentes abordagens: análise de sensibilidade e meta regressão.(29) Se a homogeneidade é encontrada em subgrupos relevantes, a síntese destes subgrupos deve ser apresentada como resultado. Na presença de heterogeneidade, recomenda-se a utilização de modelos aleatórios, desde que precedida de análise descritiva. A representação dos resultados deve ser realizada através de uma SROC quando for detectada a correlação entre a sensibilidade e a taxa de falso positivo, que possivelmente representa subgrupos homogêneos.(40,25,38)

2.2 Dos modelos de predição clínica

Para cumprir o objetivo de desenvolver um modelo de predição clínica, foi executado um estudo transversal, com recrutamento prospectivo de voluntários, o que caracteriza um estudo diagnóstico fase três, no qual alguns aspectos são destacados. As regras de predição clínica são ferramentas que quantificam a contribuição de sintomas, exame físico e outros testes para a identificação de uma condição de interesse, e, assim, podem classificar os pacientes individualmente de acordo com a probabilidade encontrada. A condição de interesse pode ser diversa, passa pelos atos de diagnóstico, prognóstico ou terapia, que nem sempre podem ser bem discriminados.

Desenvolver e validar uma regra de predição clínica é uma forma particular de estudo epidemiológico observacional que requer referência em padrões metodológicos específicos. Convencionalmente, as regras de predição clínica passam por três estágios de desenvolvimento antes de sua implementação e utilização no cenário clínico: (a) desenvolvimento (ou derivação) do modelo de predição, quando um conjunto de preditores são explorados e combinados, (b) validação externa, quando o conjunto de preditores é testado em outras populações, e (c) análise de impacto, quando a aplicação da regra de predição nos diferentes cenários clínicos é medida quanto ao desfecho dos pacientes, à qualidade de vida, à mudança de comportamento dos profissionais de saúde ou à utilização de recursos.(24,41)

As regras de predição clínica quantificam a incerteza do raciocínio médico através de três passos fundamentais: (a) estimativa da probabilidade da condição de interesse que pode ser utilizada, como probabilidade pré-teste por testes posteriores ou confirmatórios; (b) nova informação clínica extraída da história e exame físico; (c) probabilidade pós-teste ou probabilidade revisada e interpretada à luz de pontos de corte para decisão.(25) Através destas regras, torna-se mais fácil compreender que cada sinal ou sintoma pode ser considerado como um teste e cada um possui uma sensibilidade, uma especificidade e um poder de predição.(42)

Como parte da racionalidade probabilística das regras de predição clínica, estas deveriam ser combinadas com limites de decisão, no qual pelo menos três amplitudes de probabilidades são consideradas: (a) uma amplitude de probabilidades muito baixas em que testes posteriores não são indicados e deve-se assumir que o paciente não é portador da condição de interesse, (b) uma amplitude de probabilidades intermediária em que testes posteriores devem ser aplicados por se considerar que modificarão substancialmente a

interpretação do estado do paciente, e (c) uma amplitude de probabilidades muito alta em que testes posteriores não modificarão substancialmente a interpretação, devendo-se classificar o paciente como portador da condição de interesse sem testes posteriores.(43,44)

As regras de predição clínica são tão mais úteis quanto é possível discriminar as ações que podem ser tomadas a partir delas de forma acurada. No caso das regras diagnósticas, os testes posteriores a serem realizados podem ser definidos pelo julgamento clínico(45) ou por sua capacidade de modificar substancialmente a interpretação da classificação do paciente.(46) No caso das regras de decisão prescritivas (também chamadas regras de decisão clínica) os pontos de decisão são relevantes, pois indicam a amplitude das probabilidades de tratar ou não tratar, de utilizar um tratamento em detrimento de outro, bem como diferenciam a regra de decisão de medidas como “tratar todos”.(47,44)

Os modelos de predição podem ser derivados de dados de estudos de testes diagnósticos ou ensaios clínicos, com os quais possuem semelhanças quanto ao delineamento. Quanto à derivação ou ao desenvolvimento do modelo de predição de uma regra diagnóstica, alguns aspectos específicos devem ser observados: (a) confiabilidade dos preditores, (b) exploração de todos os preditores importantes, (c) a proporção dos preditores dentro da amostra estudada, (d) a definição clara de todos os preditores e do desfecho, (e) o mascaramento entre a avaliação dos preditores e o desfecho, e vice-versa, (f) tamanho amostral suficiente (inclusive com quantidade de desfechos), (g) apresentação e seleção dos preditores de forma clinicamente relevante, (h) penalização ou calibração do modelo desenvolvido, (i) estimativa de performance em geral do modelo, e (i) o modelo final desenvolvido deve fazer sentido na prática clínica e ser avaliado quanto à utilidade.(25)

Posteriormente, nas etapas de validação externa considera-se: (a) a escolha dos pacientes, de forma a representar todo espectro da doença, (b) os preditores plausíveis para as populações relacionadas, (c) a avaliação mascarada de todos os pacientes, (d) a interpretação acurada e confiável dos preditores na regra proposta, (e) seguimento de todos os voluntários arrolados, (f) e tentativa de atualização/calibração para correção de superajuste.(25)

Apesar de o valor discriminatório dos sinais clínicos ser elemento chave da atenção eficiente ao paciente, há relativamente poucas pesquisas que indicam o uso ou a aplicação de regras de predição na prática clínica. Muitas podem ser as barreiras para a implementação de uma regra de predição, e podem ser relacionadas aos médicos, aos pacientes e ao sistema proposto para o uso.(25) Por parte dos médicos, as limitações podem ser devidas ao

ceticismo, à desconfiança ou ao desinteresse, à falha em utilizar a regra de forma adequada e consistente, incapacidade de integração da regra na prática diária. A dificuldade ou a incapacidade de incorporar as preferências dos pacientes também podem ser elementos limitadores. Por parte de sistemas, as barreiras se relacionam à informação de probabilidades sem recomendação de ações atreladas e ao uso de sistemas híbridos, nos quais a regra está em papel e o registro do paciente em formato eletrônico ou vice-versa.

Há evidências de que a integração de sistemas de suporte à decisão em formato eletrônico, com implementação de regras de decisão, melhoram a atenção ao paciente.(48) No entanto, esta forma de implementação exige a presença de um computador durante a avaliação médica, assim como um registro eletrônico bem desenvolvido, em que as regras de decisão se integrem ao sistema de forma amigável para o usuário. Além disso, a implementação de um sistema informatizado de suporte à decisão exige um esforço operacional considerável.

3 RESULTADO

3.1 Artigo 1 – ELISA versus PCR para o diagnóstico de doença de Chagas crônica: revisão sistemática e metanálise.

3.1.1 Resumo

A maioria das diretrizes atuais recomenda dois testes sorológicos para o diagnóstico da doença de Chagas crônica. Quando os testes são persistentemente inconclusivos, algumas diretrizes recomendam a realização de um teste molecular. O objetivo desta investigação foi rever a literatura sobre diagnóstico de doença de Chagas crônica e sumarizar a performance dos testes ELISA e PCR. Foi conduzida revisão sistemática à procura de resumos relevantes em bases remotas (MEDLINE, LILACS, EMBASE, SCOPUS, ISIWeb) e em bibliografia de textos completos. Da mesma forma, foram realizados contatos com fabricantes de testes comerciais. Foram incluídos relatórios originais que estimaram sensibilidade e especificidade, ou confiabilidade (ou permitiram sua estimação) de testes ELISA ou PCR para diagnóstico de doença de Chagas crônica. A heterogeneidade foi elevada em cada teste (ELISA e PCR) e o efeito de ponto de corte foi detectado em subgrupos. O mascaramento do teste de referência explicou parcialmente a heterogeneidade nos testes ELISA; a sensibilidade e a especificidade sumárias foram 97,7% [96,7%-98,5%] e 96,3% [94,6%-97,6%], respectivamente. Os testes ELISA com antígenos recombinantes disponíveis comercialmente em estudos fase 3 parcialmente explicaram a heterogeneidade, e apresentaram medidas sumárias de sensibilidade e especificidade de 99,3% [97,9%-99,9%] e 97,5% [88,5%-99,5%] respectivamente. Confiabilidade para o ELISA foi pouco estudada, porém considerada aceitável. A heterogeneidade da PCR não foi explicada, porém um efeito de ponto de corte foi detectado em três grupos definidos pelo uso de guanidina e pela fervura da amostra antes da extração de DNA. A sensibilidade sumária da PCR foi entre 50% e 90%, e sua especificidade sumária foi de aproximadamente 100%. A confiabilidade da PCR nunca foi estudada. Ambos testes ELISA - convencional e recombinante - fornecem informação útil, porém há testes

comerciais cujos relatórios técnicos não são acessíveis e, portanto, não foram incluídos nesta revisão. Os médicos necessitam ter acesso aos relatórios técnicos para entender se os testes utilizados são semelhantes aos estudados nesta revisão, corretamente solicitá-los e interpretar seus resultados. Atualmente, a PCR não deve ser utilizada para o diagnóstico de doença de Chagas crônica, e não há PCR comercialmente disponível para esse propósito. As limitações dos testes e sugestões para pesquisas no futuro são discutidas.

3.1.2 Introdução

A doença de Chagas é uma infecção, cuja causa necessária é um parasito chamado *Trypanosoma cruzi*. Essa doença é endêmica em países latino-americanos e estima-se que aproximadamente 15 milhões de pessoas estejam infectadas.(1) Com o controle progressivo da transmissão vetorial da doença na maioria dos países latino-americanos,(1) há muito interesse na possibilidade de transmissão da doença fora da América Latina, através de doação de sangue ou órgãos, devido ao incremento na migração de latino-americanos para outros continentes.(2) Relatos de doença de Chagas em países onde a doença não é endêmica (com casos autóctones) como França,(3) Canadá,(4-6) Suíça,(7) Dinamarca,(8) Alemanha,(9) EUA(10-12) e Espanha,(13,14) indicam que em situação clínica apropriada, a doença de Chagas deve ser considerada como diagnóstico diferencial, não somente em latino-americanos, mas também em indivíduos de outras origens.

Uma dificuldade significativa no diagnóstico da doença de Chagas é que a maioria dos pacientes não apresenta sintomas na fase aguda ou crônica.(2,15,16) Outra dificuldade no diagnóstico da doença é que, diferentemente do que ocorre na maioria das doenças infecciosas, os testes diretos ou parasitológicos para doença de Chagas (gota espessa, distensão, microematócrito, hemocultura ou xenodiagnóstico) possuem sensibilidade muito aquém do desejado na fase crônica - de 50% a 70%(17) - e, por isso, não são recomendados.(15-19) Então, o diagnóstico na fase crônica é realizado quase exclusivamente com testes sorológicos.

O rastreamento de doadores de sangue para doença de Chagas é uma grande preocupação em todos os países latino-americanos. Apesar de o comitê de especialistas da

Organização Mundial de Saúde (OMS) e algumas diretrizes recomendarem um único teste imunoenzimático (ELISA) para o rastreamento de doadores de sangue,(16,18,19) em alguns países, como o Brasil,(15) há uma regulamentação mais restrita, que recomenda dois testes simultâneos (em paralelo) de diferentes técnicas. Devido à potencial transmissão de doença de Chagas por hemoderivados, os Estados Unidos da América, a Espanha e outros países não latino-americanos também rastreiam doença de Chagas entre doadores de sangue.(20,21)

Atualmente, a recomendação da Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS)(16) e outras diretrizes(2,15,17,18) indicam o uso de dois testes sorológicos de diferentes técnicas para o diagnóstico de doença de Chagas crônica, dos quais um é o ELISA. A evidência para esta recomendação não é clara, apesar de alguns autores argumentarem sobre a falta de concordância entre o ELISA e outros testes sorológicos,(22-25) e outros sobre sua especificidade limitada.(2)

Uma limitação do ELISA convencional é a possibilidade de reação cruzada com anticorpos de pacientes que estão infectados com *Leishmania sp.* ou com *T. rangeli*.(26-28) Este é um problema de difícil solução, pois estas infecções compartilham algumas das áreas endêmicas com a doença de Chagas. Numa tentativa de ultrapassar essas limitações foram realizados esforços para o desenvolvimento de testes ELISA com antígenos recombinantes (ELISA-rec) e reação em cadeia da polimerase (PCR) para doença de Chagas.

Atualmente, a recomendação da PCR depende da situação ou da diretriz considerada. A PCR é recomendada para diagnóstico de doença de Chagas crônica (i) somente quando os testes sorológicos são persistentemente inconclusivos pelo consenso Brasileiro e Chileno;(15,17) (ii) pode ser recomendada somente como teste confirmatório após rastreamento de doadores de sangue pela diretriz de El Salvador;(16) (iii) é recomendada somente para diagnóstico de infecção aguda ou para seguimento de terapia de infecção aguda de acordo com comitê de especialistas da OMS(19) e autores de uma revisão norte-americana;(2) e (iv) de acordo com o consenso Espanhol, um paciente pode ser considerado com doença de Chagas com dois testes sorológicos reatores ou com PCR (ou outro teste parasitológico) positivo quando doença cônica está sob suspeita.(18) Portanto, o uso do teste PCR para o diagnóstico de doença de Chagas crônica é controverso.

O objetivo desta investigação foi sumarizar a sensibilidade, a especificidade e a razão de chance diagnóstica (*diagnostic odds ratio* - DOR) para o ELISA, ELISA-rec e PCR, avaliar a heterogeneidade na literatura de diagnóstico em doença de Chagas, e comparar a

acurácia em geral destes três testes.

3.1.3 Método

Esta investigação é uma revisão sistemática com metanálise.

3.1.3.1 Estratégias de Busca

Para identificar resumos ou investigações em potencial, foram utilizados três métodos bibliográficos: procura em base eletrônica remota, citações bibliográficas em textos completos e contato por correio eletrônico com fabricantes que possuíam qualquer dispositivo diagnóstico para doença de Chagas registrado na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) até outubro de 2007. Não foram realizados contato com especialistas ou procura manual.

Foram realizadas buscas remotas em cinco bases eletrônicas, em 6 de Junho de 2007: PubMed/MEDLINE, SCOPUS, LILACS, ISIWeb/Web of Science, e EMBASE. Na base PubMed/MEDLINE, utilizou-se o recurso *clinical queries* para estudos diagnósticos, maximizando a sensibilidade da procura resultando na seguinte estratégia: ("*Chagas Disease*"[MeSH] OR "*Trypanosoma cruzi*"[MeSH]) AND (ELISA OR (enzyme AND linked AND assay) OR PCR OR (polymerase AND chain AND reaction))) AND (sensitiv*[Title/Abstract] OR sensitivity and specificity[MeSH Terms] OR diagnos*[Title/Abstract] OR diagnosis[MeSH:noexp] OR diagnostic*[MeSH:noexp] OR diagnosis,differential[MeSH:noexp] OR diagnosis[Subheading:noexp] OR "Reproducibility of Results"[Mesh] OR reliability OR reproducibility). Posteriormente, essa estratégia foi adaptada para as outras quatro bases e todas foram atualizadas até 20 de abril de 2009.

Em dezembro de 2007, o sítio eletrônico da ANVISA foi consultado para verificar produtos ou dispositivos médicos relacionados à doença de Chagas (http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/Consulta_Produto_correlato/consulta_correlato.asp). Na

época, havia 52 registros e somente sete destes eram ativos. Como os relatórios técnicos destes produtos não eram disponíveis no sítio da ANVISA, enviaram-se correios eletrônicos para seus fabricantes ou representantes solicitando relatório técnico, monografia, literatura não publicada ou referência de literatura publicada relacionada aos seus produtos.

3.1.3.2 Critérios de inclusão e exclusão

Foram considerados para avaliação os estudos cujos objetivos fossem: estimar sensibilidade ou especificidade de ELISA ou PCR para doença de Chagas crônica, estimar a acurácia de um ELISA ou PCR para doença de Chagas crônica, testar um novo ELISA ou PCR para doença de Chagas crônica, estimar qualquer medida de validade de ELISA ou PCR para doença de Chagas crônica como razões de verossimilhança, acurácia, taxa de erro total, DOR, área sob a curva *receiver operating characteristics* (ROC), ou até valores preditivos e estimar a variabilidade intra teste (confiabilidade ou reprodutibilidade) do ELISA ou PCR para doença de Chagas crônica. Também foram incluídos resumos com objetivos duvidosos que parcialmente preenchessem qualquer dos critérios anteriormente citados ou que apresentassem, como resultado, qualquer medida de validade (descritas acima).

Foram excluídos os resumos que indicaram que a investigação não foi conduzida com voluntários humanos ou com amostras de seres humanos, ou os que indicaram que os testes foram estudados em um cenário de verificação de cura. Também foram excluídas investigações sobre infecção aguda ou as que incluíram neonatos exclusivamente e as que mesclavam dados de pacientes com infecção aguda e com infecção crônica.

Após a recuperação dos textos completos, os seguintes critérios foram aplicados para a avaliação de qualidade e extração de dados: (a) ser investigação original (revisões, editoriais e cartas não foram permitidas), (b) ser investigação quantitativa, (c) incluir duas amostras (uma representando sujeito com doença de Chagas e outra representando sujeitos sem doença de Chagas), (d) possuir resultados que permitissem a extração (ou cálculo) dos verdadeiros positivos, falsos negativos, falsos positivos e verdadeiros negativos. Somente textos publicados após 1980 foram incluídos. Apesar de apenas resumos escritos em inglês, espanhol ou português terem sido avaliados, não houve restrição de idioma para a inclusão de textos

completos.

Para inclusão, todas as fases de investigação foram permitidas, no entanto, somente fases 1, 2 e 3 foram encontradas nesta revisão. As investigações foram classificadas quanto à fase de acordo com a classificação proposta por Haynes.(29) De forma breve, foram classificados como (a) fase 1, os trabalhos que compararam a distribuição dos resultados de testes entre doentes e não doentes, geralmente em amostras pequenas, cujas seleções ocorreram por conveniência ou pelo conhecimento prévio da classificação de doente e não doente; (b) como fase 2, os que estimaram sensibilidade, especificidade e valores preditivos a partir de um delineamento do tipo caso-controle, podendo ocorrer simultaneamente à fase 1; (c) como fase 3, os que apresentaram um delineamento transversal, com seleção sequencial ou aleatória de voluntários em que os critérios de inclusão se basearam principalmente na suspeita da doença de Chagas crônica.

3.1.3.3 Teste de referência e teste em estudo

A condição de interesse foi a doença de Chagas crônica. Classificar a doença de Chagas quanto ao tempo de infecção (em aguda ou crônica) pode ser desafiador. Usualmente, a doença de Chagas crônica é representada por adultos com infecção de longo prazo (dez anos ou mais), mas também pode ser observada em crianças com a forma indeterminada da doença, desde que não haja história de doença febril aguda nos dois meses anteriores. Também foram consideradas portadoras da forma crônica da doença as crianças investigadas cuja infecção não fora classificada como aguda ou crônica pelo autor, caso não houvesse registro de sintomas compatíveis com doença aguda. Os estudos com crianças de um ano de idade ou menos foram considerados como investigações de infecção aguda.

Todos os testes de referência para doença de Chagas crônica propostos pelos autores foram aceitos, pois por muito tempo, não houve “padrão ouro” consensual para o diagnóstico de doença de Chagas. No entanto, dois ou mais testes sorológicos simultâneos (com duas técnicas diferentes) foram considerados apropriados para a avaliação da qualidade da revisão. Os testes em avaliação para esta revisão foram: ELISA, ELISA-rec e PCR.

De 1980 a 2009, a tecnologia ELISA fora amplamente aceita e utilizada devido à sua

automação e à facilidade de uso (a maioria dos testes ELISA são semiautomáticos); os resultados são pouco dependentes do operador e há relativa rapidez na disponibilização dos resultados. O conceito deste teste é detectar anticorpos do paciente contra antígenos do *T. cruzi*, por uma reação em que a presença de uma enzima resulta em diferentes faixas de cor se o soro do paciente apresentar o anticorpo anti-*T. cruzi*. Seu resultado é registrado em densidades óticas.

A variação mais interessante é o ELISA-rec, que não utiliza antígenos a partir de lisados do parasito; seus antígenos (peptídeos) são construídos com tecnologia recombinante, com um ou (usualmente) mais peptídeos particulares do *T. cruzi*. Todas as variações de ELISA foram incluídas e discriminadas.

A técnica de PCR para doença de Chagas é considerada um método parasitológico. O teste baseia-se na amplificação de sequências alvos do DNA (ácido desoxirribonucleico) do *T. cruzi*. Esse teste é baseado na detecção do DNA do *T. cruzi* na corrente sanguínea do paciente.

Entre as variações da PCR (método qualitativo) utilizada para a detecção do DNA de *T. cruzi* em amostras de sangue de pacientes estão a *Hot-Start* PCR (uma modificação da PCR convencional que deve reduzir amplificações não específicas durante passos iniciais da amplificação), a *Nested* PCR (amplificação em dois passos, frequentemente utilizada para amplificação de DNA com pequena quantidade de alvos), e a *Southern Blot* ou a “PCR e hibridização” (utilizado para verificar a presença de sequência específica de nucleotídeos no DNA de amostras de pacientes com uma sonda de hibridização marcada).

Em algumas análises é importante detectar a quantidade de patógeno, o que, por sua vez, indicaria a gravidade da infecção ou monitoraria o desfecho da terapia nos pacientes infectados. A PCR em tempo-real é baseado na tecnologia da reação em cadeia da polimerase que, simultaneamente, amplifica e quantifica a molécula alvo de DNA.

Há oligonucleotídios para duas principais regiões alvo para amplificação do DNA do *T. cruzi*: o DNA nuclear satélite (ns-DNA) e o DNA do kinetoplasto (K-DNA). A primeira é uma família de sequências de DNA nuclear altamente repetitivo chamada E13, que é distribuída na maioria dos cromossomas do parasito.(30) A segunda é parte do DNA encontrado nas mitocôndrias dos seres do gênero *Trypanosoma sp.*(31) Todas essas variações foram incluídas e discriminadas.

3.1.3.4 Processo de revisão

Para esta investigação foram elaborados e testados questionários. Os resumos e os textos completos foram avaliados por quatro revisores mascarados. Um revisor leu e classificou todos os resumos e textos completos, e cada um dos outros três classificou e revisou aproximadamente um terço dos resumos e textos completos. As discordâncias entre os revisores foram resolvidas em reuniões de consenso, e, quando a discordância fosse persistente, a tendência era para inclusão. De modo similar, os textos completos foram avaliados de forma mascarada por dois revisores e as discordâncias foram resolvidas em reuniões de consenso.

3.1.3.5 Avaliação da qualidade da metodologia

A qualidade metodológica de cada investigação também foi avaliada de forma mascarada pelo questionário *Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies* (QUADAS).(32,33) Reuniões de consenso resolveram discordâncias entre os revisores, quanto a esse aspecto.

QUADAS é um questionário que permite aos leitores avaliar pontos-chaves sobre a qualidade do delineamento, a condução e o relatório de pesquisas com testes diagnósticos, o que, por sua vez auxilia a interpretação dos resultados. A interpretação é qualitativa, o que possibilita a comparação da qualidade apenas através dos itens individuais do questionário. A graduação ou a pontuação geral não ajudam a interpretação da qualidade, portanto não são recomendadas.(34-36)

3.1.3.6 Plano de análise de dados

O plano de análise foi baseado nos seguintes passos (figura 1): (a) descrição

qualitativa dos resultados, (b) exploração de heterogeneidade e efeito do ponto de corte, (c) exploração de possíveis explicações para heterogeneidade, por análise de sensibilidade e (d) estimativas de medidas sumárias. Foi utilizado o programa Teleform® para entrada de dados, e todas as análises foram conduzidas com o programa R(37), com os pacotes meta(38) e DiagMeta.(39)

A heterogeneidade deve ser entendida como uma variação das medidas de efeito (sensibilidade, especificidade, ou DOR) entre os estudos incluídos maior do que é compatível somente por chance. A heterogeneidade estatística deveria representar fontes de heterogeneidade, como diferentes características dos voluntários, diferentes características dos testes e diferentes características das investigações. Foi decidido, a priori, que a investigação das fontes de heterogeneidade seria conduzida por análise de sensibilidade – modificando os critérios de inclusão e exclusão para formação de subgrupos para análise – incluindo e excluindo uma por uma das informações disponíveis (tabelas 1, 2 e 3 e outras variáveis), como diferentes antígenos, diferentes métodos para estimar o ponto de corte, diferentes regiões alvo de DNA, amplitude de idade dos voluntários, sexo, localidade; mascaramento do teste índice e do teste de referência, avaliação do estudo por comitê de ética. Foram considerados de maior interesse, como fonte de heterogeneidade, a fase de estudo e a disponibilidade comercial do teste.

A heterogeneidade foi explorada através da estatística I^2 .(40) Medidas de I^2 até 25% foram consideradas com pouca evidência de heterogeneidade, entre 25% e 50% com evidência moderada de heterogeneidade, e acima de 50% como evidência de muita heterogeneidade. I^2 foram estimados para sensibilidade, especificidade e DOR.

O efeito de ponto de corte foi investigado como fonte de heterogeneidade e também para verificar se a representação por ROC sumária era apropriada. O efeito de ponto de corte foi definido como uma correlação positiva entre a taxa de verdadeiro positivo e taxa de falso positivo (ou correlação negativa entre sensibilidade e especificidade). Foi explorado por um modelo HSROC ajustado pelos métodos de máxima verossimilhança (ML) e Cadeias de Markov via simulação de Monte Carlo (MCMC). Se houvesse heterogeneidade moderada ou elevada, a correlação era explorada, e, se positiva, uma HSROC era estimada pelo componente positivo principal das estimativas de MCMC.(39) Se negativa ou zero, estimativas sumárias eram realizadas pelo modelo aleatório bivariado sem HSROC.(39)

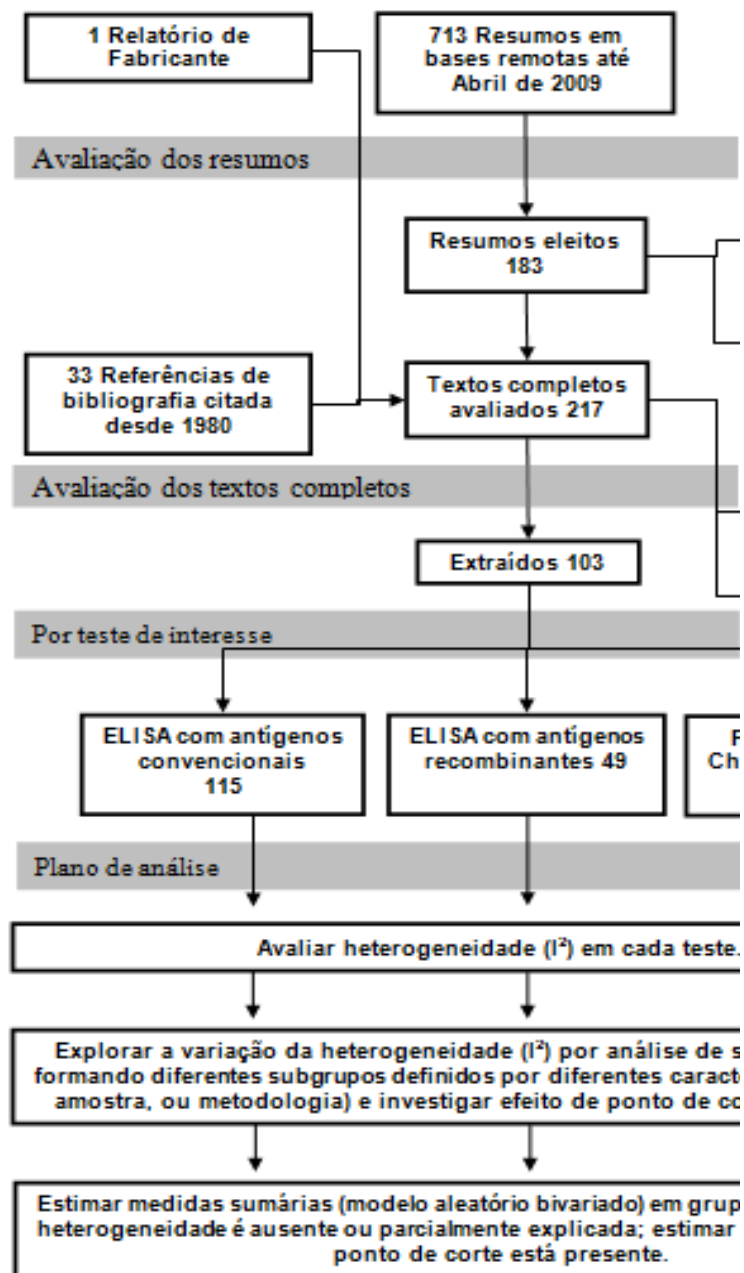


Figura 1: Fluxograma de avaliação e eleição de resumos e textos

As estimativas de medidas sumárias – sensibilidade (ou taxa de verdadeiro positivo) e 1-especificidade (ou taxa de falso positivo) – foram realizadas com o modelo aleatório bivariado, com ML através do método de Laplace e MCMC.(39) DOR sumária foi estimada como a razão da razão de verossimilhança positiva sobre a razão de verossimilhança negativa com o efeito aleatório de Der Simonian & Laird, utilizando a técnica do inverso da variância para ponderação pelo tamanho amostral.

3.1.4 Resultados

3.1.4.1 Resultados das estratégias de busca

De todas as cinco bases remotas foram capturados 1349 resumos, e, após a remoção das referências repetidas, 713 permaneceram e foram avaliadas. (figura 1) Após a avaliação dos resumos, somente 183 investigações foram eleitas para captura de textos completos.

Baseado na estratégia de contatos por telefone ou por correio eletrônico com distribuidores ou fabricantes, 15 de 57 registros da ANVISA não foram utilizados porque evidentemente não eram produtos relacionados a ELISA, ou porque não foi possível encontrar meio de contato no sitio da ANVISA ou na rede mundial de computadores. Por essa estratégia, apenas quatro contatos reponderam às solicitações.

A Abbott-Brasil enviou a bula do teste “Chagas Test ELISA III”, que não foi considerada como relatório do qual pudesse ser extraída alguma informação, apesar de possuir dados de sensibilidade e especificidade. O Laboratório Lemos (Argentina) enviou uma referência publicada em 1998 com dados do Polychaco/Biozima-Chagas, que foi posteriormente encontrado também na estratégia das bases remotas. O Laboratório Ebram enviou correio eletrônico informando que não possuíam relatório técnico na época, e que o único processo de validação fora executado pela Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGLAB) – Nota técnica N° 03/06 (http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nota_kit_chagas.pdf). No entanto, esta nota não foi considerada para avaliação, pois não era possível extrair dados nem avaliar a qualidade da investigação.

O laboratório Organics enviou um relatório não publicado sobre o teste “ImmunoComb II Chagas Ab kit”. Apesar de descrito como um ELISA convencional, este teste é formatado como um teste rápido. O relatório descreve uma avaliação multicêntrica; no entanto, cada centro foi considerado uma investigação diferente, dadas as diferenças de protocolo em cada centro. Este relatório foi o único incluído a partir da estratégia de contato

com fabricantes.

Um ponto relevante que surgiu a partir desta estratégia é que registros de cinco dos doze testes comerciais testados pela CGLAB em 2006 não foram encontrados no sítio da ANVISA em 2007, nem seus relatórios técnicos foram encontrados por outras estratégias de busca.

Trinta e três referências que não foram capturadas a partir da procura em bases remotas foram identificadas a partir da bibliografia de duas revisões narrativas(41,42) ou a partir de outras investigações originais. Ao final, havia 217 textos completos para avaliação. (figura 1)

Após aplicar critérios de inclusão e exclusão, 114 textos foram excluídos; 4 por conta de dados duplicados em diferentes textos do mesmo autor; permaneceram 103 textos completos para extração de dados. Muitos possuíam dados de dois ou mais testes estudados simultaneamente, por isso foram extraídos dados de 115 ELISA convencionais (tabela 1),(22,25,43-105) 49 ELISA-rec (tabela 2),(22,23,43-52,106-116) e 21 PCR (tabela 3),(26,117-130) assim somando dados de 185 testes.

3.1.4.2 Qualidade metodológica das investigações incluídas

Observou-se que apenas 8 (4,3%) investigações possuíam critérios claros de inclusão e exclusão. Sessenta e três investigações (33,9%) utilizaram um teste de referência que provavelmente classifica corretamente a doença de Chagas. Em 93 investigações (50,0%) ficou claro que toda a amostra recebeu a verificação pelo teste de referência. Em 106 investigações, ficou claro que os pacientes receberam o teste de referência independentemente do teste em estudo. Em 132 (71,0%) investigações, ficou claro que o teste de referência fora independente do teste em estudo. Em 124 (66,7%) e 33 (17,7%) investigações o teste em estudo e o teste de referência foram, respectivamente, claramente descritos. Em 22 (11,8%) investigações, o mascaramento do teste índice ou do teste de referência foi citado, mas somente em 18 (9,7%) ambos foram citados. Em 20 (10,8%) investigações, foram omitidos resultados inconclusivos dos testes em estudo e em 19 (10,2%) não foram explicadas as razões da retirada dos voluntários. (figura 2)

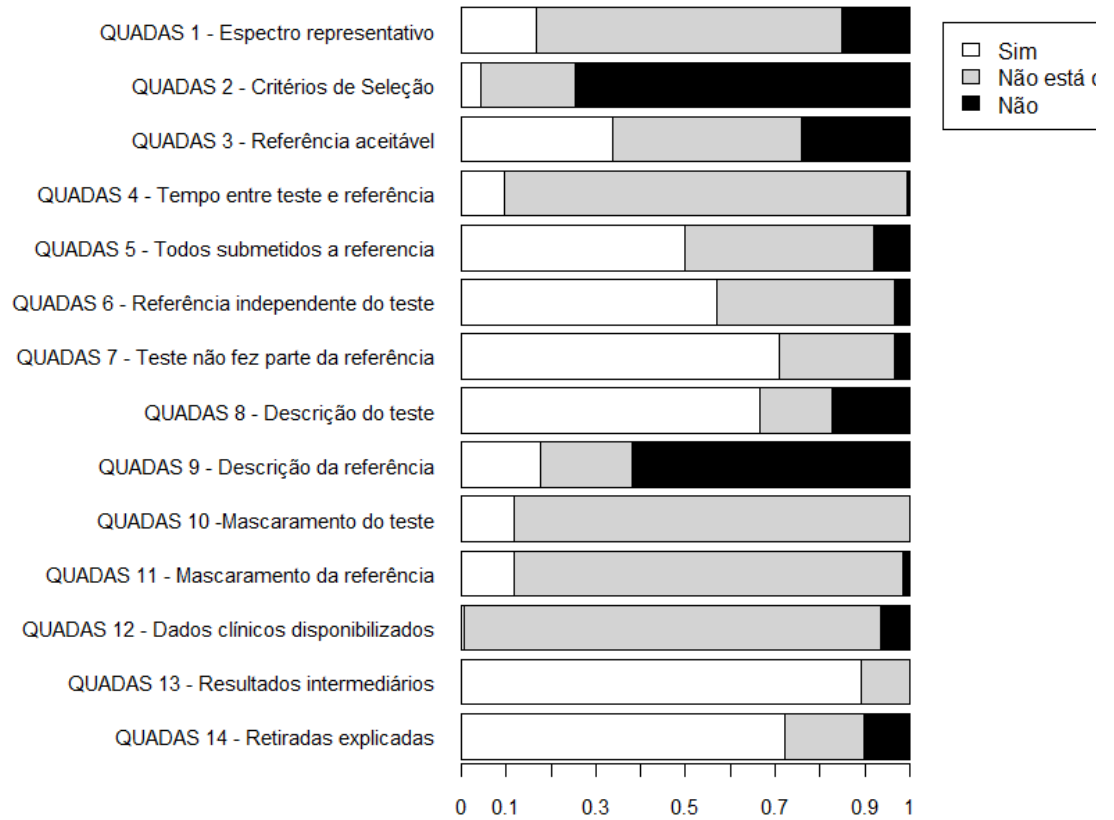


Figura 2: Proporção das respostas aos itens do questionário QUADAS dos 185 testes estudados.

Tabela 1: Características do estudo, população de estudo, dos testes ELISA investigados e suas medidas de validade.

Autor	Ano	Modalidade	Fabricante	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Média de idade	Amplitude de idade	Homem (%)
Spencer HC	1980	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 1	Não	EUA	IFI/CF ou Xenodiagnóstico	IFI/CF	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Fuchs AP	1980	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 2	Não	Brasil	Não informado	Não informado	1979 até 1979	NA	NA até NA	NA
Kahn T	1983	<i>In-house</i>		ELISA CIC	Fase 2	Não	Argentina	IFI/IHA/HA	IFI/IHA/HA	NA até NA	NA	NA até 50	NA
Kahn T	1983	<i>In-house</i>		ELISA CAG	Fase 2	Não	Argentina	IFI/IHA/HA	IFI/IHA/HA	NA até NA	NA	NA até 50	NA
Kahn T	1983	<i>In-house</i>		ELISA IgG	Fase 2	Não	Argentina	IFI/IHA/HA	IFI/IHA/HA	NA até NA	50	NA até NA	NA
Magnaval JF	1985	<i>In-house</i>		ELISA extrato total	Fase 1	Não	Brasil	Não informado	IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Magnaval JF	1985	<i>In-house</i>		ELISA extrato purificado	Fase 1	Não	Brasil	Não informado	IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Schechter M	1985	<i>In-house</i>		ELISA GPGO	Fase 1	Não	Brasil	IFI/IHA/DA/CF	Não informado	NA até NA	NA	2 até 74	57
Gonzalez J	1986	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 1	Não	Chile	IFI/HA	IFI/HA	1982 até 1983	NA	NA até NA	NA
Hubsch RM	1988	<i>In-house</i>		DOT-ELISA citoplasma	Fase 2	Não	Venezuela	IFI/HA/CF	HA/IHA/CF	NA até NA	NA	15 até 82	NA
Hubsch RM	1988	<i>In-house</i>		DOT-ELISA extrato bruto	Fase 2	Não	Venezuela	IFI/HA/CF	HA/IHA/CF	NA até NA	NA	15 até 82	NA

Autor	Ano	Modalidade	Fabricante	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Média de idade	Amplitude de idade	Home m (%)
Carbonetto CM	1989	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 1	Não	Argentina	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Monteon VM	1989	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 2	Não	México	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Zicker F	1990	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 3	Não	Brasil	3/3+ ELISA/IFI/ HA	2/3- ELISA/IFI/ HA	1988 até 1988	NA	NA até NA	NA
Requejo HI	1991	<i>In-house</i>		DIG-ELISA	Fase 2	Não	Brasil	IFI/CF/PHA	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Silva JF	1991	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 2	Não	Brasil	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Silva JF	1991	<i>In-house</i>		ELISA-competitivo	Fase 2	Não	Brasil	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Contreras MC	1992	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 1	Não	Chile	HA	HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Contreras MC	1992	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 1	Não	Chile	HA	HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Schattschneider ER	1992	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 2	Não	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	44	NA até NA	62
Andrade ALSS	1992	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 3	Não	Brasil	IFI/HA	IFI/HA	1988 até 1989	27	NA até NA	87
Petray P	1992	<i>In-house</i>		ELISA-CAG	Fase 3	Não	Argentina	2/3+ IFI/HA/DA	2/3- IFI/HA/DA	NA até NA	NA	1 até 84	53
Petray P	1992	<i>In-house</i>		ELISA-CIC	Fase 3	Não	Argentina	2/3+ IFI/HA/DA	2/3- IFI/HA/DA	NA até NA	NA	1 até 84	53

Autor	Ano	Modalidade	Fabricante	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Média de idade	Amplitude de idade	Home m (%)
Echevarria AAR	1993	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 2	Não	México	DOT-ELISA/WB	DOT-ELISA/WB	NA até NA	NA	18 até 50	86
Knecher LM	1994	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 2	Não está claro	Argentina Brasil	IFI/IHA/DA	IFI/IHA/DA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Lissaldo AM	1994	<i>In-house</i>		DOT-ELISA	Fase 2	Não	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Winkler MA	1995	<i>In-house</i>		EIA GP 50/60/90 LPPG	Fase 1	Não	EUA	IFI/HA ou xenodiagnóstico	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Coelho GLLM	1995	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 2	Não	Brasil	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Solana ME	1995	<i>In-house</i>		RNP ELISA	Fase 2	Não está claro	Argentina Brasil	ELISA/IFI/HA	ELISA/HA/IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Tambourgi DV	1995	<i>In-house</i>		T-DAF ELISA	Fase 2	Não	Brasil	IFI/HA	IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Corral RS	1996	<i>In-house</i>		ELISA antígeno urinário	Fase 1	Não	Brasil	ELISA/IFI/HA	ELISA/HA/IFI	NA até NA	NA	NA até 55	NA
Avila JL	1996	<i>In-house</i>		CHOL-SULFATE ELISA	Fase 1	Não	Venezuela	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Monteon VM	1997	<i>In-house</i>		ELISA <i>C. luciliae</i>	Fase 2	Não	Brasil México	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Aznar C	1997	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 2	Não	Argentina Bolívia	IFI/HA	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA

Autor	Ano	Modalidade	Fabricante	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Média de idade	Amplitude de idade	Home m (%)
Castilla MM	1988	<i>In-house</i>		DIG-ELISA	Fase 1	Não	México	HA	HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Krautz GM	1998	<i>In-house</i>		ELISA-EPI	Fase 1	Não	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Amador EA	1998	<i>In-house</i>		ELISA GP 57/SI	Fase 1	Não	Chile	IFI/IHA/CM L	IFI/IHA/CM L	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Partel CD	1998	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 2	Não	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Betonico GN	1999	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 1	Não	Brasil	2/3+ ELISA/IFI/HA	2/3- ELISA/IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Pinho RT	1999	<i>In-house</i>		Saliva ELISA	Fase 2	Não	Brasil	ELISA/IFI/HA	ELISA/IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Umezawa ES	1999	<i>In-house</i>		EPIELISA	Fase 2	Não está claro	Não Informado	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Lopez MC	1999	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 3	Não	Colômbia	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Pereira VRA	2000	<i>In-house</i>		ELISA Tc46	Fase 2	Não	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Pereira VRA	2000	<i>In-house</i>		ELISA Tc58	Fase 2	Não	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Palacios X	2000	<i>In-house</i>		ELISA INDIRECT	Fase 3	Sim	Nicarágua	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Nakazawa M	2001	<i>In-house</i>		TESA-ELISA	Fase 2	Não	Brasil	ELISA/IFI/HA	ELISA/HA/IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA

Autor	Ano	Modalidade	Fabricante	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Média de idade	Amplitude de idade	Home m (%)
Umezawa ES	2001	<i>In-house</i>		TESA-ELISA	Fase 2	Não	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Umezawa ES	2001	<i>In-house</i>		EAE-ELISA	Fase 2	Não	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Sanchez B	2001	<i>In-house</i>		MICRO-ELISA	Fase 2	Não	México	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Cannova DC	2002	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 2	Não	Venezuela	IFI/HA/CFR	IFI/HA/CFR	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Marcipar IS	2003	<i>In-house</i>		ELISA LLGP-67	Fase 1	Não	Argentina	2/2+ ELISA/HA	2/2- ELISA/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Umezawa ES	2003	<i>In-house</i>		EPI-ELISA	Fase 2	Não está claro	Brasil	TESA-BLOT	TESA-BLOT	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Umezawa ES	2003	<i>In-house</i>		ELISA-EAE	Fase 2	Não está claro	Brasil	TESA-BLOT	TESA-BLOT	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Enciso C	2004	<i>In-house</i>		ELISA	Fase 1	Não	Colômbia	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Umezawa ES	2004	<i>In-house</i>		EAE-ELISA	Fase 2	Não está claro	Diversos	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Berrizbietia M	2004	<i>In-house</i>		ELISA epimastigota	Fase 2	Não	Venezuela	ELISA/IFI/HA	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Berrizbietia M	2004	<i>In-house</i>		ELISA amastigota	Fase 2	Não	Venezuela	ELISA/IFI/HA	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA

Autor	Ano	Modalidade	Fabricante	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Média de idade	Amplitude de idade	Home m (%)
Berrizbietia M	2004	<i>In-house</i>		ELISA trypomastigota	Fase 2	Não	Venezuela	ELISA/IFI/HA	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Pirard M	2005	<i>In-house</i>		ELISA com antígeno crú	Fase 3	Não	Bolívia	LATENT CLASS ANALYSIS	LATENT CLASS ANALYSIS	1998 até 1999	31	NA até NA	66
Berrizbeitia M	2006	<i>In-house</i>		ELISA TESA TULAHUEN	Fase 2	Não	Venezuela	2/3+ ELISA/IFI/HA	3/3- ELISA/IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Berrizbeitia M	2006	<i>In-house</i>		ELISA TESA Brasil	Fase 2	Não	Venezuela	2/3+ ELISA/IFI/HA	3/3- ELISA/IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Caballero ZC	2007	<i>In-house</i>		ELISA IMT	Fase 2	Sim	Brasil Panamá	TESA-BLOT	TESA-BLOT	NA até NA	NA	18 até 60	60
Almeida IC	1997	<i>In-house</i>		CL-ELISA A&T	Fase 1	Não	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Almeida IC	1997	<i>In-house</i>		CL-ELISA EpEx	Fase 1	Não	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Lorca M	1992	Comercial	ABBOTT	Chagas ELISA	Fase 2	Não	Argentina	IFI/IPR	IFI/IPR	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Pan AA	1992	Comercial	ABBOTT	EIA	Fase 2	Sim	Argentina Brasil	HA	HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Carvalho MR	1993	Comercial	ABBOTT	ELISA	Fase 2	Não está claro	Brasil	IFI/HA ou xenodiagnóstico	IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Hamerschlak N	1997	Comercial	ABBOTT	Chagas ELISA	Fase 2	Não	Brasil	IFI/RPHA	IFI/RPHA	NA até NA	NA	NA até NA	NA

Autor	Ano	Modalidade	Fabricante	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Média de idade	Amplitude de idade	Home m (%)
Oeleman WMR	1998	Comercial	ABBOTT	Chagas ELISA	Fase 2	Não	Brasil	ELISA/IFI	ELISA/IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Leiby DA	2000	Comercial	ABBOTT	ELISA	Fase 2	Não	Brasil	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Kirchhoff LV	2006	Comercial	ABBOTT	CHAGAS EIA	Fase 3	Sim	México	RIPA	RIPA	1998 até 2001	NA	NA até NA	76
Hamerschlak N	1997	Comercial	BIOLAB-MERIEUX	ELISA	Fase 2	Não	Brasil	IFI/RPHA	IFI+RPHA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Oeleman WMR	1998	Comercial	BIOLAB-MERIEUX	BIOELISACRUZI	Fase 2	Não	Brasil	ELISA+IFI	ELISA/IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Ferreira AW	2001	Comercial	BIOLAB-MERIEUX	BIOELISACRUZI	Fase 2	Não	Brasil	ELISA/IFI/HA	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Carvalho MR	1993	Comercial	BIOLAB DIAGNOSTICA	ELISA	Fase 2	Não está claro	Brasil	IFI/HA ou xenodiagnóstico	IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Gadelha AAM	2003	Comercial	BIOMANG UINHOS	CHAGAS IgG ELISA	Fase 2	Não	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	21 até 82	NA
Caballero ZC	2007	Comercial	BIOMERIEUX BRASIL	ELISA cruzi	Fase 2	Sim	Brasil Panamá	TESA-BLOT	TESA-BLOT	NA até NA	NA	18 até 60	60
Caballero ZC	2007	Comercial	BIOMERIEUX BRASIL	CHAGATEK	Fase 2	Sim	Brasil Panamá	TESA-BLOT	TESA-BLOT	NA até NA	NA	18 até 60	60
Caballero ZC	2007	Comercial	BIOSCHILE	CHAGAS III	Fase 2	Sim	Brasil Panamá	TESA-BLOT	TESA-BLOT	NA até NA	NA	18 até 60	60
Malan AK	2006	Comercial	BIOTECH TRADING PART	IVD RESEARCH CHAGAS ELISA	Fase 2	Não	Brasil EUA	Não informado	Não informado	NA até NA	49	21 até 71	47

Autor	Ano	Modalidade	Fabricante	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Média de idade	Amplitude de idade	Home m (%)
Teixeira MGM	1994	Comercial	BIOTICA	BIOZIMA-CHAGAS	Fase 2	Não	Brasil	IFI/HA	IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Teixeira Mgm	1994	Comercial	BIOTICA	IM-UFRJ	Fase 2	Não	Brasil	IFI/HA	IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Moretti E	2004	Comercial	BIOZYMA	ELISA	Fase 2	Não	Argentina	ELISA	ELISA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Duarte AMV	2006	Comercial	DCP-MEDLAB	IMMULITE CHAGAS IgG	Fase 2	Não	Brasil	2/3+ ELISA/IFI/HA	3/3- ELISA/IFI/HA	2000 até 2002	NA	10 até 80	NA
Teixeira MGM	1994	Comercial	EMBRABIO	HEMOBIO-CHAGAS	Fase 2	Não	Brasil	IFI/HA	IFI/HA	NA até NA	NA	16 até 78	NA
Leiby DA	2000	Comercial	EMBRABIO	ELISA	Fase 2	Não	Brasil	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Malan AK	2006	Comercial	FDA-CLEARED	HEMAGEN CHAGAS	Fase 2	Não	Brasil EUA	Não informado	Não informado	NA até NA	49	21 até 71	47
Moretti E	2004	Comercial	GEN CELL	ELISA	Fase 2	Não	Argentina	ELISA	ELISA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Arrieta R	2004	Comercial	GEN CELL	CRUZI-TEST ELISA	Fase 3	Sim	Argentina	ELISA/IFI/HA	ELISA/IFI/HA	2000 até 2001	NA	1 até 14	NA
Hamerschlak N	1997	Comercial	GULL	ELISA	Fase 2	Não	Brasil	IFI/RPHA	IFI/RPHA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Houghton RL	1999	Comercial	GULL	ELISA	Fase 1	Não	Brasil Equador EUA	RIPA	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Leiby DA	2000	Comercial	GULL	ELISA	Fase 2	Não	Brasil	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA

Autor	Ano	Modalidade	Fabricante	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Média de idade	Amplitude de idade	Home m (%)
Pirard M	2005	Comercial	GULL	ELISA	Fase 3	Não	Bolívia	LATENT CLASS ANALYSIS	LATENT CLASS ANALYSIS	1998 até 1999	31	NA até NA	66
Lorca M	1992	Comercial	Instituto de investigación de salud publica de Paraguay	CHAGAS TEST ELISA	Fase 2	Não	Argentina	IFI/IPR	IFI/IPR	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Kirchhoff LV	2006	Comercial	MERIDIAN	CHAGAS IgG ELISA	Fase 3	Sim	México	RIPA	RIPA	1998 até 2001	NA	NA até NA	76
Leiby DA	2000	Comercial	ORGANON	ELISA	Fase 2	Não	Brasil	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Enciso C	2004	Comercial	ORGANON	CHAGATEK	Fase 1	Não	Colômbia	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Rivetz B	2007	Comercial	ORGENICS	IMMUNOC OMB II CHAGAS Ab	Fase 2	Sim	Argentina	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Rivetz B	2007	Comercial	ORGENICS	IMMUNOC OMB II CHAGAS Ab	Fase 2	Sim	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Rivetz B	2007	Comercial	ORGENICS	IMMUNOC OMB II CHAGAS Ab	Fase 2	Sim	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Rivetz B	2007	Comercial	ORGENICS	IMMUNOC OMB II CHAGAS Ab	Fase 2	Sim	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA

Autor	Ano	Modalidade	Fabricante	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Média de idade	Amplitude de idade	Home m (%)
Rivetz B	2007	Comercial	ORGENICS	IMMUNOCOMB II CHAGAS Ab	Fase 2	Sim	Chile	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Rivetz B	2007	Comercial	ORGENICS	IMMUNOCOMB II CHAGAS Ab	Fase 2	Sim	Colômbia	ELISA/IFI	ELISA/IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Rivetz B	2007	Comercial	ORGENICS	IMMUNOCOMB II CHAGAS Ab	Fase 2	Sim	Colômbia	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Rivetz B	2007	Comercial	ORGENICS	IMMUNOCOMB II CHAGAS Ab	Fase 2	Sim	México	ELISA/IFI/HA	ELISA/IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Rivetz B	2007	Comercial	ORGENICS	IMMUNOCOMB II CHAGAS Ab	Fase 3	Sim	Honduras	Diferentes sorologias	Diferentes sorologias	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Carvalho MR	1993	Comercial	ORTHO	ELISA	Fase 2	Não está claro	Brasil	IFI/HA ou xenodiagnóstico	IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Tobler LH	2007	Comercial	ORTHO	T. cruzi ELISA	Fase 1	Não	EUA	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Gorlin J	2008	Comercial	ORTHO	T. cruzi ELISA	Fase 2	Sim	EUA	2/4+ ELISA/IFI/HA/CF ou parasitológico	RIPA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Malan AK	2006	Comercial	PANBIO	Cellabs T.cruzi IgG ELISA	Fase 2	Não	Brasil EUA	Não informado	Não informado	NA até NA	49	21 até 71	47

Autor	Ano	Modalidade	Fabricante	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Média de idade	Amplitude de idade	Home m (%)
Oeleman WMR	1998	Comercial	POLYCHAC O	Biozima-CHAGAS	Fase 2	Não	Brasil	ELISA+IFI	ELISA/IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Lorca M	1992	Comercial	Produtos Profesionales de Argentina	ORTHO CHAGAS ELISA	Fase 2	Não	Argentina	IFI/IPR	IFI/IPR	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Lorca M	1992	Comercial	SERO IMMUNEDI AGNOSTIC USA	ELISA CHAGAS-BIO CHILE	Fase 2	Não	Argentina	IFI/IPR	IFI/IPR	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Lorca M	1992	Comercial	SLC UT USA	ELISA GULL-BIOS CHILE	Fase 2	Não	Argentina	IFI/IPR	IFI/IPR	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Moretti E	2004	Comercial	WIENER	ELISA	Fase 2	Não	Argentina	ELISA	ELISA	NA até NA	NA	NA até NA	NA

Continuação da tabela 1.

Autor	Ano	Banco de Sangue	Amostra	Teste rápido	Método CO	Zona cinza	Cut-off	T.cruzi	Purificação	Cepa	Tamanho amostral	Prevalência	Sensibilidade	Especificidade	Confiança
Spencer HC	1980	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0,300 DO	Não informado	Antígeno crú	corpus christi	369	24,93	98,91	94,58	NA
Fuchs AP	1980	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	684	60,23	98,54	97,43	NA
Kahn T	1983	Não	Soro	Não	-Média + 2x SE	Não informado	0,145 DO	Epimastigota	Antígeno crú	Tulahuen/RA	45	44,44	65,00	100,00	NA

Autor	Ano	Banco de Sangue	Amostra	Teste rápido	Método CO	Zona cinza	Cut-off	T.cruzi	Purificação	Cepa	Tamanho amostral	Prevalência	Sensibilidade	Especificidade	Confiança
Kahn T	1983	Não	Soro	Não	-Média + 2x SE	Não informado	0,180 DO	Epimastigota	Antígeno crú	Tulahuen/RA	45	44,44	55,00	100,00	NA
Kahn T	1983	Não	Soro	Não	-Média + 2x SE	Não informado	0,200 DO	Não informado	Não informado	Não informado	45	44,44	100,00	100,00	NA
Magnaival JF	1985	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0,300 DO	Epimastigota	Antígeno crú	Não informado	1069	17,21	18,48	96,91	NA
Magnaival JF	1985	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0,300 DO	Epimastigota	Antígeno purificado	Não informado	1069	17,49	28,34	90,93	NA
Schechter M	1985	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0,100 DO	Não informado	Antígeno purificado	x10 clone 1	155	84,52	100,00	91,67	NA
Gonzalez J	1986	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0,700 DO	Não informado	Não informado	Não informado	111	65,77	97,26	100,00	NA
Hubsch RM	1988	Não	Soro	Não	Média - LOG + 2SD	Não informado	1/512 Diluição	Epimastigota	Antígeno purificado	Petra Mendoza	390	36,92	100,00	93,50	NA
Hubsch RM	1988	Não	Soro	Não	Média - LOG + 2SD	Não informado	1/128 Diluição	Epimastigota	Antígeno crú	Petra Mendoza	390	36,92	100,00	95,53	NA
Carbonetto CH	1989	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	0,200 DO	Epimastigota	Antígeno crú	Tulahuen	78	64,10	100,00	100,00	NA
Monteon VM	1989	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	0,600 DO	Epimastigota	Antígeno crú	Cocula	406	29,31	36,97	99,30	NA
Zicker F	1990	Não	Papel de filtro	Não	Média OF - AND + CONTROLS	Não informado	Não informado	Epimastigota	Antígeno crú	Y	1179	44,02	83,24	99,85	NA

Autor	Ano	Banco de Sangue	Amostra	Teste rápido	Método CO	Zona cinza	Cut-off	T.cruzi	Purificação	Cepa	Tamanho amostral	Prevalência	Sensibilidade	Especificidade	Confiança
Requejo HI	1991	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	7 mm	Epimastigota	Não informado	Y	236	31,78	100,00	100,00	student t <0,05
SILVA JF	1991	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	Não informado	Epimastigota	Não informado	Não informado	265	14,34	94,74	98,68	NA
SILVA JF	1991	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	Não informado	Epimastigota	Não informado	Não informado	265	14,34	92,11	100,00	NA
Contreras MC	1992	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	0,100 DO	Epimastigota	Antígeno crú	Não informado	178	58,43	100,00	100,00	NA
Contreras MC	1992	Não	Papel de filtro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	0,100 DO	Epimastigota	Antígeno crú	Não informado	64	45,31	100,00	100,00	NA
Schattschneider ER	1992	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Epimastigota	Não informado	Não informado	99	31,31	100,00	91,18	NA
Andrade ALSS	1992	Sim	Soro	Não	Média dos - e controles + fracos	Não informado	Não informado	Epimastigota	Não informado	Y	1451	3,72	96,30	97,07	NA
Petray P	1992	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	Não se aplica	Anticorpo purificado	Não se aplica	215	34,42	58,11	98,58	NA
Petray P	1992	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	215	34,42	66,22	98,58	NA
Echevarria AAR	1993	Sim	Soro	Não	-Média + 5x SD	Não informado	0,150 DO	Epimastigota	Antígeno crú	Mexicana	1186	1,77	100,00	99,66	NA
Knecher LM	1994	Não	Plasma	Não	-Média x 3	(0.8 até 1.2) x cut-off	Não informado	Não informado	Antígeno crú	Tulahuen	1562	42,32	99,85	98,78	cv 9,60%

Autor	Ano	Banco de Sangue	Amostra	Teste rápido	Método CO	Zona cinza	Cut-off	T.cruzi	Purificação	Cepa	Tamanho amostral	Prevalência	Sensibilidade	Especificidade	Confiança
Lissaldo AM	1994	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Epimastigota	Antígeno crú	Y	355	22,54	100,00	95,64	NA
Winkler MA	1995	Não	Soro	Não	-Média x 3.3	Não informado	Não informado	Epimastigota	Antígeno purificado	Não informado	438	25,11	98,18	100,00	NA
Coelho GLLM	1995	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	1/80 Diluição	Epimastigota	Antígeno crú	Y	151	87,42	98,48	100,00	NA
Solana ME	1995	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	1/200 Diluição	Epimastigota	Não informado	Tulahuen/Y	216	46,30	97,00	99,14	NA
Tambourgi DV	1995	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	1,000 DO	Trypomastigota	Antígeno purificado	Y	302	29,80	95,56	100,00	NA
Corral RS	1996	Não	Urina	Não	-Média + 3x SD	Não informado	Não informado	Trypomastigota	Não se aplica	Y	60	20,00	33,33	93,75	NA
Avila JL	1996	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0,100 DO	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	513	24,76	77,95	95,34	NA
Monteon VM	1997	Não	Soro	Não	-Média + 5x SD	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	218	41,74	100,00	83,46	NA
Aznar C	1997	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	0,302 DO	Trypomastigota	Antígeno crú	Brener/CL	570	15,61	98,88	98,34	NA
Castilla MM	1988	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	>= 6 mm	Epimastigota	Antígeno crú	Cocula	63	49,21	100,00	100,00	NA
Krautz GM	1998	Não	Soro	Não	-Mediana +2SD	Não informado	Não informado	Epimastigota	Antígeno crú	Silvio X-10/4	69	43,48	100,00	69,23	NA
Amador EA	1998	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	Não informado	Epimastigota	Antígeno purificado	Y	191	23,56	97,78	98,63	NA

Autor	Ano	Banco de Sangue	Amostra	Teste rápido	Método CO	Zona cinza	Cut-off	T.cruzi	Purificação	Cepa	Tamanho amostral	Prevalência	Sensibilidade	Especificidade	Confiança
Partel CD	1998	Não	Soro	Não	Maximização do índice de Youden	Não informado	40 U/ml	Epimastigota	Antígeno purificado	Y	151	48,34	98,63	98,72	cv 7,90%
Betonico GN	1999	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	138	22,46	41,94	77,57	NA
Pinho RT	1999	Não	Saliva	Não	-Média + 2x SD	Não informado	1/2 Diluição	Epimastigota	Antígeno crú	Y	214	53,27	90,35	95,00	NA
Umezawa ES	1999	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	Não informado	Epimastigota	Antígeno crú	Y	541	56,19	100,00	83,97	NA
Lopez MC	1999	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0,100 DO	Epimastigota	Não informado	Colombiana/IRHO/CO/69/Guatemala	595	18,82	98,21	98,96	NA
Pereira VRA	2000	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	Epimastigota	Antígeno purificado	Y	88	47,73	97,62	100,00	NA
Pereira VRA	2000	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	Epimastigota	Antígeno purificado	Y	88	47,73	100,00	91,30	NA
Palacios X	2000	Não	Papel de filtro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	0,340 DO	Epimastigota	Antígeno crú	Não informado	2434	8,50	100,00	97,62	NA
Nakazawa M	2001	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	(0.9 até 1.1) x cut-off	0,378 DO	Não informado	Não informado	Y/WSL/12S/Colombiana	360	34,44	100,00	95,76	NA
Umezawa ES	2001	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	Não informado	Trypomastigota	Não informado	Y	231	29,00	100,00	96,34	NA

Autor	Ano	Banco de Sangue	Amostra	Teste rápido	Método CO	Zona cinza	Cut-off	T.cruzi	Purificação	Cepa	Tamanho amostral	Prevalência	Sensibilidade	Especificidade	Confiança
Umezawa ES	2001	Não	Soro	Não	Média dos controles + e -	Não informado	Não informado	Epimastigota	Antígeno crú	Y	231	29,00	100,00	76,22	NA
Sanchez B	2001	Não	Soro	Não	-Média + 2,5x SD	Não informado	0,100 DO	Epimastigota	Antígeno crú	Mínoa/Queretaro/Motilo/Y	252	30,56	100,00	95,81	NA
Cannova DC	2002	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	0,250 DO	Epimastigota	Antígeno crú	Não informado	231	43,29	96,00	94,66	NA
Marcipar IS	2003	Sim	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	Epimastigota	Antígeno purificado	Tulahuen	103	48,54	98,00	98,11	NA
Umezawa ES	2003	Sim	Soro	Não	Não informado	(0.9 até 1.1) x cut-off	0,200 DO	Epimastigota	Antígeno crú	Y	451	1,33	50,00	96,85	NA
Umezawa ES	2003	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0,200 DO	Epimastigota	Não informado	Y	1345	46,32	99,52	92,66	NA
Enciso C	2004	Sim	Soro	Não	-Média + 2x SD	(0.9 até 0.99) x cut-off	Não informado	Não informado	Não informado	IRHO/98/Munata + MDID/CO/87/N3 + MHOM/CO/87/SPR	29	51,72	100,00	92,86	NA
Umezawa ES	2004	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Epimastigota	Antígeno crú	Não informado	303	53,14	100,00	95,77	NA
Berrizbietia M	2004	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0,100 DO	Epimastigota	Antígeno crú	Tulahuen/Brasil	435	16,09	100,00	98,63	NA
Berrizbietia M	2004	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0,100 DO	Amastigota	Antígeno crú	Tulahuen/Brasil	435	16,09	100,00	98,08	NA

Autor	Ano	Banco de Sangue	Amostra	Teste rápido	Método CO	Zona cinza	Cut-off	T.cruzi	Purificação	Cepa	Tamanho amostral	Prevalência	Sensibilidade	Especificidade	Confiança
Berrizbietia M	2004	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0,100 DO	Trypomastigota	Antígeno crú	Tulahuen/Brasil	435	16,09	100,00	99,25	NA
Pirard M	2005	Sim	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Antígeno crú	Não informado	396	36,62	100,00	96,81	NA
Berrizbeitia M	2006	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0,100 DO	Trypomastigota	Antígeno purificado	Tulahuen	709	27,50	100,00	99,22	NA
Berrizbeitia M	2006	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0,100 DO	Trypomastigota	Antígeno purificado	Brasil	709	27,50	100,00	99,61	NA
Caballero ZC	2007	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	Não informado	Epimastigota	Antígeno crú	Y	307	22,48	100,00	90,68	NA
Almeida IC	1997	Não	Soro	Não	-Média + 10x SD	(0.9 até 1.0) x cut-off	Não informado	Trypomastigota	Antígeno purificado	Y	1388	7,20	100,00	100,00	cv 8,47%
Almeida IC	1997	Não	Soro	Não	-Média + 10x SD	(0.9 até 1.0) x cut-off	Não informado	Epimastigota	Antígeno crú	Tulahuen	1388	7,20	100,00	99,77	cv 8,54%
Lorca M	1992	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	180	45,56	93,90	100,00	NA
Pan AA	1992	Não	Soro	Não	-Média + (+Média x 0.13)	(0.8 até 1.2) x cut-off	0,100 DO	Não informado	Não informado	Não informado	1299	26,25	93,84	98,64	NA
Carvalho MR	1993	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	415	53,98	100,00	95,29	NA
Hamerschlak N	1997	Sim	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	60	33,33	100,00	90,00	NA

Autor	Ano	Banco de Sangue	Amostra	Teste rápido	Método CO	Zona cinza	Cut-off	T.cruzi	Purificação	Cepa	Tamanho amostral	Prevalência	Sensibilidade	Especificidade	Confiança
Oeleman WMR	1998	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	1025	52,59	95,55	98,97	NA
Leiby DA	2000	Sim	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	220	91,36	93,03	100,00	NA
Kirchhoff LV	2006	Sim	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	2897	0,86	92,00	99,76	NA
Hamerschlak N	1997	Sim	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	60	33,33	100,00	82,50	NA
Oeleman WMR	1998	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	1025	50,24	99,61	98,63	NA
Ferreira AW	2001	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Antígeno crú	Não informado	290	34,83	100,00	94,71	NA
Carvalho MR	1993	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	415	53,98	99,11	98,43	NA
Gadelha AAM	2003	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	287	38,33	100,00	98,62	NA
Caballero ZC	2007	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Epimastigota	Não informado	Não informado	307	22,48	98,55	89,08	NA
Caballero ZC	2007	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Epimastigota	Não informado	Não informado	307	22,48	100,00	92,02	NA
Caballero ZC	2007	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Epimastigota	Não informado	Não informado	307	22,48	100,00	90,76	NA
Malan AK	2006	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0,200 DO	Não informado	Não informado	Não informado	220	13,64	100,00	94,74	NA

Autor	Ano	Banco de Sangue	Amostra	Teste rápido	Método CO	Zona cinza	Cut-off	T.cruzi	Purificação	Cepa	Tamanho amostral	Prevalência	Sensibilidade	Especificidade	Confiança
Teixeira MGM	1994	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	272	58,82	99,38	94,64	NA
Teixeira MGM	1994	Não	Soro	Não	(-Mediana + Mediana) /3	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	272	58,82	100,00	90,18	NA
Moretti E	2004	Não	Saliva	Não	ROC	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	252	35,32	97,75	96,93	NA
Duarte AMV	2006	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	414	38,89	100,00	89,41	kappa 0,751
Teixeira MGM	1994	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	272	58,82	100,00	95,54	NA
Leiby DA	2000	Sim	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	220	91,36	93,53	100,00	NA
Malan AK	2006	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0,276 até 0,303 DO	Não informado	Não informado	Não informado	220	13,64	100,00	97,37	NA
Moretti E	2004	Não	Saliva	Não	ROC	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	188	32,45	95,08	94,49	NA
Arrieta R	2004	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	250	20,40	98,04	92,96	NA
Hamerschlak N	1997	Sim	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	60	33,33	100,00	95,00	NA
Houghton RL	1999	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Antígeno crú	Não informado	133	91,73	73,77	54,55	NA
Leiby DA	2000	Sim	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	220	91,36	97,01	100,00	NA

Autor	Ano	Banco de Sangue	Amostra	Teste rápido	Método CO	Zona cinza	Cut-off	T.cruzi	Purificação	Cepa	Tamanho amostral	Prevalência	Sensibilidade	Especificidade	Confiança
Pirard M	2005	Sim	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	396	36,62	98,62	96,41	NA
Lorca M	1992	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	180	45,56	96,34	97,96	NA
Kirchhoff LV	2006	Sim	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	4399	0,86	70,00	100,00	NA
Leiby DA	2000	Sim	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	220	91,36	97,51	100,00	NA
Enciso C	2004	Sim	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	29	51,72	93,33	50,00	NA
Rivetz B	2007	Não	Soro	Sim	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	Não informado	Não informado	Não informado	616	48,05	100,00	90,94	NA
Rivetz B	2007	Não	Soro	Sim	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	Não informado	Não informado	Não informado	429	50,12	99,53	97,16	NA
Rivetz B	2007	Não	Soro	Sim	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	Não informado	Não informado	Não informado	426	50,47	99,53	97,16	NA
Rivetz B	2007	Não	Soro	Sim	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	Não informado	Não informado	Não informado	658	18,84	100,00	100,00	NA
Rivetz B	2007	Não	Soro	Sim	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	Não informado	Não informado	Não informado	339	31,56	100,00	99,14	NA
Rivetz B	2007	Não	Soro	Sim	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	Não informado	Não informado	Não informado	150	33,33	98,00	100,00	NA
Rivetz B	2007	Não	Soro	Sim	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	Não informado	Não informado	Não informado	332	19,58	100,00	99,63	NA

Autor	Ano	Banco de Sangue	Amostra	Teste rápido	Método CO	Zona cinza	Cut-off	T.cruzi	Purificação	Cepa	Tamanho amostral	Prevalência	Sensibilidade	Especificidade	Confiabilidade
Rivetz B	2007	Não	Soro	Sim	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	Não informado	Não informado	Não informado	250	30,00	78,67	93,71	NA
Rivetz B	2007	Não	Soro	Sim	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	Não informado	Não informado	Não informado	228	39,91	100,00	98,54	NA
Carvalho MR	1993	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	415	53,98	100,00	95,29	NA
Tobler LH	2007	Não	Soro	Não	Média do calibrador + constante	(0.5 até 1.0) x cut-off	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	10552	1,71	97,78	100,00	NA
Gorlin J	2008	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	46975	1,84	99,88	99,85	NA
Malan AK	2006	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0,200 até 0,300 DO	Não informado	Não informado	Não informado	220	13,64	100,00	98,95	NA
Oeleman WMR	1998	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	1025	50,73	100,00	94,65	NA
Lorca M	1992	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	180	45,56	95,12	98,98	NA
Lorca M	1992	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	174	43,68	97,37	98,98	NA
Lorca M	1992	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	96	53,13	94,12	93,33	NA
Moretti E	2004	Não	Saliva	Não	ROC	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	140	37,86	94,34	97,70	NA

-Média ou +Média : médias dos resultados das amostras sem Chagas e com Chagas respectivamente; 2/3-: 2 testes negativos de 3; 2/3+: 2 testes positivos de 3; Ano: ano de publicação; BS: amostra de doadores de sangue exclusivamente; CF ou CFR: reação de fixação de complemento; CML: lise mediada por complemento; Confiabilidade:

concordância intra teste; DA: aglutinação direta; DO: densidade ótica; ELISA: teste imunoenzimático; IFI: imunofluorescência indireta; IHA e HA: hemaglutinação (indireta); IPR: reação de imunoperoxidase; Método CO: método para estimar cut-off; NA: valor ausente ou não especificado; PHA: hemaglutinação passiva; RIPA: teste radio-imuno-precipitação; ROC: receiver operator characteristic; RPHA: hemaglutinação passiva reversa; RS1 e RS0: teste de referência para os sujeitos com e sem doença de Chagas respectivamente; SD: desvio padrão; SE: erro padrão; WB: western blot; Zona cinza: amplitude de resultados inconclusivos.

Tabela 2: Características do estudo, população de estudo, dos testes ELISA-rec investigados e suas medidas de validade

Autor	Ano	Modalidade	Fabricante	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Idade média	Amplitude	Homens (%)
Almeida E	1990	In-house		ELISA CRA/FRA	Fase 1	Não está claro	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Santos CND	1992	In-house		ELISA FRA	Fase 1	Não	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Cetron MS	1992	In-house		ELISA SA85-1.2	Fase 2	Não	Brasil	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Cetron MS	1992	In-house		ELISA SA85-1.1	Fase 2	Não	Brasil	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Cetron MS	1992	In-house		ELISA FL-160	Fase 2	Não	Brasil	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Cetron MS	1992	In-house		ELISA r.Ag	Fase 2	Não	Brasil	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Carvalho MR	1993	In-house		ELISA CRA/FRA	Fase 2	Não está claro	Brasil	IFI/HA ou xenodiagnóstico	IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Peralta JM	1994	In-house		ELISA TcD/PEPZ	Fase 2	Não	Brasil	3/3+ ELISA/IFI/HA	3/3- ELISA/IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Peralta JM	1994	In-house		ELISA TcD	Fase 2	Não	Brasil	2/3+ ELISA/IFI/HA	2/3- ELISA/IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA

Autor	Ano	Modalidade	Fabricante	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Idade média	Amplitude	Homens (%)
Peralta JM	1994	<i>In-house</i>		ELISA PEPZ	Fase 2	Não	Brasil	3/3+ ELISA/IFI/HA	3/3- ELISA/IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Breniere SF	1997	<i>In-house</i>		ANTI-SAPA ELISA	Fase 3	Não	Bolívia	3+ sorologias	2/4- sorologias	NA até NA	8	2 até 15	NA
Krautz GM	1998	<i>In-house</i>		ELISA Hsp70s	Fase 1	Não	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Krautz GM	1998	<i>In-house</i>		ELISA FCaBP	Fase 1	Não	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Houghton RL	1999	<i>In-house</i>		ELISA 2/D/E	Fase 1	Não	Brasil Equador EUA	Diversas sorologias	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Betonico GN	1999	<i>In-house</i>		ELISA PEP2 TcD TcDE2	Fase 1	Não	Brasil	2/3+ ELISA/IFI/HA	2/3- ELISA/IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Umezawa ES	1999	<i>In-house</i>		ELISA H49	Fase 2	Não está claro	Não informado	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Umezawa ES	1999	<i>In-house</i>		ELISA JL7	Fase 2	Não está claro	Não informado	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Umezawa ES	1999	<i>In-house</i>		ELISA A13	Fase 2	Não está claro	Não informado	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Umezawa ES	1999	<i>In-house</i>		ELISA B13	Fase 2	Não está claro	Não informado	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Umezawa ES	1999	<i>In-house</i>		ELISA JL8	Fase 2	Não está claro	Não informado	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Umezawa ES	1999	<i>In-house</i>		ELISA 1F8	Fase 2	Não está claro	Não informado	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA

Autor	Ano	Modalidade	Fabricante	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Idade média	Amplitude	Homens (%)
Umezawa ES	1999	<i>In-house</i>		ELISA GST	Fase 2	Não está claro	Não informado	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Ferreira AW	2001	<i>In-house</i>		TCF-ELISA	Fase 2	Não	Brasil	ELISA/IFI/HA	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Meira WSF	2002	<i>In-house</i>		rCPP-ELISA	Fase 2	Não	Brasil	ELISA/IFI/HA	ELISA/IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Umezawa ES	2003	<i>In-house</i>		MIX ELISA	Fase 2	Não está claro	Brasil	TESA-BLOT	TESA-BLOT	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Umezawa ES	2003	<i>In-house</i>		ELISA B13	Fase 2	Não está claro	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Umezawa ES	2003	<i>In-house</i>		ELISA IF8	Fase 2	Não está claro	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Umezawa ES	2003	<i>In-house</i>		ELISA H49	Fase 2	Não está claro	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Marcipar IS	2004	<i>In-house</i>		ELISA TcP2B-MBP	Fase 1	Não	Argentina	ELISA/HA	ELISA/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Marcipar IS	2004	<i>In-house</i>		ELISA TcP2B-TRX	Fase 1	Não	Argentina	ELISA/HA	ELISA/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Umezawa ES	2004	<i>In-house</i>		ELISA JM	Fase 2	Não está claro	Diversos países	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Marcipar IS	2005	<i>In-house</i>		ELISA RC29FL	Fase 2	Não	Não informado	ELISA/HA	2/2- ELISA/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Marin MH	2006	<i>In-house</i>		UMELISA P1	Fase 2	Não	Brasil Colômbia	IFI	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA

Autor	Ano	Modalidade	Fabricante	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Idade média	Amplitude idade	Homens (%)
Marin MH	2006	<i>In-house</i>		UMELISA P2	Fase 2	Não	Brasil Colômbia	IFI	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Marin MH	2006	<i>In-house</i>		UMELISA QCHA-1	Fase 2	Não	Brasil Colômbia	IFI	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Marin MH	2006	<i>In-house</i>		UMELISA QCHA-2	Fase 2	Não	Brasil Colômbia	IFI	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Marin MH	2006	<i>In-house</i>		UMELISA QCHA-3	Fase 2	Não	Brasil Colômbia	IFI	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Marin MH	2006	<i>In-house</i>		UMELISA QCHA-4	Fase 2	Não	Brasil Colômbia	IFI	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Marin MH	2006	<i>In-house</i>		UMELISA QCHA-5	Fase 2	Não	Brasil Colômbia	IFI	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Marin MH	2006	<i>In-house</i>		UMELISA QCHA-6	Fase 2	Não	Brasil Colômbia	IFI	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Chang CD	2006	Comercial	ABBOTT	Prism CHAGAS	Fase 2	Não	EUA	ELISA/HA ou RIPA	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Gomes YM	2001	Comercial	BIOMangui nhos	EIE-Recombinante CHAGAS	Fase 2	Não	Brasil	2/3+ ELISA/IFI/HA	2/3- ELISA/IFI/HA	NA até NA	NA	5 até 76	NA
Gadelha AAM	2003	Comercial	BIOMangui nhos	EIE-Recombinante CHAGAS	Fase 2	Não	Brasil	Não informado	Não informado	NA até NA	NA	21 até 82	NA
Pirard M	2005	Comercial	BIOSCHIL E	ELISA	Fase 3	Não	Bolívia	latent class analysis	latent class analysis	1998 até 1999	31	NA até NA	66

Autor	Ano	Modalidade	Fabricante	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Idade média	Amplitude	Homens (%)
Pastini AC	1994	Comercial	GARDOR	DIA KIT BIO-CHAGAS	Fase 2	Não	Argentina	ELISA/IFI/IHA	ELISA/IFI/IHA	NA até NA	NA	NA até NA	NA
Cabalero ZC	2007	Comercial	OMEGA	Pathozyme Chagas	Fase 2	Sim	Brasil Panamá	TESA-BLOT	TESA-BLOT	NA até NA	NA	18 até 60	60
Pirard M	2005	Comercial	WIENER	Chagatest	Fase 3	Não	Bolívia	latent class analysis	latent class analysis	1998 até 1999	31	NA até NA	66
Blejer JL	2006	Comercial	WIENER	Chagatest 3.0	Fase 3	Não	Argentina	2/3+ ELISA/IFI/IHA/CF ou parasitológico	2/3- ELISA/HAI/PA	1995 até 2003	NA	NA até NA	NA
Cabalero ZC	2007	Comercial	WIENER	Chagatest REC 3.0	Fase 2	Sim	Brasil Panamá	TESA-BLOT	TESA-BLOT	NA até NA	NA	18 até 60	60

Continuação tabela 2.

Autor	Ano	BS	Amostra	Teste rápido	Método CO	Zona cinza	Cut-off	Antígeno	Tamanho amostral	Prevalência	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Confiança
Almeida E	1990	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	CRA/FRA	801	41,45	100,00	100,00	NA
Santos CND	1992	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	FRA Baculovirus	40	62,50	100,00	100,00	NA
Cetron MS	1992	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	SA85-1.2	248	48,39	60,00	85,16	NA
Cetron MS	1992	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	SA85-1.1	248	48,39	51,67	89,06	NA
Cetron MS	1992	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	FL	248	48,39	44,17	92,97	NA

Autor	Ano	BS	Amostra	Teste rápido	Método CO	Zona cinza	Cut-off	Antígeno	Tamanho amostral	Prevalência	Sensibilidade(%)	Especificidade (%)	Confiança
Cetron MS	1992	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	r.Ag	248	49,19	70,49	81,25	NA
Carvalho MR	1993	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	CRA/FRA	477	37,74	98,33	100,00	NA
Peralta JM	1994	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	Não informado	TcD/PEPZ	297	60,61	98,89	99,07	NA
Peralta JM	1994	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	Não informado	TcD	297	60,27	93,85	97,46	NA
Peralta JM	1994	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	Não informado	PEPZ	297	60,27	91,62	87,88	NA
Breniere SF	1997	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	0.380 OD	SAPA REC	266	41,35	81,82	92,31	NA
Krautz GM	1998	Não	Soro	Não	-Mediana +2SD	Não informado	Não informado	HsptOs	105	28,57	76,67	90,67	NA
Krautz GM	1998	Não	Soro	Não	-Mediana +2SD	Não informado	Não informado	FCuBP	69	43,48	90,00	97,44	NA
Houghton RL	1999	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	(0.9 to 1.1) x cut-off	Não informado	2/D/E	439	66,06	98,97	99,33	NA
Betonico GN	1999	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	PEP/2TcD/TcE 2	138	22,46	12,90	100,00	NA
Umezawa ES	1999	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	Não informado	H49	541	56,19	97,70	97,47	NA
Umezawa ES	1999	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	JL7	541	56,19	97,37	96,62	NA
Umezawa ES	1999	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	A13	541	56,19	87,17	99,58	NA
Umezawa ES	1999	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	B13	541	56,19	93,42	99,16	NA
Umezawa ES	1999	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	JL8	541	56,19	93,75	93,70	NA
Umezawa ES	1999	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	1F8	541	56,19	99,01	94,78	NA
Umezawa ES	1999	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	GST	541	56,19	4,28	99,15	NA
Ferreira AW	2001	Não	Soro	Não	Maximização índice de Youden	(0.8 to 1.2) x cut-off	0.200 OD	TCF	290	34,83	100,00	98,94	cv 1.70%
Meira WSF	2002	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	0.100 OD	rCRP	184	35,33	100,00	100,00	NA
Umezawa ES	2003	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	0.240 OD	B13/1F8/H49	1345	46,32	99,68	99,31	NA

Autor	Ano	BS	Amostra	Teste rápido	Método CO	Zona cinza	Cut-off	Antígeno	Tamanho amostral	Prevalência	Sensibilidade(%)	Especificidade (%)	Confiança
Umezawa ES	2003	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	Não informado	B13	837	66,91	94,46	99,28	NA
Umezawa ES	2003	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	0.240 OD	IF8	837	66,91	97,86	99,64	NA
Umezawa ES	2003	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	0.240 OD	H49	837	66,91	96,25	97,83	NA
Marcipar IS	2004	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	TcP2B-MBP	64	50,00	93,75	90,63	NA
Marcipar IS	2004	Não	Soro	Não	-Média + 2x SD	Não informado	Não informado	TcP2B-TRX	64	50,00	100,00	100,00	NA
Umezawa ES	2004	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	JL8 MAP	303	53,14	99,38	99,30	NA
Marcipar IS	2005	Não	Soro	Não	-Média + 3x SD	Não informado	Não informado	RC29FL	116	58,62	98,53	93,75	NA
Marin MH	2006	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0.300 OD	P1	212	38,68	76,83	100,00	NA
Marin MH	2006	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0.300 OD	P2	212	38,68	67,07	100,00	NA
Marin MH	2006	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0.300 OD	QCHA-1	212	38,68	89,02	100,00	NA
Marin MH	2006	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0.300 OD	QCHA-2	212	38,68	91,46	100,00	NA
Marin MH	2006	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0.300 OD	QCHA-3	212	38,68	93,90	100,00	NA
Marin MH	2006	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0.300 OD	QCHA-4	212	38,68	92,68	100,00	NA
Marin MH	2006	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0.300 OD	OCHA-5	212	38,68	100,00	100,00	NA
Marin MH	2006	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	0.300 OD	QCHA-6	212	38,68	91,46	100,00	NA
Chang CD	2006	Sim	Soro	Não	(+Média + - Média) x 0.13	(0.8 to 1.0) x cut-off	Não informado	TcF/FP3/FP6/FP10	8403	4,49	100,00	99,93	NA
Gomes YM	2001	Não	Soro	Não	Não informado	Varia em cada placa	Varia em cada placa	CRA/FRA	420	31,19	100,00	100,00	NA
Gadelha AAM	2003	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	CRA/FRA	287	39,02	98,21	100,00	NA
Pirard M	2005	Sim	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	396	36,62	99,31	95,22	NA

Autor	Ano	BS	Amostra	Teste rápido	Método CO	Zona cinza	Cut-off	Antígeno	Tamanho amostral	Prevalência	Sensibilidade(%)	Especificidade (%)	Confiabilidade
Pastini AC	1994	Não	Soro	Sim	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	GST	878	43,51	99,74	98,59	NA
Cabalero ZC	2007	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	307	22,48	94,20	100,00	NA
Pirard M	2005	Sim	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	396	35,86	98,59	96,41	NA
Blejer JL	2006	Sim	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	AGL/30/36/2/13E	862	9,05	100,00	98,85	NA
Cabalero ZC	2007	Não	Soro	Não	Não informado	Não informado	Não informado	Não informado	307	22,48	95,65	100,00	NA

-*Media ou + Média* – média dos valores das amostras sem ou com doença Chagas respectivamente; 2/3-: 2 testes negativos de 3; 2/3+: 2 testes positivos de 3; Ano: Ano de publicação. BS: amostra composta exclusivamente por doadores de sangue; CF ou CFR: reação de fixação de complemento; Método CO: método para estimar cut-off; Confiabilidade: concordância intra teste; DO: densidade ótica; IFI: imunofluorescência indireta; IHA e HA: hemaglutinação (indireta); NA: não especificado ou valor ausente; PA: aglutinação passiva; RIPA: teste radio-imuno-precipitação; RS1 e RS0: teste de referência para os sujeitos classificados com e sem doença de Chagas respectivamente; SD: desvio padrão; SE: erro padrão; Zona cinza: amplitude de resultados inconclusivos;

Tabela 3: Características do estudo, população de estudo, dos testes PCR estudados e suas medidas de validade.

Autor	Ano	Modalidade	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Idade média	Amplitude idade	Homens (%)	BS	Amostra	Volume da amostra
Avila HA	1993	In-house	PCR	Fase 1	Não	Brasil	Sorologia	Não informado	NA até NA	NA	13 to 84	NA	Não	Sangue total	5 ml
Winker P	1994	In-house	PCR hibridização	Fase 2	Não	Brasil	ELISA/IFI/HA	ELISA/IFI/HA	1992 to NA	NA	NA até NA	NA	Sim	Sangue total	10 ml

Autor	Ano	Modalidade	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Idade média	Amplitude idade	Homens (%)	BS	Amostra	Volume da amostra
Britto C	1995	<i>In-house</i>	PCR	Fase 2	Não	Brasil	2+ Sorologia	2- Sorologia	NA até NA	NA	NA até NA	NA	Não	Sangue total	Não informado
Espinoza AG	1996	<i>In-house</i>	PCR	Fase 1	Não	Bolívia	Sorologia	Sorologia	NA até NA	NA	NA até NA	NA	Não	Sangue total	Não informado
Junqueira ACV	1996	<i>In-house</i>	PCR	Fase 1	Não	Brasil	IFI	IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA	Não	Sangue total	5 ml
Winker P	1997	<i>In-house</i>	PCR	Fase 2	Não	Bolívia	ELISA/IFI/HA ou buffy-coat	ELISA/IFI/HA ou buffy-coat	NA até NA	7	1 até 15	4	Não	Sangue total	5 ml
Carriazo CS	1998	<i>In-house</i>	PCR hibridização	Fase 1	Não	Argentina	ELISA/IFI/HA	Não informado	NA até NA	NA	NA até NA	NA	Não	Sangue total	Não informado
Chiaramonte MG	1999	<i>In-house</i>	PCR	Fase 1	Não	Argentina	ELISA/IFI	ELISA/IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA	Não	Soro	Não informado
Chiaramonte MG	1999	<i>In-house</i>	PCR	Fase 1	Não	Argentina	ELISA/IFI	ELISA AGI63 + IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA	Não	Soro	Não informado
Gomes ML	1999	<i>In-house</i>	PCR	Fase 1	Não	Brasil	2/2+ IFI+ELISA	2/2- ELISA/IFI	NA até NA	46	11 até 76	46	Não	Sangue total	15 ml
Santos GR	1999	<i>In-house</i>	PCR	Fase 2	Não	Brasil	3/3+ ELISA/IFI/HA	3/3- ELISA/IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA	Sim	Sangue total	Não informado
Santos GR	1999	<i>In-house</i>	PCR	Fase 2	Não	Brasil	3/3+ ELISA/IFI/HA	3/3- ELISA/IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA	Sim	Sangue total	Não informado
Santos GR	1999	<i>In-house</i>	PCR aninhado	Fase 2	Não	Brasil	3/3+ ELISA/IFI/HA	3/3- ELISA/IFI/HA	NA até NA	NA	NA até NA	NA	Sim	Sangue total	Não informado
Castro AM	2002	<i>In-house</i>	PCR hibridização	Fase 1	Não	Brasil	ELISA/IFI/HA	ELISA/IFI/HA	NA até NA	51	23 até 88	42	Não	Sangue total	10 ml

Autor	Ano	Modalidade	Nome	Fase	Multicêntrico	País	RS1	RS0	Recrutamento	Idade média	Amplitude idade	Homens (%)	BS	Amostra	Volume da amostra
Gutierrez R	2004	<i>In-house</i>	PCR	Fase 1	Não	Colômbia	3/4+ ELISA/ELISA/ELISA/IFI	2/4- ELISA/ELISA/ELISA/IFI	NA até NA	NA	NA até NA	NA	Não	Sangue total	5 ml
Duarte AMV	2006	<i>In-house</i>	PCR	Fase 2	Não	Brasil	2/3+ ELISA/IFI/HA	3/3- ELISA/IFI/HA	2000 até 2002	NA	10 até 80	NA	Não	Não informado	Não informado
Piron M	2007	<i>In-house</i>	PCR temporal	Fase 1	Não	Espanha	ELISA/ELISA	Não informado	2000 até 2004	NA	1 até NA	NA	Não	Sangue total	1 ml
Gil J	2007	<i>In-house</i>	PCR	Fase 2	Não	Colômbia	ELISA/IFI	ELISA/IFI	NA até NA	NA	18 até 65	NA	Não	Sangue total	5 ml
Fitzwater S	2008	<i>In-house</i>	PCR coágulo	Fase 3	Não	Peru	2/2+ ELISA/IFI	2/2- ELISA/IFI	2006 até 2007	24	13 até 45	0	Não	coágulo	5 ml
Fitzwater S	2008	<i>In-house</i>	PCR	Fase 3	Não	Peru	2/2+ ELISA/IFI	2/2- ELISA/IFI	2006 até 2007	24	13 até 45	0	Não	Sangue total	5 ml
Fitzwater S	2008	<i>In-house</i>	PCR buffy-coat	Fase 3	Não	Peru	2/2+ ELISA/IFI	2/2- ELISA/IFI	2006 até 2007	24	13 até 45	0	Não	Buffy-coat	5 ml

Continuação da tabela 3.

Autor	Ano	Volume extração	Guani dín a	Fer veur a	Região amplificada	Técnica	Extração	Inibição	Controle contaminação	Hibridização (°C)	Se analítica	Tamanho amostral	Prevalência(%)	Sensibilidade(%)	Especificidade(%)	Confiabilidade
Avila HA	1993	500 µl	Sim	Não	K-DNA	Regular	Fenol-clorofórmio	Não informado	Sim	60	0.100 fentograma	114	81,58	100,00	85,71	NA
Winker P	1994	100 µl	Sim	Sim	K-DNA	Hibridização	Fenol-clorofórmio	Beta-globina	Sim	64	Não informado	100	91,00	94,51	100,00	NA
Britto C	1995	100 µl	Sim	Sim	K-DNA	Regular	Fenol-clorofórmio	Beta-globina	Sim	64	Não informado	88	62,50	100,00	81,82	NA
Espinoza AG	1996	Não informado	Sim	Sim	TC24	Regular	Fenol-clorofórmio	Não informado	Não informado	60	Não informado	22	77,27	100,00	100,00	NA
Junqueira ACV	1996	100 µl	Sim	Sim	K-DNA	Regular	Fenol-clorofórmio	Beta-globina	Sim	64	Não informado	121	83,47	59,41	100,00	NA
Winker P	1997	100 µl	Sim	Sim	K-DNA	Regular	Fenol-clorofórmio	Beta-globina	Sim	64	Não informado	268	42,16	93,81	99,35	NA
Carriazo CS	1998	300 µl	Sim	Sim	ns-DNA	Hibridização	Fenol-clorofórmio	Albumina	Sim	55	Não informado	26	61,54	100,00	100,00	NA
Chiaramonte MG	1999	100 µl	Sim	Sim	K-DNA	Regular	Fenol-clorofórmio	Não informado	Sim	64	Não informado	34	52,94	83,33	100,00	NA
Chiaramonte MG	1999	100 µl	Sim	Não	ns-DNA	Regular	Fenol-clorofórmio	Não informado	Sim	60	Não informado	34	52,94	94,44	93,75	NA
Gomes ML	1999	200 µl	Sim	Sim	K-DNA	Regular	Fenol-clorofórmio	Beta-globina	Sim	62	0.100 fentograma	126	62,70	83,54	65,96	NA
Santos GR	1999	400 µl	Sim	Não	ns-DNA	Regular	Fenol-clorofórmio	Não informado	Não informado	64	Não informado	99	59,60	3,39	100,00	NA

Autor	Ano	Volume extração	Guani dina	Fer veur a	Região amplific ada	Técnica	Extração	Inibição	Controle contamin ação	Hib ridi zaçã o (°C)	Se analítica	Tam anh o amo stral	Preval encia(%)	Sensi bilida de(%)	Specifi cidade(%)	Con fiabi lida de
Santos GR	1999	400 µl	Sim	Não	K-DNA	Regular	Fenol- clorofórmio	Não informado	Não informado	64	Não informado	197	78,68	2,58	100,00	NA
Santos GR	1999	400 µl	Sim	Não	K-DNA	Aninhado	Fenol- clorofórmio	Não informado	Não informado	64	1 parasite/ml	225	77,78	17,14	100,00	NA
Castro AM	2002	200 µl	Sim	Sim	K-DNA	Hibridização	Fenol- clorofórmio	Não informado	Não informado	65	0.010 fentograma	69	86,96	86,67	50,00	NA
Gutierrez R	2004	200 µl	Sim	Sim	K-DNA	Regular	Fenol- clorofórmio	Beta- globina	Não informado	64	Não informado	120	79,17	78,95	96,00	NA
Duarte AMV	2006	Não informado	NA	NA	K-DNA	Regular	Não informado	Não informado	Não informado	NA	Não informado	414	39,13	1,23	100,00	NA
Piron M	2007	100 µl	Não	Não	ns-DNA	Tempo-real & Aninhado	Comercial	Não informado	Não informado	63	Não informado	183	21,31	41,03	100,00	NA
Gil J	2007	500 µl	Não	Não	Histona H2A	Regular	Comercial	Não informado	Sim	65	Não informado	156	57,05	88,76	92,54	NA
Fitzwater S	2008	500 µl	Não	Não	K-DNA	Regular	Fenol- clorofórmio	Beta- globina	Sim	57	Não informado	516	28,68	60,14	100,00	NA
Fitzwater S	2008	500 µl	Não	Não	K-DNA	Regular	Fenol- clorofórmio	Beta- globina	Sim	57	Não informado	520	28,85	40,00	100,00	NA
Fitzwater S	2008	500 µl	Não	Não	K-DNA	Regular	Fenol- clorofórmio	Beta- globina	Sim	57	Não informado	208	34,13	46,48	100,00	NA

2/2-: 2 testes negativos de 2; 2/2+: 2 testes positivos de 2; Ano – Ano de publicação; BS – com doadores de sangue exclusivamente; ELISA – teste imunoenzimático; HA – hemaglutinação; IFI – imunofluorescência indireta; K-DNA – DNA do kinetoplasto; NA – não especificado ou ausente; ns-DNA: DNA nuclear satélite; PCR – reação em cadeia da polimerase; Confiabilidade: concordância intra teste; RS1 e RS0 – teste de referência para sujeitos classificados com e sem doença de Chagas respectivamente

Tabela 4: Estimativas de heterogeneidade (I^2) e seus limites de confiança de 95% para subgrupos selecionados.

Grupo	Subgrupo (N)	Se I^2	Se I^2 inf cl	Se I^2 sup cl	Sp I^2	Sp I^2 inf cl	Sp I^2 sup cl	DOR I^2	DOR I^2 inf cl	DOR I^2 sup cl
ELISA	Geral(115)	95,68	95,19	96,11	95,57	95,07	96,02	92,22	91,16	93,15
	QUADAS 11 = Sim (16)	48,12	7,37	70,94	57,96	26,79	75,85	0,00	0,00	45,27
	Comercial Fase 3 (5)	86,52	70,70	93,80	95,66	92,39	97,53	30,35	0,00	73,16
ELISA-rec	Geral (49)	98,22	97,98	98,43	90,67	88,51	92,42	93,55	92,23	94,65
	Comercial Fase 3 (3)	0,00	0,00	82,24	84,19	52,67	94,72	0,00	0,00	84,53
PCR	Geral (21)	98,69	98,44	98,89	84,66	77,76	89,41	70,29	53,69	80,94
	Com guanidina / fervido (10)	89,85	83,48	93,77	89,85	83,48	93,77	77,74	59,25	87,84
	Com guanidina / não fervido (5)	99,24	98,95	99,45	61,20	0,00	85,43	66,98	14,27	87,28
	Sem guanidina / não fervido (5)	94,57	90,09	97,02	76,67	43,25	90,41	10,88	0,00	81,47

DOR: razão de chance diagnóstica; ELISA-rec: ELISA com antígenos recombinante; ELISA: teste imunoenzimático; inf cl: limite inferior do intervalo de confiança 95%; N: número de testes incluídos nos grupos; PCR: reação em cadeia da polimerase; Se: Sensibilidade; Sp: Especificidade; sup cl: limites superior do intervalo de confiança 95%.

Tabela 5: Sensibilidade e Especificidade sumárias estimadas por modelo aleatório bivariado em subgrupos selecionados.

Grupos (N)	ML	limite inferior	limite superior	SD do REff	limite inferior	limite superior	MCMC mediano	limite inferior	limite superior
------------	----	-----------------	-----------------	------------	-----------------	-----------------	--------------	-----------------	-----------------

Grupos (N)	ML	limite inferior	limite superior	SD do REff	limite inferior	limite superior	MCMC mediano	limite inferior	limite superior
<i>5A - ELISA - QUADAS II = Sim (16)</i>									
(média) TPR%	97,85	96,47	98,70	0,00	0,00	0,90	97,69	96,71	98,52
(média) FPR%	3,66	2,37	5,62	0,41	0,00	1,21	3,74	2,41	5,37
SD logito TPR	0,72	-	-	-	-	-	0,92	0,33	2,15
SD logito FPR	0,69	-	-	-	-	-	0,83	0,36	1,55
correlação	0,97	-	-	-	-	-	0,98	0,30	1,00
Correlação positiva									
<i>5B - ELISA comerciais estudados em fase 3 (5)</i>									
(média) TPR%	97,12	86,60	99,44	2,10	0,91	6,07	94,30	94,30	94,30
(média) FPR%	0,41	0,07	2,33	237,73	137,24	533,87	0,09	0,09	0,09
SD logito TPR	1,63	-	-	-	-	-	1,72	0,87	5,60
SD logito FPR	1,63	-	-	-	-	-	319,89	161,94	1034,65
correlação	0,00	-	-	-	-	-	-0,28	-0,93	0,80
Correlação negativa – modelo pelo efeito ponto de corte não apropriado									
<i>5C - ELISA-rec comerciais estudados em fase 3 (3)</i>									
(média) TPR%	99,18	97,43	99,74	0,00	0,00	0,83	99,28	97,98	99,85
(média) FPR%	2,62	1,27	5,33	0,61	0,00	4,14	2,49	0,55	11,50
SD logito TPR	NA	-	-	-	-	-	NA	NA	NA
SD logito FPR	NA	-	-	-	-	-	NA	NA	NA
correlação	NA	-	-	-	-	-	NA	NA	NA
Modelo aleatório bivariado não convergiu de forma apropriada.									
<i>5D - PCR com guanidina / fervido (10)</i>									

Grupos (N)	ML	limite inferior	limite superior	SD do REff	limite inferior	limite superior	MCMC mediano	limite inferior	limite superior
(média) TPR%	92,75	NA	NA	NA	NA	NA	92,25	69,52	99,08
(média) FPR%	2,68	NA	NA	NA	NA	NA	2,30	0,24	19,12
SD logito TPR	1,96	-	-	-	-	-	2,68	1,76	4,29
SD logito FPR	1,96	-	-	-	-	-	4,18	2,03	7,37
correlação	0,60	-	-	-	-	-	0,66	0,04	0,89

Correlação positiva - NA: valores de ML não estimados com variância comum

5E - PCR com guanidina / não fervido (5)

(média) TPR%	44,11	NA	NA	NA	NA	NA	47,94	11,68	84,41
(média) FPR%	0,24	NA	NA	NA	NA	NA	0,04	0,00	3,90
SD logito TPR	1,96	-	-	-	-	-	2,68	1,76	4,29
SD logito FPR	2,65	-	-	-	-	-	4,18	2,03	7,37
correlação	0,60	-	-	-	-	-	0,66	0,04	0,89

Correlação positiva - NA: valores de ML não estimados com variância comum

5F - PCR sem guanidina / fervido (5)

(média) TPR%	58,31	NA	NA	NA	NA	NA	49,81	11,58	84,41
(média) FPR%	0,07	NA	NA	NA	NA	NA	0,04	0,00	0,92
SD logitp TPR	1,96	-	-	-	-	-	2,68	1,76	4,29
SD logitp FPR	2,65	-	-	-	-	-	4,18	2,03	7,37
correlação	0,60	-	-	-	-	-	0,66	0,04	0,89

Correlação positiva - NA: valores de ML não estimados com variância comum

(): número de testes em cada grupo; MCMC: Cadeias de Markov via simulação de Monte Carlo; FPR: taxa de falso positivo ou 1-Especificidade; limite superior e inferior: limites do intervalo de confiança de 95%; ML: Máxima verossimilhança; REff: efeito aleatório; SD: desvio padrão; TPR: taxa de verdadeiro positivo ou Sensibilidade.

3.1.4.3 Achados

Muitos dados não disponíveis sobre as características clínicas e a descrição da amostra nos 185 testes estudados não estavam disponíveis (tabelas 1, 2 e 3). Somente 20 (10,8%) testes especificaram o período de recrutamento, 31 (16,7%) especificaram a proporção de crianças na amostra, 28 (15,1%) especificaram a distribuição do sexo, e 32 (17,2%) especificaram a amplitude da idade. Em 69 testes (37,1%) não foi possível determinar se havia doadores de sangue na amostra, em 163 (87,6%) e 167 (89,8%) não foi possível determinar se foram incluídas pessoas habitando em área rural ou área urbana respectivamente; em 26 (14,0%) a amostra foi exclusivamente composta por doadores de sangue, e em apenas 21 testes (11,3%) havia informação sobre características clínicas dos pacientes como envolvimento cardíaco ou digestivo da doença. Em 31 (16,7%) foi relatada a submissão do estudo a algum comitê de ética .

Oitenta e uma investigações foram conduzidas no Brasil, 24 na Argentina e as restante foram conduzidas em outros países latino-americanos, EUA e Espanha. Em 9 (4,8%) não foi possível determinar aonde o protocolo fora conduzido.

Quanto ao grupo ELISA, dois testes foram desenvolvidos com tecnologia de fita (teste rápido); em 76 (46,1%) testes não foi possível especificar como o ponto de corte foi calculado, e em apenas 11 (6,7%) o ponto de corte foi calculado considerando-se tanto a distribuição de resultados de doentes como a dos não doentes; em 143 (86,7%) não foi possível especificar a amplitude de resultados inconclusivos; em 110 (66,7%) o valor do ponto de corte não foi especificado.

No grupo do ELISA convencional, a cepa de *T. cruzi* utilizada para extração de antígenos não foi especificada em 68 (58,2%) testes e em todos os testes comerciais essa informação não estava disponível; em 59 (50,7%) testes a forma evolutiva do *T. cruzi* utilizada como fonte dos antígenos não foi especificada, e em 65 (56,0%) não houve especificação quanto à purificação do antígeno.

De todos os 186 testes avaliados, somente 60 (32,4%) especificaram se eram comercialmente disponíveis. Destes, 3 (5,0%) foram classificados como fase 1, 49 (81,7%) como fase 2 e somente 8 (13,3%) classificados como fase 3.

Quanto à PCR (tabela 3), um protocolo especificou a coleta de 3 amostras de sangue de cada paciente, quatro não informaram a quantidade de amostras coletadas e o restante coletou 1 amostra. O volume coletado em cada amostra variou entre 1 ml e 15ml; seis estudos não informaram condições de armazenamento e nenhum informou o tempo entre a coleta das amostras e a extração de DNA. Dez trabalhos informaram adição de guanidina e fervura antes da extração de DNA, cinco adicionaram guanidina e não ferveram, cinco não adicionaram nem ferveram a amostra antes da extração de DNA, e um estudo não havia informação sobre adição de guanidina e fervura. O volume de extração variou entre 100 µl e 500 µl e dois estudos não informaram volume de extração. Dezoito estudos utilizaram fenol-clorofórmio, dois utilizaram kits comerciais e um não informou o procedimento para extração de DNA; onze não informaram procedimento para controle de inibição; oito estudos não informaram procedimento para controle de contaminação; apenas três trabalhos informaram sensibilidade analítica do método. Quatorze utilizaram oligonucleotídios para K-DNA, quatro utilizaram oligonucleotídios para ns-DNA; dezesseis utilizaram protocolo de PCR regular, três utilizaram PCR com hibridização, um utilizou PCR aninhado e um utilizou PCR em tempo-real mais aninhado; temperatura de anelamento variou entre 55° e 66° C. Todos as PCR foram classificados como *in-house* e sete diferentes combinações de oligonucleotídios foram utilizadas.

A heterogeneidade em cada um dos três testes (ELISA, ELISA-rec e PCR) foi bastante elevada. (tabela 4) Em nenhum dos subgrupos explorados a heterogeneidade foi totalmente explicada. Não foi detectado o efeito de ponto de corte nos três testes, o que torna a estimação da HSROC, bem como as suas comparações, não apropriadas.

No grupo ELISA, os testes que relataram avaliação mascarada do teste de referência (QUADAS 11 = Sim) apresentaram heterogeneidade moderada na sensibilidade, elevada na especificidade e pouca evidência de heterogeneidade na DOR. Um efeito de ponto de corte foi encontrado neste grupo (tabela 5) e HSROC foi considerada apropriada (figura 3). Para este grupo, a sensibilidade e especificidade sumária foram, respectivamente, 97,7% e 96,3% (tabela 5).

Cinco ELISA comerciais foram classificados como fase 3 (figura 4) e, apesar da heterogeneidade elevada na sensibilidade e especificidade, esta foi moderada em DOR.(tabela 4) Neste grupo, a sensibilidade e a especificidade sumárias foram, respectivamente, de 94,3% e 99,9% (tabela 5).

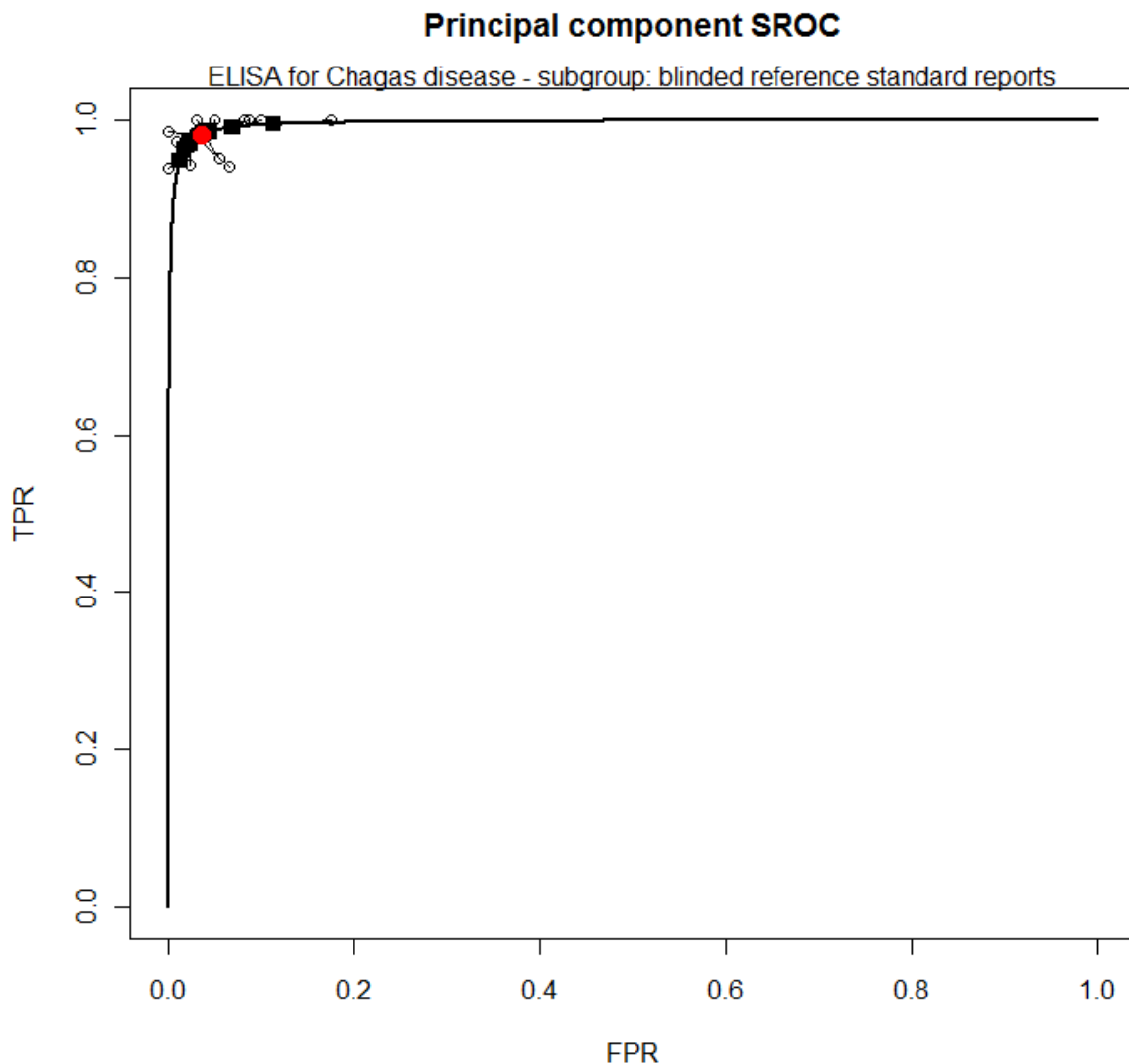


Figura 3: HSROC do teste ELISA com avaliação mascarada do teste de referência.

De forma semelhante ao grupo ELISA, a heterogeneidade foi bastante elevada no teste ELISA-rec. (tabela 4) Neste grupo, apenas 3 testes comerciais foram classificados como fase 3. (figura 5) Os testes ELISA-rec comerciais estudados em fase 3 apresentaram elevada heterogeneidade na especificidade, pouca evidência de heterogeneidade na sensibilidade e DOR. O efeito de ponto de corte não foi estimado devido a dificuldades de convergência do modelo HSROC e, por isso, foi considerado não apropriado. As estimativas sumárias de sensibilidade e especificidade para este grupo foram 99,2% e 97,5%, respectivamente. (tabela 5)

A análise de um subgrupo de testes ELISA comerciais (regulares e recombinantes)

Figura 5: Gráficos em floresta para sensibilidade (A), especificidade (B) e DOR (C) de testes ELISA comerciais com antígenos recombinantes estudados em fase 3.

investigados em fase 3, que utilizaram somente voluntários doadores de sangue, mostrou que apenas seis investigações preencheram estes critérios, que a heterogeneidade foi elevada nas três medidas e o efeito de ponto de corte não foi detectado.

A PCR possui uma sensibilidade aquém da desejada (provavelmente entre 50% e 90%) e especificidade bastante elevada (próxima a 100%). A heterogeneidade também foi bastante elevada neste teste e nenhuma variável explorada foi capaz de explicá-la. Isto significa que, de todos os dados disponíveis, nenhuma característica da PCR foi capaz de explicar as diferenças de sua performance, portanto a estimativa de medidas sumárias por qualquer característica (como por diferentes regiões alvo no DNA) foi considerada como inadequada. No entanto, o efeito de ponto de corte foi detectado em subgrupos compostos por duas variáveis: testes com amostras armazenadas com guanidina e fervidas antes de processadas, armazenadas em guanidina e não fervidas antes de processadas, e amostras não armazenadas em guanidina e não fervidas antes de processadas. Nestes grupos, a heterogeneidade ainda

permaneceu na maioria das medidas sumárias (tabela 4).

Aparentemente, o grupo “armazenado em guanidina e fervido” apresenta melhor performance (tabela 5), com sensibilidade e especificidade de 92,25 e 97,7%, respectivamente, enquanto os outros dois grupos apresentam sensibilidade sumária próxima de 50% e especificidade próxima de 100%. No entanto, a curva HSROC (figura 6), mostra que a performance do grupo “com guanidina e amostra fervida” é praticamente idêntica à do grupo “sem guanidina e não fervida”, enquanto a performance do grupo “com guanidina e não fervida” é menor que a dos dois grupos anteriores. (figura 6) Ainda, visualmente, estes três testes apresentam uma área sob a curva menor quando comparada à do ELISA. (figura 3)

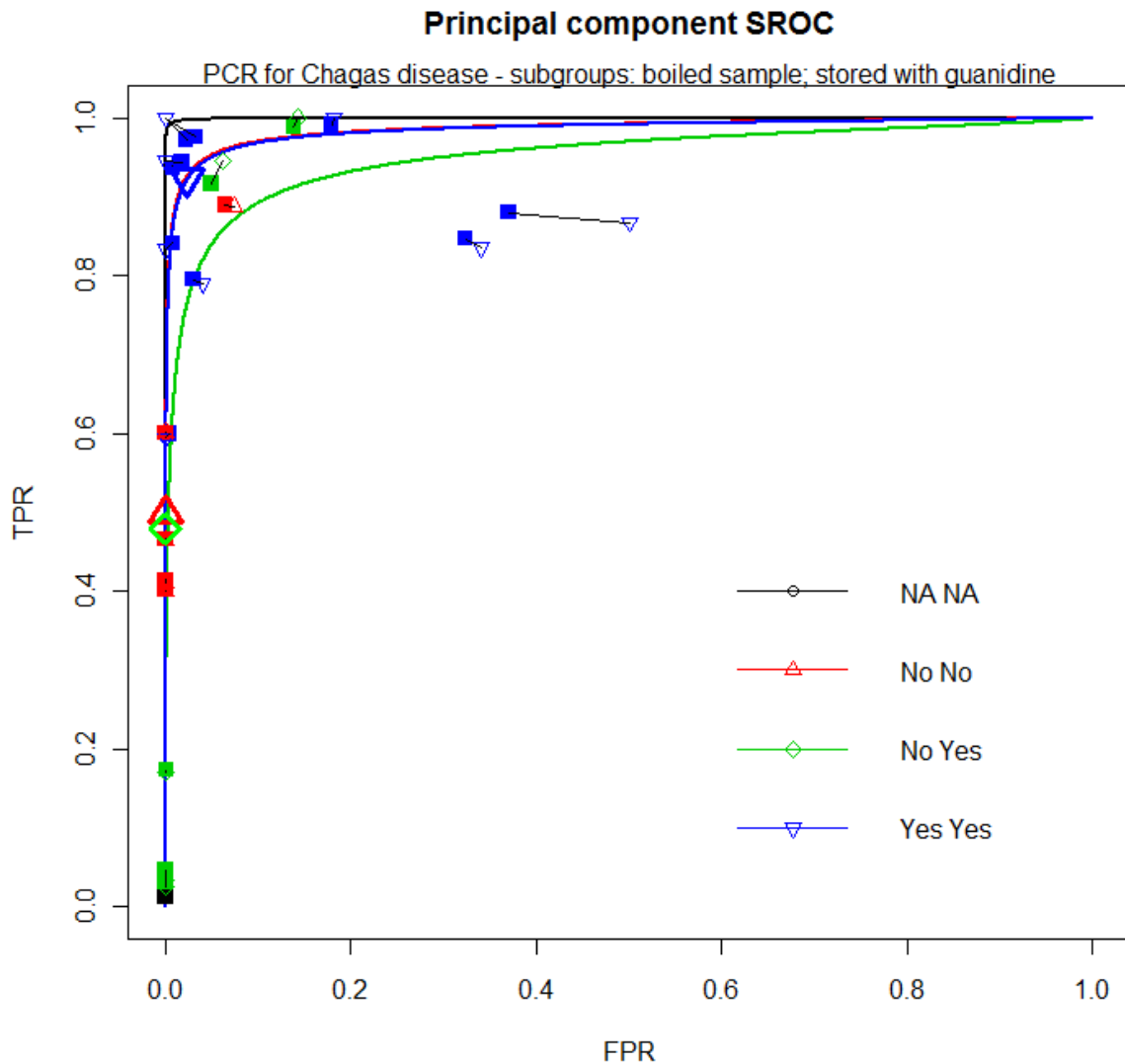


Figura 6: HSROC para diferentes protocolos de PCR para doença de Chagas: com guanidina e fervido (azul - ▽), com guanidina e não fervido (losango verde - ◇) e sem guanidina e não fervido (vermelho - ▲).

Na literatura de diagnóstico de doença de Chagas, há um certo consenso de que a confiabilidade dos testes sorológicos está aquém do desejado, no entanto, esta revisão foi capaz de identificar que apenas 7 investigações apresentaram algum resultado de confiabilidade e, em todas elas, as estimativas se apresentaram aceitáveis (tabelas 1 e 2) e a confiabilidade da PCR nunca fora formalmente investigada.

3.1.5 Discussão

Ao iniciar a revisão, havia interesse em investigações fase 3 de testes comercialmente disponíveis. Acredita-se que os testes estudados em fase 3 possuem resultados mais diretamente aplicáveis e os testes comerciais são mais facilmente disponíveis para o uso na prática clínica. No entanto, a tentativa de incluir relatórios técnicos de testes comercialmente disponíveis não foi muito bem sucedida, dado que somente um relatório não publicado foi encontrado, e aparentemente, há testes comerciais que não possuem relatórios técnicos ou estes não são acessíveis.

Os regulamentos brasileiros recentes dizem que produtos ou dispositivos médicos não necessitam de relatório técnico para registro se estes são utilizados *in vitro* – como escarro, sangue e urina – apesar de serem intimamente relacionados com a decisão médica. Independentemente das possíveis razões pelas quais as agências regulatórias não exigem relatórios técnicos de testes diagnósticos, essa indisponibilidade torna a real capacidade de discriminação destes testes desconhecida para os médicos que os utilizam na prática clínica.

No campo de diagnóstico de doença de Chagas há uma distância considerável entre a produção acadêmica, interesses dos fabricantes e prática clínica por conta de algumas percepções durante a revisão, tais como os poucos trabalhos classificados como fase 3, poucas investigações patrocinadas por fabricantes, os relatórios publicados principalmente em revistas de parasitologia e imunologia, e a ausência de monografias e relatórios técnicos dos produtos comerciais, bem como a ausência de informações ser consideravelmente maior no grupo de testes comerciais.

A qualidade da metodologia nos estudos originais foi avaliada através do QUADAS. Um leitor cuidadoso do QUADAS perceberá que este foi desenvolvido para avaliar investigações inseridas num cenário mais clínico, como as investigações fase 3. Muitos pontos, como a descrição do teste de referência, a descrição dos critérios de inclusão e exclusão, e o mascaramento são provavelmente menos importantes na fase 2 do que na fase 3. Por isso, o uso do QUADAS pode dar uma impressão forte sobre qualidade ruim desta revisão, dado que a maioria das investigações incluídas foram classificadas como fase 2.

A impressão, em geral, da qualidade da metodologia das investigações incluídas nesta revisão foi que a qualidade ruim dos relatórios se mistura com a qualidade ruim das investigações, na maioria dos casos. Essa impressão vem da quantidade de “incerteza” na

avaliação pelo QUADAS, e também da quantidade de informação indisponível sobre a amostra e sobre a descrição dos testes. Mesmo entre as investigações classificadas como fase 3, poucas parecem tentar seguir as recomendações mais atuais para formatação de relatórios.(131)

Os testes sorológicos para doença de Chagas crônica foram raramente estudados em investigações fase 3 com amostra exclusivamente composta por doadores de sangue. Apesar de o rastreamento ocorrer em situação diferente daquela do diagnóstico na prática clínica, os mesmos testes são utilizados e por isso os mesmos problemas são encontrados, como a elevada heterogeneidade e a ausência do efeito de ponto de corte. A informação sobre o ponto de corte utilizado nos testes poderia ser particularmente relevante para os bancos de sangue porque a variação do ponto de corte pode ser o modo mais simples de melhorar a acurácia ou a sensibilidade do teste. No entanto, nenhum dos estudos fase 3 que utilizaram exclusivamente doadores de sangue como voluntários descreveu os pontos de corte utilizados.

Os testes ELISA apresentam resultados em densidades óticas, apresentadas como uma escala contínua. No entanto, nenhuma das investigações apresentou a área sob a curva ROC (que é considerada uma medida de acurácia independente do ponto do corte), e poucas investigações utilizaram estratégias para estimar bons pontos de corte considerando a distribuição dos sujeitos com e sem doença de Chagas, como a maximização do índice de Youden. A maioria dos pontos de corte especificados, quando especificados, foi estimada com estratégias como “média dos controles negativos mais dois desvios padrões”, que podem maximizar a especificidade, mas ignoram completamente a sensibilidade.

É conhecido que, à semelhança de outros agentes infecciosos, há diferenças de circulação de cepas em diferentes áreas geográficas na América Latina.(132) Autores da Colômbia,(98,133) Peru,(134) e México(92) demonstraram que testes comerciais apresentam performances piores quando comparados a testes *in-house* elaborados com antígenos a partir de cepas de *T. cruzi* locais. Há algumas investigações multicêntricas incluídas nesta revisão, porém a ausência de informação sobre fonte geográfica dos antígenos ou análises estratificadas por centro de estudo impediu a exploração desse aspecto como fonte de heterogeneidade.

Investigadores na área de diagnóstico de Chagas repetidas vezes afirmaram que os testes sorológicos possuem uma confiabilidade aquém do desejado, baseada em kappas imperfeitos estimados a partir de comparações de diferentes testes ou laboratórios.(22-

25,76,94,98,135) Então, há uma diferença de conceitos quando se comparam os conceitos de confiabilidade da literatura de diagnóstico em doença de Chagas e de confiabilidade em estatística em geral(136) ou com a literatura de métodos em testes diagnósticos.(131) Nestas, a variabilidade de um instrumento é medida pela quantidade de variação que surge durante a operação do dispositivo ou sistema, como as medidas de laboratório. Outros termos para esta forma de variação incluem imprecisão, reprodutibilidade, variação analítica ou ruído analítico e as vezes calibração.(137) Já que esta revisão não encontrou variação intra teste elevada nos trabalhos de ELISA, a afirmação de que a confiabilidade do ELISA é aquém do desejado não parece apropriada.

Aparentemente não há um único protocolo para PCR totalmente aceito para o diagnóstico, dado que nenhum dos testes encontrados na literatura utiliza protocolos idênticos. Isso indica que a PCR para o *T. cruzi* é difícil de ser padronizada e que possivelmente todos os protocolos utilizados são suscetíveis a diferentes tipos de erro. A maioria dos protocolos encontrados ainda utilizou fenol-clorofórmio para extração de DNA ao invés de *kits* comerciais.(tabela 3) O fenol-clorofórmio possui limitações quanto à biossegurança e não é mais recomendado para uso em rotinas de laboratório de patologia clínica ou em hospitais.

Ainda, os oligonucleotídeos para alvos no K-DNA foram os mais frequentemente utilizados. Apesar de esses oligonucleotídeos anelarem em regiões conservadas do K-DNA, a região amplificada é considerada hipervariável,(138) levando a variações dos tamanhos dos produtos. Um potencial problema com o K-DNA, que fora pouco investigado até o momento, é que a sequência de anelamento dos oligonucleotídeos é conservada em toda a ordem Kinetoplastida.(138) No entanto, uma análise de alinhamento de sequência (GeneBank: www.ncbi.nlm.nih.gov – número de acesso: L28038.1) dos oligonucleotídeos “121” e “122” que os comparou à região homóloga do *T. rangeli* evidenciou que estes oligonucleotídeos não amplificam de forma eficiente este alvo da espécie, dada uma diferença no 3' terminal do oligonucleotídeo; portanto, a possibilidade de amplificação inesperada de *T. rangeli* é remota.

Alguns autores afirmam que não há vantagem evidente e que há algumas desvantagens na adição de guanidina sobre o EDTA antes da extração de DNA.(139,140) Em ambientes hospitalares em que as amostras podem ser processadas e seu DNA extraído no mesmo dia, talvez a adição de guanidina não seja mais necessária. A fervura da amostra antes da extração do DNA também é bastante citada na literatura. Já foi demonstrado que a fervura da amostra

por 15 minutos rompe as cadeias dos mini-círculos do K-DNA, facilitando, assim, uma distribuição homogênea das moléculas do mini-círculo no volume tratado com Guanidina-EDTA e melhorando o anelamento dos oligonucleotídios. Este procedimento permitiria o processamento de pequenos volumes com alta sensibilidade analítica. No entanto, esta revisão não apresentou evidências de que o procedimento incrementa a performance da PCR.

O sucesso da PCR depende da quantidade de parasitos circulantes na corrente sanguínea do paciente. O *T. cruzi* circula em quantidades muito pequenas na fase crônica e a dinâmica de sua circulação não é previsível.(141,142) É possível que, mesmo que o paciente esteja infectado, a amostra coletada do paciente não tenha uma quantidade razoável de DNA do parasito, o que leva a um teste com resultado negativo ou indetectável. Uma possível solução para esta limitação seria a coleta de amostras seriadas em diferentes momentos(126) ou o incremento do volume por teste.

Há evidências na literatura de que o *T. cruzi* é capaz de inserir parte de seu K-DNA no genoma do hospedeiro.(143-145) Apesar de esse fenômeno ser descrito como um elemento importante na fisiopatologia da doença,(143) não é possível afirmar que tal processo interfira na circulação do parasito na corrente sanguínea, nem na resposta imunológica contra o parasito. Não há evidências de que a inserção interfira no diagnóstico sorológico ou molecular até o momento. No entanto, seria possível incrementar a performance da PCR com a utilização de oligonucleotídios que teriam como alvo regiões de DNA do parasito inseridas no genoma do hospedeiro, ou com uma combinação destes com oligonucleotídios para parasitos circulantes na corrente sanguínea, assumindo que os falsos negativos na PCR são explicados pela ausência de parasitos circulantes na corrente sanguínea do hospedeiro.

Apesar de esta revisão não ter a pretensão de avaliar qualquer teste para verificação de cura pelo tratamento tripanocida para doença de Chagas, em literatura recente sobre este tema há discussão sobre técnicas da PCR para detectar o desfecho parasitológico dos tratamentos, principalmente PCR em tempo-real.(146,147) Isto é reflexo do fato de que marcadores sorológicos e progressão clínica da doença podem levar décadas para serem observados em estudos clínicos e por isso são pouco eficientes para caracterizar desfecho do tratamento tripanocida. No entanto, esta revisão não encontrou evidência de que as PCR sejam adequadas para corretamente identificar os sujeitos com doença de Chagas. Talvez a PCR seja uma ferramenta adequada para detecção de desfecho de terapia, mas isso permanecerá para ser avaliado em estudos prospectivos no futuro.

Em 2007, o Programa Especial de Treinamento em doenças Tropicais (TDR) lançou uma iniciativa internacional multicêntrica para padronização de procedimentos para PCR com um painel de amostras. Estes resultados foram analisados em uma oficina com especialistas em que se formularam recomendações na realização da PCR para *T. cruzi*. Essas podem ser acessadas em <http://apps.who.int/tdr/svc/publications/tdrnews/issue-82/meeting-chagas>. No entanto, a utilidade clínica deste novo protocolo ainda está por ser avaliada.

Uma possível limitação das investigações de diagnóstico de Chagas em geral é a definição de teste de referência. Na prática clínica e em investigações, os testes sorológicos são utilizados como diagnóstico definitivo. Assim, na ausência de outros testes aceitáveis, os estudos de diagnósticos podem parecer cíclicos quando as performances de ELISA são estimadas com a referência em testes ELISA de outros fabricantes ou laboratórios, individualmente ou em combinação com outras metodologias. Em teoria, esta comparação de testes muito semelhantes levaria a uma superestimação da performance dos testes em estudo. No entanto, esta questão fundamental somente terá novas perspectivas com o surgimento de novas tecnologias que possam ser tão promissoras quanto o ELISA.

3.1.6 Limitações da revisão

As principais limitações desta revisão são: (a) incapacidade de encontrar relatórios técnicos de testes comercialmente disponíveis, portanto esta revisão pode não representar todos os testes ELISA ou pode apresentar resultados com viés, (b) estimativas sumárias foram apresentadas a partir de grupos selecionados nos quais a heterogeneidade foi parcialmente explicada, portanto, a interpretação dos resultados é menos direta quando comparada com resultados em que a heterogeneidade não foi detectada.

A qualidade dos textos originais influencia na qualidade de uma revisão sistemática que os inclui. É provável que outros itens não explorados nesta revisão possam explicar a heterogeneidade observada. Exemplos destes itens são: o período de coleta de dados; a proporção de crianças na amostra; a distribuição do sexo nas amostras; idade; a proveniência dos voluntários de área rural ou urbana; a origem geográfica dos voluntários; a apresentação clínica dos voluntários; a geração do ELISA; os métodos de preparação dos antígenos,

tampões ou marcas das placas utilizadas; os tipos de anticorpos utilizados; a forma pela qual os pontos de corte foram estimados; a amplitude de resultados indeterminados; a forma evolutiva do *T. cruzi* utilizada como fonte de antígenos; a área geográfica das cepas ou tipo de cepa utilizada como fonte de antígeno; os procedimentos de controle de inibição e contaminação das PCR; o tempo entre data de coleta e extração do DNA; as condições de manutenção das amostras; as marcas de polimerase; os tipos de técnicas de hibridização (colorimétrica ou radioativa); e a variação de oligonucleotídeos.

Muitas destas características não foram exploradas como fonte de heterogeneidade devido às investigações originais que não as relataram, ou não foram exploradas porque a análise de sensibilidade tornou-se impraticável devido a quantidade de grupos formados ou grupos com apenas um estudo.

3.1.7 Conclusões

As performances do ELISA e ELISA-rec são boas. A confiabilidade do ELISA e ELISA-rec se apresentam em níveis aceitáveis, apesar de serem pouco estudadas. Esses achados levam à conclusão que as recomendações de utilização de dois testes sorológicos baseiam-se tanto em desconfiança para recomendar o diagnóstico com apenas um único teste sorológico, que muito ocasionalmente falhará, quanto em um equívoco do conceito de confiabilidade de testes diagnósticos. O ELISA e o ELISA-rec poderiam ser utilizados individualmente para o diagnóstico de doença de Chagas crônica, com a ressalva de que há testes comerciais disponíveis cujos relatórios técnicos não foram acessados por esta revisão, portanto, não foram incluídos e suas performances são desconhecidas.

Os resultados da PCR são menos conclusivos que os do ELISA e, por isso, de mais difícil interpretação. Além da forte evidência de heterogeneidade, apenas uma investigação foi classificada como fase 3. Atualmente, a performance da PCR é aquém do desejado e sua confiabilidade nunca foi caracterizada. A comparação visual da área sob a curva ROC do ELISA e da PCR indica que o ELISA apresenta melhor acurácia do que a PCR. Atualmente, a PCR não deve ser considerada uma ferramenta para o diagnóstico de doença de Chagas crônica na prática clínica.

3.1.8 Considerações finais

Há uma quantidade considerável de investigações abordando o diagnóstico de doença de Chagas crônica desde 1980; no entanto, pouco conhecimento chegou à prática clínica com os padrões atualmente recomendados até 2009. Ainda são necessárias investigações fase 3 e relatórios mais detalhados dos testes comerciais, que devem seguir os formatos padronizados,(131) sempre explicitar algumas questões, como a confiabilidade do teste (concordância intra teste), a ocorrência de mascaramento do teste em estudo e teste de referência, a estratégia de seleção de voluntários (principalmente se esta fora baseada na suspeita clínica), descrição clara das características clínicas da amostra, o ponto de corte utilizado, a amplitude de resultados inconclusivos, a forma pela qual estes foram estimados e pontos chave dos protocolos dos testes (como cepas utilizadas no desenvolvimento dos antígenos ou as cepas representadas no caso teste recombinante e purificação do antígeno). As agências regulatórias dariam um grande passo se os relatórios técnicos fossem exigidos para registro de testes diagnósticos e estivessem disponíveis para o público.

Além da qualidade dos relatórios e do delineamento da investigação diagnóstica, há pontos que poderiam ser abordados para melhorar esses testes, no futuro. Os testes sorológicos poderiam possuir um conjunto de antígenos crus ou recombinantes capazes de detectar igualmente cepas de *T. cruzi* de distintas áreas geográficas para que apresentassem performances semelhantes em pacientes de naturalidades diversas. O desenvolvimento e o aperfeiçoamento de testes rápidos ou portáteis poderiam ser muito úteis, já que a maioria dos pacientes carentes de diagnóstico pode ainda estar em áreas rurais onde o acesso aos serviços de saúde é precário. Ainda, uma maior compreensão da fisiopatologia da doença de Chagas deve ajudar no desenvolvimento de novos testes que objetivam à detecção de anticorpos.

Quanto à PCR, há muito mais a realizar como linha de investigação. Devem ser encorajados tanto a incorporação de técnicas modernas já utilizadas em PCR para outras doenças (e.g. HIV, HBV e tuberculose), como os conjuntos comerciais de extração de DNA ou técnicas em tempo-real, e ainda outras técnicas que tornem a PCR mais automatizada. Da mesma forma, devem ser encorajadas as pesquisas em sequências de DNA atualizadas para a

elaboração de novos oligonucleotídios, a utilização de múltiplos oligonucleotídios (incluindo PCR multiplex), e oligonucleotídios para alvos do DNA do parasito inserido no genoma do hospedeiro. Talvez seja possível incrementar a sensibilidade da PCR pelo aumento do número de amostras coletadas de cada paciente e por sua interpretação em paralelo.

3.1.9 Referências

1. Moncayo A, Silveira AC. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104 Suppl 1:17-30.
2. Bern C, Montgomery SP, Herwaldt BL, Rassi Jr A, Marin-Neto JA, Dantas RO, et al. Evaluation and treatment of chagas disease in the United States: A systematic review. Journal of the American Medical Association. 2007;298(18):2171-2181.
3. Le Loup G, Lescure FX, Develoux M, Pialoux G. Chagas disease: clinical aspects and treatment in non-endemic countries. Presse Med. 2009;38(11):1654-66.
4. Wendel S, Gonzaga AL. Chagas' disease and blood transfusion: A new world problem? Vox Sanguinis. 1993;1(64):1-12.
5. Steele LS, MacPherson DW, Kim J, Keystone JS, Gushulak BD. The sero-prevalence of antibodies to *Trypanosoma cruzi* in Latin American refugees and immigrants to Canada. J Immigr Minor Health. 2007;9(1):43-7.
6. Lane DJ, Sher GA, Ward B, Ndao M, Leiby D, Hewlet B, et al. Investigation of the second case of transfusion transmitted chagas disease in Canada. Blood [Internet]. 2000;96(11 PART I). Disponível em: <http://www.scopus.com/scopus/inward/record.url?eid=2-s2.0-0038008300&partnerID=40&rel=R6.5.0>
7. Jackson Y, Chappuis F, Loutan L. Chagas disease in Switzerland: Managing an emerging infection and interrupting its transmission. Rev Med Suisse. 2008;4(157):1212-1217.
8. Enemark H, Seiboek MB, Kirchhoff LV, Jensen GB. Chronic Chagas' disease - An echo from youth. Ugeskrift for Laeger. 2000;162(18):2567-2569.
9. Frank M, Hegenscheid B, Janitschke K, Weinke T. Prevalence and epidemiological significance of *Trypanosoma cruzi* infection among Latin American immigrants in Berlin, Germany. Infection. 1997;25(6):355.
10. Ochs DE, Hnilica VS, Moser DR, Smith JH, Kirchhoff LV. Postmortem diagnosis of

autochthonous acute chagasic myocarditis by polymerase chain reaction amplification of a species-specific DNA sequence of *Trypanosoma cruzi*. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1996;54(5):526.

11. Nabity MB, Barnhart K, Logan KS, Santos RL, Kessel A, Melmed C, et al. An atypical case of *Trypanosoma cruzi* infection in a young English Mastiff. Vet. Parasitol. 2006;140(3-4):356.
12. Young C, Losikoff P, Chawla A, Glasser L, Forman E. Transfusion-acquired *Trypanosoma cruzi* infection. Transfusion. 2007;47(3):540.
13. Florian Sanz F, Gomez Navarro C, Castrillo Garcia N, Pedrote Martinez A, Lage Galle E. Chagasic cardiomyopathy in Spain: A diagnosis to bear in mind. [Spanish]. Anales de Medicina Interna. 2005;11(22):538-540.
14. Riera C, Guarro A, El Kassab H, Jorba JM, Castro M, Angrill R, et al. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in Europe (Spain): A case report. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2006;75(6):1078.
15. [Brazilian Consensus on Chagas disease]. Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical. 2005;38 Suppl 3:7-29.
16. El Salvador - Ministerio de la Salud Publica y Assitencia Social. Norma Técnica de Prevención y Control de la Enfermedad de Chagas [Internet]. PAHO; 2007. Disponible em: <http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/dch-els-normas.pdf>
17. Guías clínicas de la enfermedad de Chagas. Parte V - Diagnóstico de Laboratorio. Rev. chil. infectol. 2008;25(5):379-383-379-383.
18. Gascon J. [Diagnosis and treatment of imported Chagas disease]. Med Clin (Barc). 2005;125(6):230-5.
19. WHO. Control of Chagas disease: second report of WHO expert committee [Internet]. Brasilia: 2002. Disponible em: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_905.pdf
20. Blood donor screening for chagas disease--United States, 2006-2007. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2007;56(7):141-3.
21. Castro E. Chagas' disease: lessons from routine donation testing. Transfusion Medicine. 2009;19(1):16-23.
22. Umezawa ES, Bastos SF, Camargo ME, Yamauchi LM, Santos MR, Gonzalez A, et al. Evaluation of recombinant antigens for serodiagnosis of Chagas' disease in south and central America. J. Clin. Microbiol. 1999;37(5):1554.
23. Peralta JM, Teixeira MG, Shreffler WG, Pereira JB, Burns JM, Sleath PR, et al. Serodiagnosis of Chagas' disease by enzyme-linked immunosorbent assay using two synthetic peptides as antigens. J Clin Microbiol. 1994;32(4):971-4.

24. Lorca M, Child R, Garcia A, Silva M, Martinez L, Jerez G, et al. Assessment Of Commercial Kits Used For Chagas-Disease Detection In Blood-Banks.2. Routine Application. *Rev. Medica Chile*. 1994;122(8):925.
25. Knecher LM, Rojkin LF, Capriotti GA, Lorenzo LE. Chagas' disease screening in blood bank employing enzyme immunoassay. *International Journal for Parasitology*. 1994;2(24):207-211.
26. Chiamonte MG, Frank FM, Furer GM, Taranto NJ, Margni RA, Malchiodi EL. Polymerase chain reaction reveals *Trypanosoma cruzi* infection suspected by serology in cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis patients. *Acta Trop*. 1999;72(3):295.
27. Chiamonte MG, Zwirner NW, Caropresi SL, Heredia V, Taranto NJ, Malchiodi EL. Human leishmaniasis infection in the province of Salta. Evidence of mixed infection with *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania spp*. *Med.-Buenos Aires*. 1996;56(3):259.
28. Corredor Arjona A, Alvarez Moreno CA, Agudelo CA, Bueno M, Lopez MC, Caceres E, et al. Prevalence of *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania chagasi* infection and risk factors in a Colombian indigenous population. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1999;41(4):229-34.
29. Haynes RB, You JJ. The architecture of diagnostic research. In: Knottnerus JA, Buntinx F, organizadores. *The Evidence Based of Clinical Diagnosis - Theory and methods of diagnostic research*. BMJBooks; 2009.
30. Requena JM, Jimenez-Ruiz A, Soto M, Lopez MC, Alonso C. Characterization of a highly repeated interspersed DNA sequence of *Trypanosoma cruzi*: its potential use in diagnosis and strain classification. *Mol Biochem Parasitol*. 1992;51(2):271-80.
31. Sturm NR, Degraeve W, Morel C, Simpson L. Sensitive detection and schizodeme classification of *Trypanosoma cruzi* cells by amplification of kinetoplast minicircle DNA sequences: use in diagnosis of Chagas' disease. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 1989;33(3):205-214.
32. Whiting P, Rutjes AWS, Reitsma JB, Bossuyt PMM, Kleijnen J. The development of QUADAS: A tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Medical Research Methodology*. 2003;3:1-13.
33. Whiting PF, Weswood ME, Rutjes AWS, Reitsma JB, Bossuyt PNM, Kleijnen J. Evaluation of QUADAS, a tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *BMC Medical Research Methodology* [Internet]. 2006;6. Disponible em: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-33645499658&partnerID=40>
34. Leeflang M, Reitsma J, Scholten R, Rutjes A, Di Nisio M, Deeks J, et al. Impact of adjustment for quality on results of metaanalyses of diagnostic accuracy. *Clinical Chemistry*. 2007;53(2):164-172.

35. Westwood ME, Whiting PF, Kleijnen J. How does study quality affect the results of a diagnostic meta-analysis? BMC Medical Research Methodology [Internet]. 2005;5. Disponível em: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-23244463000&partnerID=40>
36. Whiting P, Harbord R, Kleijnen J. No role for quality scores in systematic reviews of diagnostic accuracy studies. BMC Medical Research Methodology [Internet]. 2005;5. Disponível em: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-23944444623&partnerID=40>
37. R Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing [Internet]. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2009. Disponível em: <http://www.R-project.org>
38. Schwarzer G. meta: Meta-Analysis with R [Internet]. 2009. Disponível em: <http://CRAN.R-project.org/package=meta>
39. Chappell FM, Raab GM, Wardlaw JM. When are summary ROC curves appropriate for diagnostic meta-analyses? Statistics in Medicine. 2009;28(21):2653-2668.
40. Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. BMJ. 2003;327(7414):557-560.
41. Portela-Lindoso AA, Shikanai-Yasuda MA. [Chronic Chagas' disease: from xenodiagnosis and hemoculture to polymerase chain reaction]. Rev Saude Publica. 2003;37(1):107-15.
42. da Silveira JF, Umezawa ES, Luquetti AO. Chagas disease: recombinant *Trypanosoma cruzi* antigens for serological diagnosis. Trends Parasitol. 2001;17(6):286-91.
43. Carvalho MR, Krieger MA, Almeida E, Oelemann W, Shikanai-Yassuda MA, Ferreira AW, et al. Chagas' disease diagnosis: evaluation of several tests in blood bank screening. Transfusion. 1993;33(10):830-4.
44. Krautz GM, Peterson JD, Godsel LM, Krettli AU, Engman DM. Human antibody responses to *Trypanosoma cruzi* 70-kD heat-shock proteins. Am J Trop Med Hyg. 1998;58(2):137-43.
45. Betonico GN, Miranda EO, Silva DA, Houghton R, Reed SG, Campos-Neto A, et al. Evaluation of a synthetic tripeptide as antigen for detection of IgM and IgG antibodies to *Trypanosoma cruzi* in serum samples from patients with Chagas disease or viral diseases. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1999;93(6):603-6.
46. Houghton RL, Benson DR, Reynolds LD, McNeill PD, Sleath PR, Lodes MJ, et al. A multi-epitope synthetic peptide and recombinant protein for the detection of antibodies to *Trypanosoma cruzi* in radioimmunoprecipitation-confirmed and consensus-positive sera. J Infect Dis. 1999;179(5):1226-34.

47. Ferreira AW, Belem ZR, Lemos EA, Reed SG, Campos-Neto A. Enzyme-linked immunosorbent assay for serological diagnosis of Chagas' disease employing a *Trypanosoma cruzi* recombinant antigen that consists of four different peptides. *J Clin Microbiol.* 2001;39(12):4390-5.
48. Gadelha AA, Vercosa AF, Lorena VM, Nakazawa M, Carvalho AB, Souza WV, et al. Chagas' disease diagnosis: comparative analysis of recombinant ELISA with conventional ELISA and the haemagglutination test. *Vox Sang.* 2003;85(3):165-70.
49. Umezawa ES, Bastos SF, Coura JR, Levin MJ, Gonzalez A, Rangel-Aldao R, et al. An improved serodiagnostic test for Chagas' disease employing a mixture of *Trypanosoma cruzi* recombinant antigens. *Transfusion.* 2003;43(1):91.
50. Umezawa ES, Luquetti AO, Levitus G, Ponce C, Ponce E, Henriquez D, et al. Serodiagnosis of chronic and acute Chagas' disease with *Trypanosoma cruzi* recombinant proteins: Results of a collaborative study in six Latin American countries. *J. Clin. Microbiol.* 2004;42(1):449.
51. Pirard M, Iihoshi N, Boelaert M, Basanta P, Lopez F, Van der Stuyft P. The validity of serologic tests for *Trypanosoma cruzi* and the effectiveness of transfusional screening strategies in a hyperendemic region. *Transfusion.* 2005;45(4):554.
52. Caballero ZC, Sousa OE, Marques WP, Saez-Alquezar A, Umezawa ES. Evaluation of serological tests to identify *Trypanosoma cruzi* infection in humans and determine cross-reactivity with *Trypanosoma rangeli* and *Leishmania spp.* *Clinical And Vaccine Immunology.* 2007;14(8):1045.
53. Fuchs AP, Fioratti VL, de Mello VA, Boainain E. [Serological diagnosis of Chagas' disease. Comparative study of various technics]. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1980;22(5):242-5.
54. Spencer HC, Allain DS, Sulzer AJ, Collins WE. Evaluation of the micro enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies to *Trypanosoma cruzi*. *Am J Trop Med Hyg.* 1980;29(2):179-82.
55. Kahn T, Corral R, Freilij H, Grinstein S. Detection of circulating immune complexes, antigens and antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay in human *T. cruzi* infection. *IRCS Medical Science.* 1983;11(7):670.
56. Magnaval JF, Brochier B, Charlet JP, Gonzaga Dos Santos L, Larrouy G. [Screening for Chagas disease by immunoenzymology: comparison of ELISA with immunofluorescence and indirect hemagglutination in 976 blood donors]. *Rev Fr Transfus Immunohematol.* 1985;28(3):201-13.
57. Schechter M, Luquetti AO, Rezende JM, Rassi A, Miles MA. Further evaluation of lectin affinity purified glycoprotein (Gp90) in the enzyme linked immunosorbent-assay (ELISA) for diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1985;79(5):637.

58. Gonzalez J, Araya J, Olivares H, Sagua H. [ELISA reaction for the diagnosis of South American trypanosomiasis. Limit absorbances for reacting and non-reacting sera]. *Bol Chil Parasitol*. 1986;41(1-2):21-6.
59. Castilla MM, Santos-Gomez M, Guzman-Bracho C, Bautista-Garfias CR. A new method for diagnosis of Chagas' disease: diffusion-in-gel enzyme-linked immunosorbent assay. *J Parasitol*. 1988;74(5):805-9.
60. De Hubsch RM, Chiechie N, Comach G, Rangel Aldao R, Gusmao RD. [Immunoenzyme assay using micro Dot on nitrocellulose (Dot-ELISA) in the diagnosis of Chagas' disease. I. Comparative study of 2 antigenic preparations of *Trypanosoma cruzi*]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1988;83(3):277-85.
61. Carbonetto CH, Malchiodi EL, Chiaramonte MG, Zwirner NW, Margni RA. Detection of anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies by ELISA and dot-immunobinding assay with formalinized epimastigotes. *Revista Argentina de Microbiologia*. 1989;21(2):79-83.
62. Monteon VM, Sosa T, Reyes PA. Serological tests for American trypanosomiasis. A comparative study. *Revista Latinoamericana de Microbiologia*. 1989;31(1):35-38.
63. Zicker F, Smith PG, Luquetti AO, Oliveira OS. Mass screening for *Trypanosoma cruzi* infections using the immunofluorescence, ELISA and haemagglutination tests on serum samples and on blood eluates from filter-paper. *Bull World Health Organ*. 1990;68(4):465-71.
64. Figueredo-Silva J, Kaneda Y, Tachibana H, Furushima R, Tateno S, Correia-Lima FG, et al. Epidemiological survey of *Trypanosoma cruzi* infection in north-eastern Brazil using different diagnostic methods. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1991;33(3):193-8.
65. Requejo HI, Nakamura PM, Vaz AJ, Pialarissi CS, Hoshino-Shimizu S, Matsumoto TK, et al. Diffusion-in-gel enzyme-linked immunosorbent assay (DIG-ELISA) for Chagas' disease serodiagnosis. *Braz J Med Biol Res*. 1991;24(5):471-83.
66. Contreras MC, Salinas P, Sandoval L, Solis F, Rojas A. [Usefulness of the ELISA-IgG test in sera and filter paper blood eluates in the Chagas disease immunodiagnosis]. *Bol Chil Parasitol*. 1992;47(3-4):76-81.
67. Lorca M, Child R, Garcia A, Silva M, Osorio J, Atias A. Evaluation Of Commercially Available Reagents For Diagnosis Of Chagas-Disease In Blood-Banks. *Rev. Medica Chile*. 1992;120(4):420.
68. Pan AA, Rosenberg GB, Hurley MK, Schock GJ, Chu VP, Aiyappa A. Clinical evaluation of an EIA for the sensitive and specific detection of serum antibody to *Trypanosoma cruzi* (Chagas' disease). *The Journal of Infectious Diseases*. 1992;165(3):585-8.
69. Petray P, Bonardello N, Clark R, Agranatti M, Corral R, Grinstein S. ELISA technique

- for detection of *Trypanosoma cruzi* circulating antigens and immune-complexes in San-Luis, Argentina. *Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo*. 1992;34(2):141.
70. Schattschneider W, Lopes ER, De Alencar JE, Bienzle U, Feldmeier H. A comparative study of four serological methods for diagnosis of acute and chronic Chagas' disease in Brazilian patients. *Trop Geogr Med*. 1992;44(3):210-8.
 71. Ramos-Echevarria AA, Monteon-Padilla VM, Reyes-Lopez PA. [Detection of antibodies against *Trypanosoma cruzi* in blood donors]. *Salud Publica Mex*. 1993;35(1):56-64.
 72. Lissaldo AM, Hoshino-Shimizu S, Umezawa ES, Stolf AM. Alkaline soluble *Trypanosoma cruzi* epimastigote antigen (ASEA) applied to Dot-ELISA. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1994;36(2):163-6.
 73. Teixeira MDGM, Borges-Pereira J, Peralta J. Evaluation of sorological tests applied for the detection of *Trypanosoma cruzi* infection. *Rev. bras. patol. clín*. 1994;Array(Array):133-9.
 74. Machado-Coelho GL, Vitor RW, Chiari Cde A, Antunes CM. Validity of serology for American trypanosomiasis with eluates from filter paper. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1995;90(1):59-64.
 75. Solana ME, Katzin AM, Umezawa ES, Miatello CS. High specificity of *Trypanosoma cruzi* epimastigote ribonucleoprotein as antigen in serodiagnosis of Chagas' disease. *Journal of Clinical Microbiology*. 1995;6(33):1456-1460.
 76. Tambourgi DV, Cavinato RA, De Abreu CM, Peres BA, Kipnis TL. Detection of *Trypanosoma*-decay accelerating factor antibodies in mice and humans infected with *Trypanosoma cruzi*. *Am J Trop Med Hyg*. 1995;52(6):516-20.
 77. Winkler MA, Brashear RJ, Hall HJ, Schur JD, Pan AA. Detection of antibodies to *Trypanosoma cruzi* among blood-donors in the southwestern and western United-States.2. Evaluation of a supplemental enzyme-immunoassay and radioimmunoprecipitation assay for confirmation of seroreactivity. *Transfusion*. 1995;35(3):219.
 78. Avila JL, Rojas M, Avila A. Cholesterol sulphate-reactive autoantibodies are specifically increased in chronic chagasic human patients. *Clinical and Experimental Immunology*. 1996;1(103):40-46.
 79. Corral RS, Altchek J, Alexandre SR, Grinstein S, Freilij H, Katzin AM. Detection and characterization of antigens in urine of patients with acute, congenital, and chronic Chagas' disease. *J. Clin. Microbiol*. 1996;34(8):1957.
 80. Almeida IC, Covas DT, Soussumi LM, Travassos LR. A highly sensitive and specific chemiluminescent enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of active *Trypanosoma cruzi* infection. *Transfusion*. 1997;37(8):850-7.

81. Aznar C, Liegeard P, Mariette C, Lafon S, Levin MJ, Hontebeyrie M. A simple *Trypanosoma cruzi* enzyme-linked immunoassay for control of human infection in nonendemic areas. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 1997;18(1):31.
82. Hamerschlak N, Pasternak J, Amato Neto V, de Carvalho MB, Guerra CS, Coscina AL, et al. Chagas' disease: an algorithm for donor screening and positive donor counseling. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1997;30(3):205-9.
83. Monteon VM, Guzman-Rojas L, Negrete-Garcia C, Rosales-Encina JL, Lopez PA. Serodiagnosis of American trypanosomiasis by using nonpathogenic trypanosomatid antigen. *J Clin Microbiol.* 1997;35(12):3316-9.
84. Alberti Amador E, Fachado Carvajales A, Montalvo AM, Izquierdo Perez LA, Fonte Galindo L. [Cysteine-dependent protease in *Trypanosoma cruzi* useful for the diagnosis of Chagas disease]. *Rev Cubana Med Trop.* 1998;50(1):75-81.
85. Oelemann WM, Teixeira MD, Verissimo Da Costa GC, Borges-Pereira J, De Castro JA, Coura JR, et al. Evaluation of three commercial enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of Chagas' disease. *J Clin Microbiol.* 1998;36(9):2423-7.
86. Partel CD, Rossi CL. A rapid, quantitative enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the immunodiagnosis of Chagas' disease. *Immunol. Invest.* 1998;27(1-2):89.
87. Pinho RT, Pedrosa RC, Costa-Martins P, Castello-Branco LRR. Saliva ELISA: a method for the diagnosis of chronic Chagas disease in endemic areas. *Acta Trop.* 1999;72(1):31.
88. Leiby DA, Wendel S, Takaoka DT, Fachini RM, Oliveira LC, Tibbals MA. Serologic testing for *Trypanosoma cruzi*: Comparison of radioimmunoprecipitation assay with commercially available indirect immunofluorescence assay, indirect hemagglutination assay, and enzyme-linked immunosorbent assay kits. *J. Clin. Microbiol.* 2000;38(2):639.
89. Palacios X, Belli A, Espino AM. [Detection of antibodies against *Trypanosoma cruzi* in Somoto, Nicaragua, using indirect ELISA and IFI on blood samples on filter paper]. *Rev Panam Salud Publica.* 2000;8(6):411-7.
90. Pereira VR, Nakazawa M, Furtado VC, Abath FG, Gomes YM. Immunodiagnosis of chronic Chagas' disease using the Tc 46 and Tc 58 antigens. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2000;33(4):367-70.
91. Nakazawa M, Rosa DS, Pereira VR, Moura MO, Furtado VC, Souza WV, et al. Excretory-secretory antigens of *Trypanosoma cruzi* are potentially useful for serodiagnosis of chronic Chagas' disease. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001;8(5):1024-7.
92. Sanchez B, Monteon V, Reyes PA, Espinoza B. Standardization of micro-enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and Western blot for detection of *Trypanosoma cruzi* antibodies using extracts from Mexican strains as antigens. *Arch. Med. Res.*

2001;32(5):382.

93. Umezawa ES, Nascimento MS, Stolf AM. Enzyme-linked immunosorbent assay with *Trypanosoma cruzi* excreted-secreted antigens (TESA-ELISA) for serodiagnosis of acute and chronic Chagas' disease. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2001;39(3):169-76.
94. Cannova D, Aguilar CM, Pacheco M, Simons MI, Medina M. Validation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and indirect hemagglutination (IHA) for serodiagnosis of chagas' disease. [Spanish]. *Salus.* 2002;3(6):4-9.
95. Marcipar IS, Welchen E, Roodveldt C, Marcipar AJ, Silber AM. Purification of the 67-kDa lectin-like glycoprotein of *Trypanosoma cruzi*, LLGP-67, and its evaluation as a relevant antigen for the diagnosis of human infection. *FEMS Microbiol Lett.* 2003;220(1):149-54.
96. Arrieta R, Daquino B, Rosso N, Ferreras MG, Juarez N. Evaluation of a screening method for Chagas disease in San Luis, Argentina. *Salud Publica Mexico.* 2004;46(5):430.
97. Berrizbietia M, Ndao M, Gottschalk M, Ache A, Vasquez F, Lacouture S, et al. Development and comparison of enzyme immunoassays for diagnosis of Chagas' disease using fixed forms of *Trypanosoma cruzi* (epimastigotes, amastigotes, and trypomastigotes) and assessment of antigen stability for the three assays. *J. Clin. Microbiol.* 2004;42(4):1766.
98. Enciso C, Montilla M, Santacruz MM, Nicholls RS, Rodriguez A, Mercado M, et al. [Comparison of the indirect immunofluorescent (IFAT), ELISA test and the comercial Chagatek test for anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies detection.]. *Biomedica.* 2004;24(1):104-8.
99. Moretti E, Basso B, Gil P, Vaca B, Jacqueline J, Yasenzaniro P. Detection of antibodies to *Trypanosoma cruzi* and *Toxoplasma gondii* in oral mucosal transudate. *Acta Bioquim. Clin. Latinoam.* 2004;38(2):159.
100. Berrizbeitia M, Ndao M, Bubis J, Gottschalk M, Ache A, Lacouture S, et al. Purified excreted-secreted antigens from *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes as tools for diagnosis of Chagas' disease. *J. Clin. Microbiol.* 2006;44(2):291.
101. Duarte AMV, Andrade HMD, Monte SJHD, Toledo VDPCPD, Guimarães TMPD. Assessment of chemiluminescence and PCR effectiveness in relation to conventional serological tests for the diagnosis of Chagas' disease. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2006;39(4):385.
102. Kirchhoff LV, Paredes P, Lomeli-Guerrero A, Paredes-Espinoza M, Ron-Guerrero CS, Delgado-Mejia M, et al. Transfusion-associated Chagas disease (American trypanosomiasis) in Mexico: implications for transfusion medicine in the United States. *Transfusion.* 2006;46(2):298.

103. Malan AK, Avelar E, Litwin SE, Hill HR, Litwin CM. Serological diagnosis of *Trypanosoma cruzi*: evaluation of three enzyme immunoassays and an indirect immunofluorescent assay. *J. Med. Microbiol.* 2006;55(2):171.
104. Tobler LH, Contestable P, Pitina L, Groth H, Shaffer S, Blackburn GR, et al. Evaluation of a new enzyme-linked immunosorbent assay for detection of Chagas antibody in US blood donors. *Transfusion.* 2007;47(1):90.
105. Gorlin J, Rossmann S, Robertson G, Stallone F, Hirschler N, Nguyen KA, et al. Evaluation of a new *Trypanosoma cruzi* antibody assay for blood donor screening. *Transfusion.* 2008;48(3):531-540.
106. Almeida E, Krieger MA, Carvalho MR, Oelemann W, Goldenberg S. Use of recombinant antigens for the diagnosis of Chagas disease and blood bank screening. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1990;85(4):513-7.
107. dos Santos CN, Krieger MA, Almeida E, Lafaille JJ, Goldenberg S, Galler R. *Trypanosoma cruzi* flagellar repetitive antigen expression by recombinant baculovirus: towards an improved diagnostic reagent for Chagas' disease. *Biotechnology (N Y).* 1992;10(11):1474-7.
108. Cetron MS, Hoff R, Kahn S, Eisen H, Van Voorhis WC. Evaluation of recombinant trypomastigote surface antigens of *Trypanosoma cruzi* in screening sera from a population in rural northeastern Brazil endemic for Chagas' disease. *Acta Trop.* 1992;50(3):259-66.
109. Breniere SF, Yaksic N, Telleria J, Bosseno MF, Noireau F, Wincker P, et al. Immune response to *Trypanosoma cruzi* shed acute phase antigen in children from an endemic area for Chagas' disease in Bolivia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 1997;92(4):503.
110. Meira WS, Galvao LM, Gontijo ED, Machado-Coelho GL, Norris KA, Chiari E. *Trypanosoma cruzi* recombinant complement regulatory protein: a novel antigen for use in an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of Chagas' disease. *J Clin Microbiol.* 2002;40(10):3735-40.
111. Marcipar IS, Olivares ML, Robles L, Dekanty A, Marcipar A, Silber AM. The diagnostic performance of recombinant *Trypanosoma cruzi* ribosomal P2 beta protein is influenced by its expression system. *Protein Expr. Purif.* 2004;34(1):1.
112. Marcipar IS, Roodveldt C, Corradi G, Cabeza ML, Brito ME, Winter LM, et al. Use of full-length recombinant calflagin and its c fragment for improvement of diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. *J Clin Microbiol.* 2005;43(11):5498-503.
113. Hernandez Marin M, Hernandez Spengler I, Ramos Martinez G, Pozo Pena L. Chimeric synthetic peptides as antigens for detection of antibodies to *Trypanosoma cruzi*. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;339(1):89-92.
114. Chang CD, Cheng KY, Jiang LX, Salbilla VA, Haller AS, Yem AW, et al. Evaluation of a

- prototype *Trypanosoma cruzi* antibody assay with recombinant antigens on a fully automated chemiluminescence analyzer for blood donor screening. *Transfusion*. 2006;46(10):1737.
115. Gomes YM, Pereira VR, Nakazawa M, Rosa DS, Barros MD, Ferreira AG, et al. Serodiagnosis of chronic Chagas infection by using EIE-Recombinant-Chagas-Biomanguinhos kit. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2001;96(4):497-501.
 116. Pastini AC, Iglesias SR, Carricarte VC, Guerin ME, Sanchez DO, Frasch AC. Immunoassay with recombinant *Trypanosoma cruzi* antigens potentially useful for screening donated blood and diagnosing Chagas disease. *Clin. Chem*. 1994;40(10):1893.
 117. Duarte AM, de Andrade HM, do Monte SJ, de Toledo Vde P, Guimaraes TM. Assessment of chemiluminescence and PCR effectiveness in relation to conventional serological tests for the diagnosis of Chagas' disease. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2006;39(4):385-7.
 118. Avila HA, Pereira JB, Thiemann O, De Paiva E, DeGrave W, Morel CM, et al. Detection of *Trypanosoma cruzi* in blood specimens of chronic chagasic patients by polymerase chain reaction amplification of kinetoplast minicircle DNA: comparison with serology and xenodiagnosis. *J Clin Microbiol*. 1993;31(9):2421-6.
 119. Wincker P, Britto C, Pereira JB, Cardoso MA, Oelemann W, Morel CM. Use of a simplified polymerase chain reaction procedure to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples from chronic chagasic patients in a rural endemic area. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1994;6(51):771-777.
 120. Britto C, Cardoso MA, Monteiro Vanni CM, Hasslocher-Moreno A, Xavier SS, Oelemann W, et al. Polymerase chain reaction detection of *Trypanosoma cruzi* in human blood samples as a tool for diagnosis and treatment evaluation. *Parasitology*. 1995;110(3):241.
 121. Espinoza AG, Taibi A, Billaut-Mulot O, Ouaisi A. PCR-based detection of *Trypanosoma cruzi* useful for specific diagnosis of human Chagas' disease [2]. *Journal of Clinical Microbiology*. 1996;34(2):485.
 122. Wincker P, Telleria J, Bosseno MF, Cardoso MA, Marques P, Yaksic N, et al. PCR-based diagnosis for Chagas' disease in Bolivian children living in an active transmission area: Comparison with conventional serological and parasitological diagnosis. *Parasitology*. 1997;114:367.
 123. Carriazo CS, Sembaj A, Aguerri AM, Requena JM, Alonso C, Bua J, et al. Polymerase chain reaction procedure to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples from chronic chagasic patients. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*. 1998;30(3):183.
 124. Gomes ML, Galvao LM, Macedo AM, Pena SD, Chiari E. Chagas' disease diagnosis: comparative analysis of parasitologic, molecular, and serologic methods. *Am J Trop Med Hyg*. 1999;60(2):205-10.

125. Ribeiro-Dos-Santos G, Nishiya AS, Sabino EC, Chamone DF, Sa?ez-Alque?zar A. An improved, PCR-based strategy for the detection of *Trypanosoma cruzi* in human blood samples. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. 1999;93(7):689.
126. Castro AM, Luquetti AO, Rassi A, Rassi GG, Chiari E, Galvao LM. Blood culture and polymerase chain reaction for the diagnosis of the chronic phase of human infection with *Trypanosoma cruzi*. *Parasitol Res*. 2002;88(10):894-900.
127. Piron M, Fisa R, Casamitjana N, Lopez-Chejade P, Puig L, Verges M, et al. Development of a real-time PCR assay for *Trypanosoma cruzi* detection in blood samples. *Acta Trop*. 2007;103(3):195-200.
128. Gil J, Pavia P, Montilla M, Florez AC, Quintero C, Mercado M, et al. [Comparison of a PCR test based on the histone H2A/SIRE genes with classical serological tests for the diagnosis of chronic Chagas disease in Colombian patients]. *Biomedica*. 2007;27 Suppl 1:83-91.
129. Fitzwater S, Calderon M, Lafuente C, Galdos-Cardenas G, Ferrufino L, Verastegui M, et al. Polymerase chain reaction for chronic *Trypanosoma cruzi* infection yields higher sensitivity in blood clot than buffy coat or whole blood specimens. *Am J Trop Med Hyg*. 2008;79(5):768-70.
130. Junqueira AC, Chiari E, Wincker P. Comparison of the polymerase chain reaction with two classical parasitological methods for the diagnosis of Chagas disease in an endemic region of north-eastern Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1996;90(2):129-32.
131. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig LM, et al. Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy: The STARD initiative. *British Medical Journal*. 2003;326(7379):41-44.
132. Who, how, what and where? *Nature*. 465(n7301_supp):S8-S9.
133. Bucio MI, Cabrera M, Segura EL, Zenteno E, Salazar-Schettino M. Identification of immunodominant antigens in Mexican strains of *Trypanosoma cruzi*. *Immunol Invest*. 1999;28(4):257-68.
134. Verani JR, Seitz A, Gilman RH, LaFuente C, Galdos-Cardenas G, Kawai V, et al. Geographic variation in the sensitivity of recombinant antigen-based rapid tests for chronic *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg*. 2009;80(3):410-5.
135. Monteon VM, Guzman-Bracho C, Floriani-Verdugo J, Ramos-Echevarria A, Velasco-Castrejon O, Reyes PA. [Serological diagnosis of Chagas disease: self-sufficiency and interlaboratory concordance]. *Salud Publica Mex*. 1995;37(3):232-5.
136. Wikipedia. Reliability (statistics) [Internet]. 2009 Dez 9;Disponível em: http://en.wikipedia.org/wiki/Reliability_%28statistics%29

137. Irwig LM, Bossuyt PMM, Glasziou PP, Gatsonis C, Lijmer JG. Designing studies to ensure that estimates of test accuracy will travel. In: Knottnerus JA, Buntinx F, organizadores. *The Evidence Based of Clinical Diagnosis - Theory and methods of diagnostic research*. BMJBooks; 2009.
138. Barker DC. Kinetoplast Minicircle Sequence Database [Internet]. 1999 Dez 8;Disponível em: <http://www.ebi.ac.uk/parasites/kDNA/Source.html>
139. Coronado X, Ortiz S, Lastra O, Larrondo M, Rozas M, Solari A. Instability of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood lysates: importance for PCR DNA-based diagnosis. *Mol Diagn*. 2005;9(1):35-40.
140. Dorn PL, Selgean S, Guillot M. Simplified method for preservation and polymerase chain reaction-amplification of *Trypanosoma cruzi* DNA in human blood. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1997;92(2):253-5.
141. Castro C, Macêdo V, Prata A. Comportamento da parasitemia pelo *Trypanosoma cruzi* em chagásicos crônicos durante 13 anos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* [Internet]. 1999;32(2). Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0037-86821999000200007&script=sci_arttext&tlng=pt
142. Castro C, Prata A. Absence of both circadian rhythm and *Trypanosoma cruzi* periodicity with xenodiagnosis in chronic chagasic individuals. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* [Internet]. 2000;33(5). Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0037-86822000000500003&script=sci_arttext&tlng=en
143. Simões-Barbosa A, Barros AM, Nitz N, Argañaraz ER, Teixeira AR. Integration of *Trypanosoma cruzi* kDNA minicircle sequence in the host genome may be associated with autoimmune serum factors in Chagas disease patients. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 1999;94 Suppl 1:249-252.
144. Nitz N, Gomes C, de Cássia Rosa A, D'Souza-Ault MR, Moreno F, Lauria-Pires L, et al. Heritable integration of kDNA minicircle sequences from *Trypanosoma cruzi* into the avian genome: insights into human Chagas disease. *Cell*. 2004;118(2):175-186.
145. Hecht MM, Nitz N, Araujo PF, Sousa AO, Rosa ADC, Gomes DA, et al. Inheritance of DNA transferred from American trypanosomes to human hosts. *PLoS ONE*. 2010;5(2):e9181.
146. Britto C, Cardoso A, Silveira C, Macedo V, Fernandes O. Polymerase chain reaction (PCR) as a laboratory tool for the evaluation of the parasitological cure in Chagas disease after specific treatment. *Med.-Buenos Aires*. 1999;59:176.
147. Duffy T, Bisio M, Altchek J, Burgos JM, Diez M, Levin MJ, et al. Accurate real-time PCR strategy for monitoring bloodstream parasitic loads in chagas disease patients. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;3(4):e419.

3.2 Artigo 2 – O meu paciente tem doença de Chagas crônica? Desenvolvimento de um modelo de predição clínica.

3.2.1 Resumo

Em diferentes diretrizes para doença de Chagas crônica há diferentes algoritmos de diagnóstico sorológico. No entanto, há poucas referências quanto aos pacientes que devem ser submetidos a investigação sorológica. O objetivo do presente trabalho foi desenvolver um modelo de predição clínica para doença de Chagas crônica. Esta investigação foi conduzida no IPEC – FIOCRUZ, no Rio de Janeiro, e delineada como estudo transversal. Pacientes sob suspeita de doença de Chagas foram recrutados sequencialmente. Como teste de referência foram utilizados resultados de dois testes sorológicos realizados em paralelo. Diversos elementos de história de exposição, história de outras patologias, história familiar, sintomas, e achados de exames complementares foram explorados como potenciais preditores. A confiabilidade estimada para cada preditor em potencial foi utilizada como critério de pré-seleção dos preditores. O modelo de predição foi explorado através de uma regressão logística que sofreu calibração e validação interna e através de uma árvore de decisão de inferência condicional. Foram incluídos 352 pacientes e a prevalência da doença de Chagas foi de 20,74%. Os preditores que compuseram o modelo final foram: referenciamento por banco de sangue, número de irmãos com doença de Chagas, presença de BRD 3º grau ao ECG, presença de EV isolada ao ECG, relato de ter habitado em área rural, presença de BDAS ao ECG, cardiomegalia à radiografia de tórax, ausência de hipertensão arterial, número de parentes com AVE, relato de ter habitado em vivenda de estuque/taipa. Esse modelo apresentou área sob a curva ROC de 0,90. Um modelo de regressão com os cinco preditores mais fortes e o modelo da árvore de decisão apresentaram áreas sob a curva ROC de 0,87 e 0,86 respectivamente. Para recomendação deste modelo como regra de predição é necessário validá-lo externamente.

3.2.2 Introdução

As recomendações vigentes para o diagnóstico da doença de Chagas crônica apresentam algoritmos de execução de testes sorológicos, mas praticamente não há recomendações sobre os sujeitos que devem ser submetidos às sorologias.(1-5) Essa falta de recomendações faz com que o processo de decisão fique baseado na experiência individual e, portanto menos explícito.

Usualmente, a suspeita de doença de Chagas surge após rastreamento reator entre doadores de sangue, após a identificação de doença de Chagas entre familiares ou após avaliação médica com achados complementares considerados típicos de doença de Chagas crônica. No entanto, aproximadamente metade dos pacientes com doença de Chagas apresenta forma indeterminada.(6,7) Eles não apresentam sinais ou sintomas relacionados à infecção e por isso, a avaliação de elementos da história de exposição, história familiar, e achados de exames complementares em conjunto é uma tarefa muitas vezes desafiadora e muito dependente dos testes sorológicos. No caso de suspeita de doença crônica, a imprecisão do relato do paciente também deve ser considerada, dado que a investigação pode ocorrer três ou mais décadas após a infecção.

Com a migração de latino-americanos para outros continentes, foi possível evidenciar casos de doença de Chagas em locais onde a doença não era considerada endêmica.(8-18) Estes pacientes são identificados, tratados e seguidos por profissionais não especializados ou pouco experientes, o que torna a abordagem do processo diagnóstico mais suscetível a dúvidas e erros.

Para gerar melhores evidências sobre os pacientes a serem investigados e para melhorar a investigação diagnóstica, este trabalho se propõe a desenvolver um modelo de predição clínica para a doença de Chagas crônica e estimar a sua performance.

3.2.3 Método

Esta é uma investigação delineada como um estudo diagnóstico de fase 3.(19)

3.2.3.1 Localidade

Este estudo foi conduzido no IPEC – FIOCRUZ onde há atendimento ambulatorial e hospitalar para paciente com diversas doenças infecciosas, incluindo doença de Chagas. O IPEC atua como unidade de diagnóstico e de tratamento para doença de Chagas de todo o estado do Rio de Janeiro. Esta investigação foi avaliada pelo comitê de ética em pesquisa do IPEC e registrada no SISNEP sob o número 0045.0.009.000-07.

3.2.3.2 Recrutamento, critérios de inclusão e exclusão

Os voluntários foram selecionados sequencialmente no período entre 04 de abril de 2008 e 31 de maio de 2010, quando se apresentaram no IPEC a partir de demanda espontânea ou referenciada por hemocentros ou outras unidades de saúde do estado do Rio de Janeiro. A todos os pacientes que se apresentaram no IPEC neste período foram aplicados os seguintes critérios de inclusão: (a) estar sob suspeita de doença Chagas crônica e (b) concordar, por escrito, em participar como voluntário. Os seguintes critérios de exclusão foram aplicados: (a) já conhecerem seu diagnóstico de doença de Chagas, (b) por algum motivo, não conseguirem, ou não poderem executar etapas essenciais do protocolo, de acordo com o julgamento do profissional responsável pelo recrutamento, (c) não quererem participar da pesquisa após os esclarecimentos e (d) estarem sob suspeita de doença de Chagas aguda.

3.2.3.3 Preditores

Foram explorados como possíveis preditores para a doença de Chagas crônica elementos que pudessem caracterizar exposição à doença, sintomas ou achados

complementares compatíveis com manifestações da doença, como história de moradia em área rural, relato de ter habitado em vivenda de taipa/estruque, reconhecimento do vetor, história de transfusão ou de doação de sangue, familiares com doença de Chagas, sintomas como disfagia e constipação persistente, bloqueios de ramo ao eletrocardiograma (ECG), e cardiomegalia à radiografia de tórax. (apêndice 1)

3.2.3.4 Teste de referência

Os seguintes testes sorológicos foram utilizados em diferentes períodos para a composição do teste de referência: Wiener lab's ELISA (Rosario – Argentina), Pathozyme Chagas (Escócia – Reino Unido), WAMA's Immuno-con Chagas (São Paulo – Brasil), Biocientífica's Inmunofluor Chagas (Buenos Aires – Argentina). Os pacientes foram classificados como portadores de doença de Chagas através de dois testes sorológicos retores realizados simultaneamente e interpretados em paralelo (sempre um teste ELISA e uma IFI), executados de acordo com as recomendações dos respectivos fabricantes no setor de imunodiagnóstico do IPEC.

Os testes foram interpretados segundo as recomendações do consenso brasileiro em doença de Chagas.(1) Caso houvesse uma combinação de resultados (indeterminados ou discordantes) que levasse a um diagnóstico inicial inconclusivo, amostras subsequentes seriam solicitadas aos pacientes para realização de novas sorologias, até que houvesse esclarecimento definitivo do diagnóstico.

3.2.3.5 Coleta de dados

Quando identificados no setor de triagem, os potenciais voluntários passaram por uma entrevista de recrutamento, quando esclarecimentos sobre a investigação eram fornecidos. Uma vez assinado o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), cada voluntário passava por uma avaliação médica estruturada, planejada antes do início do projeto, registrada

no prontuário. Os testes sorológicos, radiografia e ECG eram solicitados para o voluntário nesta ocasião. No período de execução do protocolo, cada um dos ECG e radiografias foi avaliado por dois diferentes especialistas (por dois cardiologistas e dois radiologistas respectivamente) afim de estimar suas reprodutibilidades. Após um período de 20 a 30 dias, os voluntários retornavam já com os testes complementares realizados. Nesta ocasião, um segundo médico repetia a avaliação médica estruturada e, somente ao final desta avaliação, acessava os resultados dos testes complementares, que eram revelados e entregues para o paciente. Todos estes dados foram registrados no prontuário médico. Durante as avaliações médicas, algumas gravuras do vetor, de habitações de taipa/estruço, do sinal de Romã e de lesões cutâneas de Leishmaniose tegumentar eram mostradas ao paciente. (anexo A) Caso necessário, tratamento e seguimento, bem como orientações pertinentes eram oferecidas. Posteriormente, os dados eram extraídos dos prontuários para os formulários específicos da investigação e informatizados. Todos os procedimentos, testes e avaliações médicas, bem como os testes sorológicos foram realizados de forma mascarada entre si.

3.2.3.6 Plano de análise de dados

Estimou-se confiabilidade de todos os potenciais preditores utilizando-se o Kappa(20) para as medidas categóricas e o coeficiente de correlação e concordância de Lin(21) para as medidas contínuas. Assumiu-se como hipótese nula que o Kappa é igual a 0,4, e foram estimados intervalos de confiança de 95% para o coeficiente de Lin. Para todas as variáveis com confiabilidade aceitável foram estimadas sensibilidade, especificidade e razão de verossimilhança positiva(22) e seus respectivos intervalos de confiança de 95%. Para a estimativa de acurácia bruta dos potenciais preditores, os pacientes cujas respostas foram classificadas como “não se aplica” foram excluídos para esse preditor. Os que responderam “não sabe” foram recodificados como “não”.

Foi realizada uma pré-seleção dos preditores, para sua exploração dentro dos modelos multivariados, que seguiu os seguintes passos: (a) eliminação dos potenciais preditores em que não foi possível rejeitar a hipótese de que o Kappa ou coeficiente de Lin eram iguais a 0,4, (b) eliminação dos potenciais preditores que apresentaram menos de 10 eventos e (c)

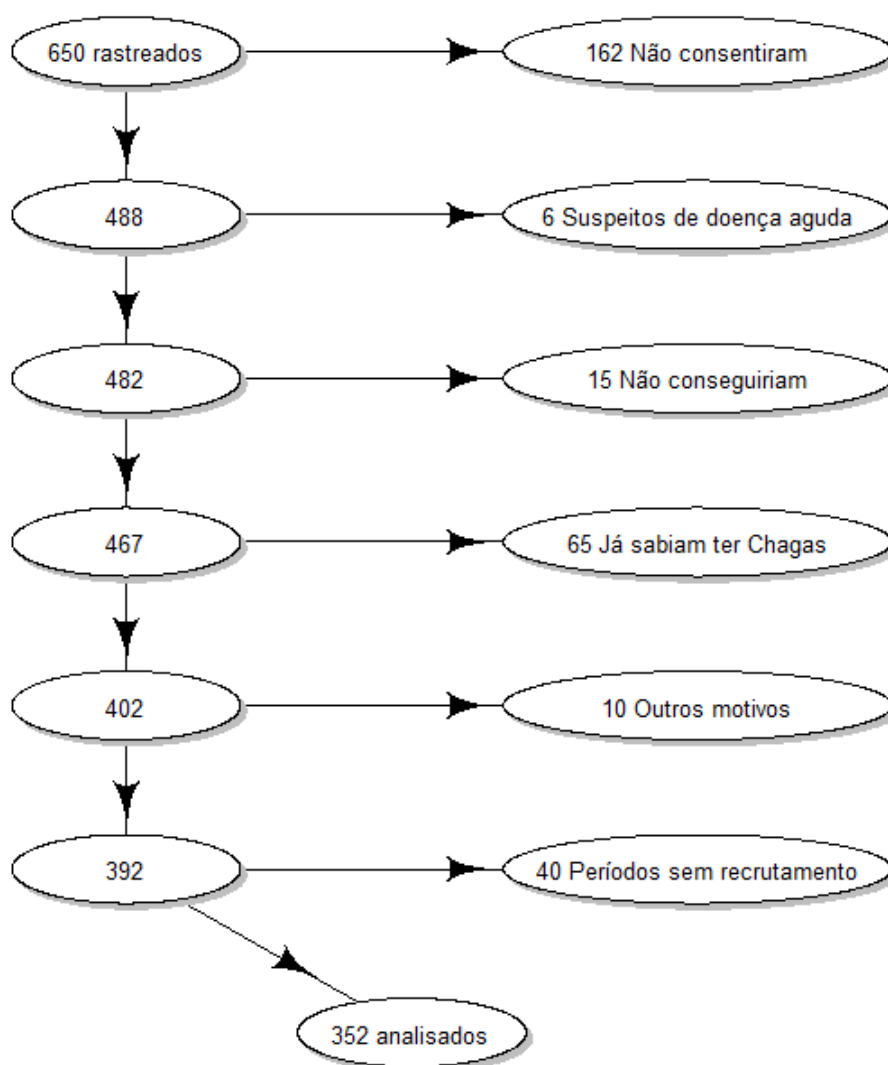
eliminação dos potenciais preditores que apresentaram colinearidade dentro do ajuste do modelo (*Variance Inflation Factors* (VIF) > 10).

A primeira técnica utilizada para elaboração do modelo de predição foi regressão logística.(23) Os preditores foram selecionados a partir da remoção de preditores do modelo cheio para o vazio aplicando-se o critério de Akaike (AIC) nos modelos aninhados em cada uma das 500 amostras do procedimento de *bootstrap*. As variáveis retidas em pelo menos metade das amostras no processo de amostragem foram retidas no modelo final. Também através de procedimento de *bootstrap*, foi estimado o otimismo dos coeficientes para posterior calibração. Uma vez o modelo calibrado, foram estimadas medidas de validade interna para performance de predição, como escore de Brier e a área sob a curva ROC.(23) Como representação de uma regra de predição a partir do modelo, um nomograma foi elaborado.(23)

Foi utilizada também, a técnica de árvores de inferência condicional para construção de uma árvore de decisão.(24) Cada nó da árvore foi selecionado considerando a relação mais forte com o ramo anterior e assim sucessivamente, com valores de p dessas associações ajustados para multiplicidade pelo procedimento de Bonferroni. A adição de novos ramos era interrompida se os valores de p para a associação de qualquer variável explorada para o nó ultrapassassem o limite de 0,10. Para a árvore escolhida, também foi estimada a área sob a curva ROC e escore de Brier. Todas as análises foram realizadas com o programa R,(25) com os pacotes *epibasix*,(26) *epiR*,(27) *DiagnosisMed*,(28) *rms*(29) e *party*.(24)

3.2.4 Resultados

No período de recrutamento foram rastreados 650 pacientes e incluídos 352. O motivo mais comum para exclusão foi a recusa por parte do voluntário. (figura 7) Para todos os voluntários foram aplicados os testes de referência e o conjunto de preditores. No entanto, devido a limitações operacionais, os procedimentos para a estimativa de reprodutibilidade foram interrompidos para a radiografia em dezembro de 2008, e para a avaliação médica em março de 2010. Ao final, havia dados completos de 106 pacientes para estimativa de confiabilidade dos achados radiográficos e de 333 pacientes para estimativa de confiabilidade de dados clínicos. A prevalência da doença de Chagas na amostra foi de 20,74%.



Figura

7: Fluxograma de rastreamento, exclusão e recrutamento de potenciais voluntários.

Os pacientes incluídos são, em sua maioria, naturais do estado Rio de Janeiro, apesar de o estado não ser considerado uma área endêmica. Os estados da Bahia, Paraíba e Minas Gerais também representam naturalidades frequentes dos voluntários. Foram recrutados pacientes naturais do Peru, da Bolívia e dos Estados Unidos da América. (tabela 6)

A maioria dos pacientes foi referenciada por médicos ou outras unidades de saúde. Destes pacientes, mais da metade apresentava algum tipo de acometimento cardíaco que levou à suspeita inicial. O acometimento digestivo e outras justificativas foram muito menos frequentes. (tabela 6) Menos da metade dos pacientes procurou conhecer seu diagnóstico

devido ao diagnóstico de doença de Chagas em familiares ou por apresentarem rastreamento reator em banco de sangue. Uma parcela considerável de pacientes referenciados de bancos de sangue não realizou retestes em segunda amostra no próprio banco de sangue de origem, e muitos desconheciam os resultados dos testes de rastreamento. (tabela 6)

Tabela 6: Descrição da amostra quanto naturalidade, referenciamento e elementos que levam a suspeita de doença de Chagas crônica.

	Sem Chagas (%)	Com Chagas (%)	Total
<i>Naturalidade</i>			
AL	9 (75,0)	3 (25,0)	12 (100)
AM	1 (100,0)	0 (0,0)	1 (100)
BA	28 (51,9)	26 (48,2)	54 (100)
CE	25 (83,3)	5 (16,7)	30 (100)
DF	1 (100,0)	0 (0,0)	1 (100)
ES	9 (100,0)	0 (0,0)	9 (100)
GO	1 (100,0)	0 (0,0)	1 (100)
MA	4 (80,0)	1 (20,0)	5 (100)
MG	39 (82,9)	8 (17,0)	47 (100)
MS	1 (100,0)	0 (0,0)	1 (100)
PA	5 (100,0)	0 (0,0)	5 (100)
PB	41 (77,4)	12 (22,6)	53 (100)
PE	23 (67,7)	11 (32,4)	34 (100)
PI	2 (66,7)	1 (33,3)	3 (100)
PR	1 (100,0)	0 (0,0)	1 (100)
RJ	73 (97,3)	2 (2,7)	75 (100)
RN	3 (75,0)	1 (25,0)	4 (100)
RS	0 (0,0)	1 (100,0)	1 (100)
SE	4 (66,7)	2 (33,3)	6 (100)
SP	4 (100,0)	0 (0,0)	4 (100)
Bolívia	1 (50,0)	1 (50,0)	2 (100)
Peru	1 (100,0)	0 (0,0)	1 (100)
Estados Unidos da América	2 (100,0)	0 (0,0)	2 (100)
<i>Referenciamento ao diagnóstico</i>			
Familiar	83 (85,6)	14 (14,4)	97 (100)
Conta própria	14 (100,0)	0 (0,0)	14 (100)
Médico	146 (83,9)	28 (16,1)	174 (100)
Banco de sangue	30 (48,4)	32 (51,6)	62 (100)

	Sem Chagas (%)	Com Chagas (%)	Total
Outros	5 (100,0)	0 (0,0)	5 (100)
<i>Reteste à doação de sangue</i>			
Sim	16 (39,0)	25 (61,0)	41 (100)
Não	14 (66,7)	7 (33,3)	21 (100)
Não se aplica	248 (85,5)	42 (14,5)	290 (100)
<i>Resultado do reteste</i>			
Positivo	11 (35,5)	20 (64,5)	31 (100)
Negativo	1 (100,0)	0 (0,0)	1 (100)
Indeterminado	1 (100,0)	0 (0,0)	1 (100)
Discordante	1 (100,0)	0 (0,0)	1 (100)
Não se aplica	262 (84,3)	49 (15,8)	311 (100)
Ignorado	2 (28,6)	5 (71,4)	7 (100)
<i>Indicação médica para diagnóstico</i>			
Acometimento cardíaco	72 (78,3)	20 (21,7)	92 (100)
Acometimento do esôfago	26 (92,9)	2 (7,1)	28 (100)
Acometimento do intestino	8 (80,0)	2 (20,0)	10 (100)
Natural de área endêmica	10 (83,3)	2 (16,7)	12 (100)
Outras	8 (100,0)	0 (0,0)	8 (100)
Não se aplica	154 (76,2)	48 (23,8)	202 (100)

3.2.4.1 Confiabilidade

Tabela 8: Confiabilidade de preditores da avaliação médica medidos em escala contínua.

Preditor	CCC de Lin	IC inferior	IC superior
Idade ao atendimento:	0,9957	0,9947	0,9966
Número de irmãos:	0,8292	0,7917	0,8605
Irmãos com (ou falecidos com) doença de Chagas:	0,5530	0,4804	0,6180
Irmãos com (ou falecidos com) doença cardíaca:	0,4068	0,3141	0,4918
Número de parentes (pais ou irmãos) com AVE:	0,4850	0,4053	0,5574
Frequência cardíaca:	0,9420	0,9277	0,9535

CCC - coeficiente de correlação e concordância; IC - intervalo de confiança de 95%.

recebeu transfusão de sangue:	0,9548	0,7454	0,0000
Transfusão antes de 1991:	0,9472	0,7697	0,0000
Doação de sangue anterior:	0,9503	0,8789	0,0000
Rastreamento reator em doação anterior:	0,8882	0,7391	0,0000
Hipertensão arterial sistêmica:	0,8665	0,7475	0,0000
Doença coronariana:	0,8820	0,4509	0,2486
Acidente vascular encefálico:	0,9379	0,3683	0,6168
Leishmaniose no passado:	0,9255	0,1782	0,9777
Doença febril com hepatomegalia:	0,7888	0,0437	1,0000
Doença febril com linfonomegalia:	0,7733	0,1622	1,0000
Passado de miocardite aguda:	0,8012	0,0694	1,0000
Doença febril hemorrágica:	0,9317	0,0259	0,9995
Mãe com doença de Chagas:	0,6615	0,3620	0,7954
Pai com doença de Chagas:	0,6460	0,1984	0,9999
Mãe com doença cardíaca:	0,7484	0,5248	0,0042
Pai com doença cardíaca:	0,7081	0,4187	0,3517
Palpitações:	0,6770	0,3803	0,6650
Síncope nos últimos 3 meses:	0,8719	0,4138	0,4276
Quadro de insuficiência cardíaca:	0,5248	0,1631	1,0000
Medicações para insuficiência cardíaca:	0,8540	0,5360	0,0128
Disfagia durante as refeições:	0,7298	0,3831	0,6226
Sensação de disfagia longe das refeições:	0,8043	0,3635	0,7230
Medicações para disfagia:	0,9503	0,3587	0,6301
Constipação crônica:	0,8261	0,4288	0,3261
Medicação laxante:	0,8851	0,3309	0,7940

p valor - Teste de hipótese para o Kappa onde hipótese nula é Kappa igual a 0,4.

A confiabilidade em geral de diferentes elementos da avaliação médica foi bastante

heterogênea. Alguns elementos que poderiam ser considerados tradicionais na avaliação dos pacientes com doença de Chagas não foram considerados reprodutíveis, como: o reconhecimento do vetor da doença, a infecção por *Leishmania sp.* no passado, e o sinal de Romaña no passado. Além disso, todas as narrações de sinais ou sintomas potencialmente relacionados à forma aguda foram não confiáveis, bem como as narrações de todos os sintomas potencialmente relacionados às formas crônicas e algumas informações sobre patologias entre os familiares. (tabelas 7 e 8) É possível observar que alguns preditores apresentam uma concordância observada relativamente elevada e uma confiabilidade inesperadamente baixa, provavelmente devido a uma quantidade muito pequena de eventos observados, como os preditores: relato de Leishmaniose no passado, baixa voltagem ao ECG, BAV de 1º grau ao ECG, EV monomórfica ou polimórfica, zona eletricamente inativa, ritmo de marca-passo e sinais de congestão a radiografia. (tabelas 7 e 9)

Dada a confiabilidade aceitável, as seguintes informações foram pré-selecionadas para serem exploradas como potenciais preditores: sexo, referenciamento ao diagnóstico, reteste em banco de sangue, resultado do reteste, relato de ter habitado em área rural, relato de ter habitado em vivenda de estuque/taipa, relato de ter recebido transfusão, relato de ter recebido transfusão antes de 1991, relato de doação de sangue no passado, resultado do rastreamento de doações anteriores, diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica, relato da mãe ser portadora de doença cardíaca, uso de medicações para insuficiência cardíaca, idade ao atendimento, número de irmãos, número de irmãos com doença de Chagas, número de irmãos ou progenitores com acidente vascular encefálico. Ainda, as seguintes informações foram pré-selecionadas dos exames complementares dado uma confiabilidade aceitável: frequência cardíaca, ECG sem alterações, bradicardia sinusal, bloqueio de ramo direito (BRD) de 3º grau, bloqueio divisional ântero-superior esquerdo (BDAS); extrassístole ventricular (EV) isolada; bloqueio do ramo esquerdo (BRE) de 3º grau; fibrilação atrial e radiografia com sinais de cardiomegalia.

Tabela 9: Confiabilidade dos preditores dos exames complementares.

Preditor	Concordância observada	Kappa	p valor
ECG normal:	0,8204	0,6244	0,0000
Bradicardia sinusal:	0,8793	0,6572	0,0000
Baixa voltagem:	0,8669	0,2317	0,9838
Arritmia sinusal:	0,8266	0,4546	0,1838
Bloqueio sino-atrial:	0,9907	0,0000	0,8901
Pausa sinusal:	0,9969	0,6653	0,2409
BAV 1 grau:	0,9443	0,4464	0,3351
BAV 2 grau 2:1:	0,9969	0,0000	0,7604
BAV 2 grau Mobitz 1:	0,9938	-0,0016	0,8419
BAV 2 grau Mobitz 2:	0,9969	0,0000	0,7604
BAV total:	0,9907	0,3966	0,5048
BRD 2 grau:	0,8854	0,4104	0,4466
BRD 3 grau:	0,9536	0,6807	0,0013
BDAS:	0,8483	0,5494	0,0050
EV isolada:	0,9598	0,6895	0,0018
EV monomórfica:	0,9443	0,2285	0,9160
EV polimórfica:	0,9969	0,6653	0,2409
BRE 2 grau:	0,9721	0,2936	0,7331
BRE 3 grau:	0,9845	0,7541	0,0074
ZEI:	0,9319	0,1804	0,9700
Fibrilação atrial:	0,9938	0,8304	0,0133
Flutter atrial:	0,9907	-0,0041	0,8908
Alteração de primária de onda T:	0,8638	0,3744	0,6335
Ritmo de MP:	0,9969	0,7985	0,0914
Radiografia com cardiomegalia:	0,9057	0,7658	0,0000
Radiografia com congestão:	0,9623	0,1846	0,8618

BAV – Bloqueio átrio-ventricular; BDAS - bloqueio divisional ântero-superior esquerdo; BRD - bloqueio do ramo direito; BRE - bloqueio do ramo esquerdo; EV - extrassístole ventricular; MP – marca-passo; p valor - Teste de hipótese para o Kappa onde hipótese nula é Kappa igual a 0,4; ZEI – zona elétrica inativa.

3.2.4.2 Acurácia bruta

De todos os preditores pré-selecionados e avaliados quanto a performance bruta individual, apenas três apresentaram estimativas de razão de verossimilhança positiva e seu respectivo limite inferior do intervalo de confiança maior do que 2, quais foram: referenciamento ao diagnóstico por banco de sangue, rastreamento reator em doação anterior, e extrassístole ventricular isolada ao ECG. Outros nove preditores apresentaram potencial tanto para incrementar, quanto para diminuir a probabilidade de identificar a doença de Chagas crônica com razões de verossimilhança positiva entre 1 e 2 ou entre 0,6 e 1, quais foram: relato de ter habitado em área rural, e relato de ter habitado em vivenda de taipa ou estuque, doação de sangue anterior, hipertensão arterial, uso de medicações para insuficiência cardíaca congestiva (ICC), ECG normal; BRD 3º grau, BDAS, e ritmo de marca-passo (MP). O restante dos preditores apresentaram, em geral, sensibilidade muito baixa, especificidade próximo de 50% e razões de verossimilhança positiva, cujos intervalos de confiança contêm o valor um. (tabela 10)

Dentre os potenciais preditores registrados como valores contínuos, dois apresentaram valores da área sob a curva ROC ruins: idade e frequência cardíaca. Os quatro restantes apresentaram valores da área sob a curva ROC modestos: números de irmãos, número de irmãos com doença de Chagas, número de irmãos com cardiopatia (não necessariamente por doença de Chagas) e número de familiares (irmãos e progenitores) com acidente vascular encefálico (AVE). (tabela 11)

Tabela 10: Acurácia não ajustada de preditores da avaliação médica, eletrocardiográfica e radiográfica.

Preditores	Prevalência do preditor	Sensibilidade	Se inferior	Se superior	Especificidade	Sp inferior	Sp superior	RVP	RVP inferior	RVP superior
Sexo Masculino	0,4062	0,3699	0,2682	0,4845	0,5842	0,5256	0,6405	0,8896	0,6751	1,1722
Referenciado por Banco de Sangue	0,1733	0,4247	0,3178	0,5390	0,8925	0,8506	0,9236	3,9493	2,6874	5,8038
Habitou em área rural	0,7244	0,8904	0,7984	0,9434	0,3190	0,2671	0,3758	1,3075	1,1180	1,5292
Habitou em casa de estuque	0,6364	0,8356	0,7343	0,9034	0,4158	0,3595	0,4744	1,4303	1,2007	1,7037
Recebeu transfusão	0,1307	0,1233	0,0662	0,2180	0,8674	0,8226	0,9022	0,9297	0,6367	1,3573
Recebeu transfusão antes 1991	0,6957	0,5556	0,2667	0,8112	0,2703	0,1540	0,4298	0,7613	0,3220	1,7999
Doação de sangue anterior	0,2727	0,1918	0,1178	0,2966	0,7061	0,6501	0,7565	0,6525	0,4808	0,8856
Reator em doação anterior	0,0842	0,3571	0,1634	0,6124	0,9630	0,8967	0,9873	9,6429	2,9334	31,6987
Hipertensão arterial	0,4545	0,3425	0,2439	0,4567	0,5161	0,4577	0,5742	0,7078	0,5318	0,9420
Mãe com cardiopatia	0,2869	0,2329	0,1508	0,3417	0,6989	0,6427	0,7498	0,7735	0,5733	1,0436
Medicações para ICC	0,1506	0,1096	0,0566	0,2016	0,8387	0,7910	0,8772	0,6795	0,4755	0,9710
ECG normal	0,4306	0,3288	0,2319	0,4427	0,5421	0,4828	0,6002	0,7180	0,5394	0,9558
Bradicardia sinusal	0,1734	0,1370	0,0761	0,2341	0,8168	0,7667	0,8582	0,7479	0,5302	1,0551
BRD 3° grau	0,0809	0,1781	0,1071	0,2812	0,9451	0,9113	0,9664	3,2411	1,8954	5,5421
BDAS	0,1532	0,2466	0,1620	0,3564	0,8718	0,8269	0,9064	1,9233	1,3209	2,8004

Preditores	Prevalência do preditor	Sensibilidade	Se inferior	Se superior	Especificidade	Sp inferior	Sp superior	RVP	RVP inferior	RVP superior
EV isolada	0,0665	0,1918	0,1178	0,2966	0,9670	0,9385	0,9826	5,8174	2,9595	11,4349
BRE 3° grau	0,0318	0,0000	0,0000	0,0500	0,9597	0,9293	0,9774	0,0000	0,0000	0,0000
Fibrilação atrial	0,0173	0,0137	0,0024	0,0736	0,9817	0,9579	0,9922	0,7479	0,3046	1,8367
Ritmo de MP	0,0087	0,0274	0,0075	0,0945	0,9963	0,9795	0,9994	7,4795	1,0436	53,6036
Cardiomegalia à radiografia	0,1842	0,2329	0,1508	0,3417	0,8290	0,7794	0,8693	1,3618	0,9660	1,9198

BDAS - bloqueio divisional ântero-superior esquerdo; BRD - bloqueio do ramo direito; BRE - bloqueio do ramo esquerdo; EV - extrassístole ventricular; inferior e superior - limites do intervalo de confiança de 95%; ICC – insuficiência cardíaca congestiva; MP – marca-passo; Se - sensibilidade; Sp - especificidade; RVP - razão de verossimilhança positiva.

Tabela 11: Acurácia bruta dos preditores da avaliação médica registrados em escala contínua.

Preditores	AUC inferior	AUC	AUC superior
Idade	0,4805	0,5341	0,5876
Número de irmãos	0,5726	0,6133	0,6541
Irmãos com doença de Chagas	0,6094	0,6308	0,6521
Irmãos com cardiopatia	0,5163	0,5406	0,5649
Familiares com AVE	0,5374	0,5590	0,5807
Frequência cardíaca	0,4733	0,5304	0,5876

AUC - área sob a curva ROC; inferior e superior – limites do intervalo de confiança de 95%.

3.2.4.3 Nomograma

Os preditores ritmo de MP ao ECG e fibrilação atrial não foram explorados na regressão por apresentarem uma quantidade muito pequena de eventos. A doação de sangue em ocasião anterior à investigação de doença de Chagas foi removida da regressão devido a colinearidade. Assim, os seguintes potenciais preditores foram explorados dentro do modelo cheio: sexo, idade, referenciado por banco de sangue, relato de ter habitado em área rural, relato de ter habitado em vivenda de taipa/estruque, relato de ter recebido transfusão no passado, hipertensão arterial, número de irmãos, número de irmãos com doença de Chagas, mãe com doença de Chagas, número de parentes com AVE, uso de medicações para insuficiência cardíaca, frequência cardíaca, ECG normal; BRD de 3º grau, BDAS e cardiomegalia à radiografia de tórax.

Dez foram os preditores retidos a partir da exploração do modelo cheio: referenciamento por banco de sangue, número de irmãos com doença de Chagas, BRD de 3º grau, EV isolada, relato de ter habitado em área rural, BDAS, cardiomegalia à radiografia, hipertensão arterial sistêmica, número de parentes (irmãos ou progenitores) com AVE e relato de ter habitado em vivenda de taipa ou estuque. (figura 8) Este modelo apresentou um otimismo de 0,0775 no R^2 , de 0,1361 no intercepto e 0,1702 na inclinação. Após a calibração dos coeficientes, as medidas de validação interna foram estimadas: área sob a curva ROC (AUC) de 0,90, escore de Brier de 0,09 (Brier máximo de 0.16) e R^2 de 52,79.

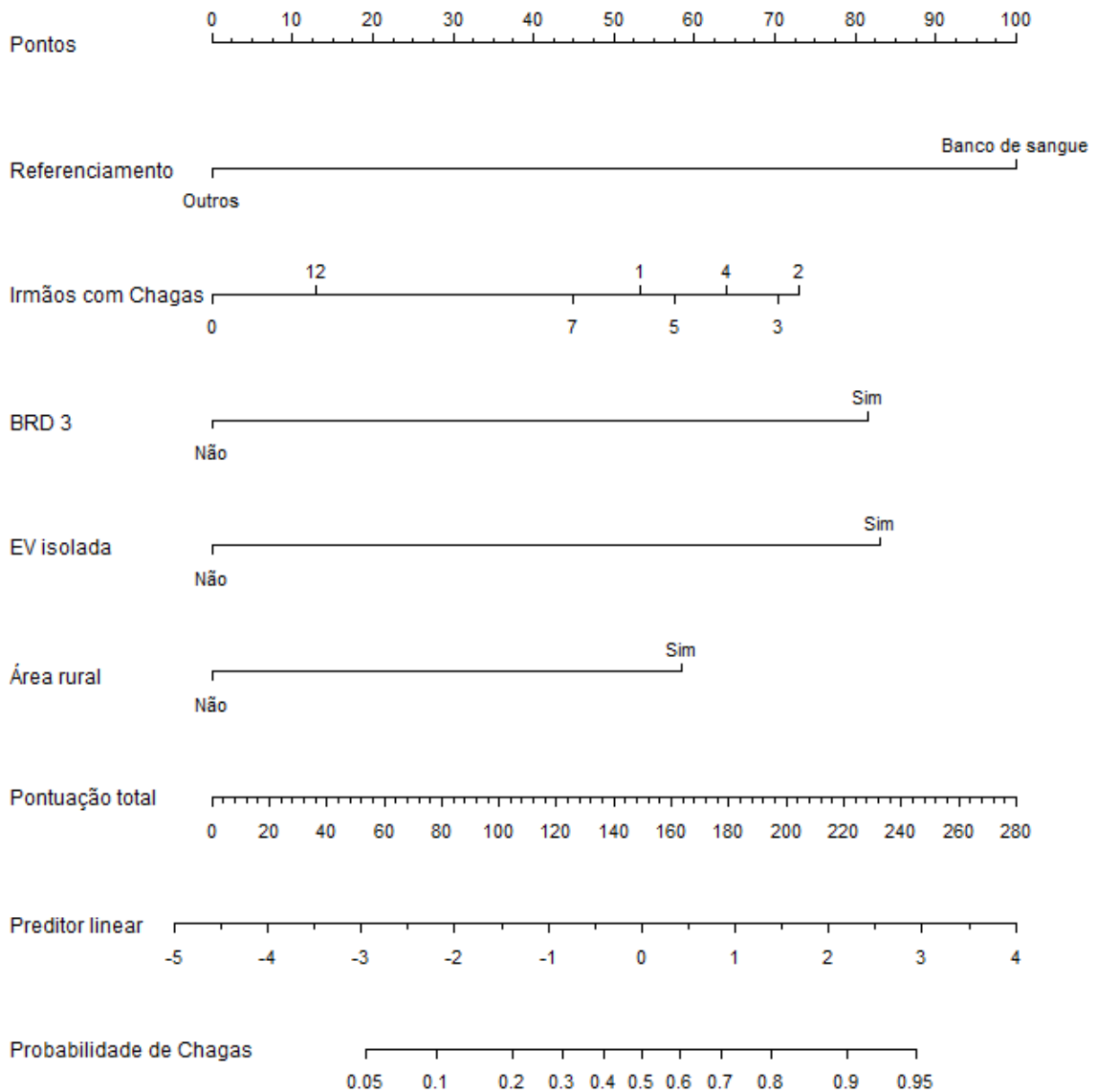


Figura 9: Nomograma para doença de Chagas crônica com cinco preditores ($AUC = 0,87$).

Considerando que os modelos de predição com muitos preditores têm um potencial menor de eficiência quanto a seu uso na prática clínica do que modelos com poucos preditores, um modelo alternativo menor foi ajustado. Do modelo com dez preditores, os cinco preditores mais fortes foram utilizados: referenciamento por banco de sangue, número de irmãos com doença de Chagas, BRD de 3º grau, EV isolada, e relato de ter habitado em área rural. (figura 9) Este modelo apresentou um otimismo de 0,0392 no R^2 , de 0,0555 no intercepto e de 0,0824 na inclinação. Após a calibração dos coeficientes, as medidas de validação interna foram estimadas: AUC de 0,87, escore de Brier de 0,10 (Brier máximo de

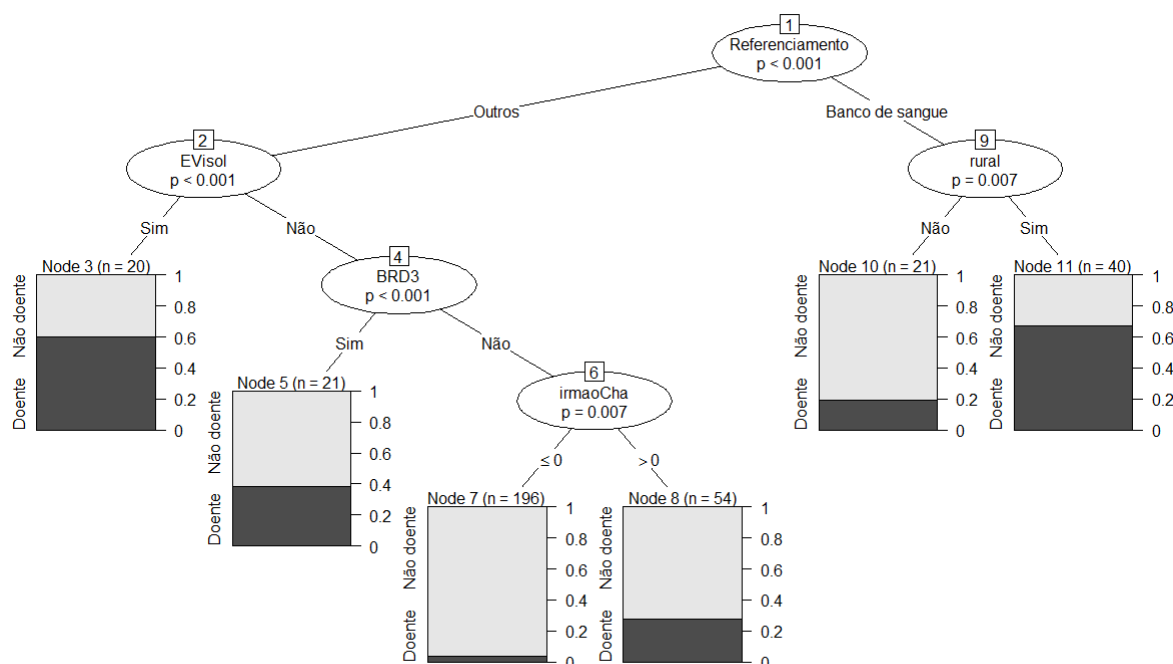


Figura 10: Árvore de decisão de inferência condicional para predição de doença de Chagas crônica ($AUC = 0,86$).

0.16) e R^2 de 45,83. Como esperado, esse modelo apresentou uma performance geral pior do que o modelo com dez preditores, no entanto essa diferença de performance é aparentemente pequena. Para a utilização desses modelos como regra de predição foram desenhados nomogramas (figuras 8 e 9), nos quais é necessário atribuir pontos para cada preditor segundo a categoria que o paciente apresenta de acordo com o eixo superior do gráfico. Posteriormente somam-se todos os pontos de cada preditor e encontra-se a probabilidade correspondente à pontuação total no eixo inferior do gráfico. Um paciente hipotético ao qual seria aplicado o nomograma com cinco preditores utilizado como exemplo: paciente não foi referenciado de banco de sangue (0 pontos), refere saber que tem um irmão com doença de Chagas (53 pontos), não apresenta EV isolada ao ECG (0 pontos), apresenta BRD 3º grau ao ECG (81 pontos) e refere ter habitado em área rural (57 pontos). A soma total dos pontos é de 191, o que corresponderia a uma probabilidade aproximada de 76% de que este paciente seja portador de doença de Chagas crônica. O mesmo paciente hipotético apresentaria uma probabilidade de estar doente de 22% no nomograma com dez preditores assumindo que os cinco preditores restantes fossem pontuados com zero.

3.2.4.4 Árvore de decisão

A árvore de decisão foi explorada a partir dos mesmos preditores do modelo cheio da regressão logística. Coincidentemente, os mesmos preditores retidos no nomograma com cinco preditores também foram retidos na árvore. A árvore apresentou as seguintes medidas de validade interna: erro total de 0,15; AUC de 0,86 e score de Brier de 0,11 (Brier máximo 0,16). Para utilizar a árvore como ferramenta de predição, basta seguir a árvore do topo até o último nó, passando pelos ramos que contenham as características do paciente em questão. (figura 10) O mesmo paciente hipotético do exemplo acima pode ser tomado como exemplo: paciente não foi referenciado de banco de sangue, (segue o ramo da esquerda); não apresenta EV isolada ao ECG (segue o ramo da direita); apresenta BRD 3º grau ao ECG (nó terminal). Neste nó terminal, o paciente apresentaria uma probabilidade aproximada de 38% de ser portador de doença de Chagas crônica.

3.2.5 Discussão

Este trabalho apresenta como principal resultado a demonstração de que é possível prever de modo acurado a doença de Chagas crônica através de elementos clínicos e complementares simples, durante uma consulta médica antes que os testes sorológicos sejam realizados. Até agora, foram conduzidas investigações em diferentes cenários para prever doença de Chagas crônica ou para identificar fatores de risco para infecção por *Trypanosoma cruzi* com diferentes resultados. Estes cenários implicam em três diferentes tipos de investigação: estudos com doadores de sangue, estudos em áreas rurais e estudos em gestantes.

Estudos em bancos de sangue foram realizados(30-37) com a intenção de avaliar estratégias para selecionar doadores com menor risco de infecção, de tal forma que a prevalência da doença fosse reduzida e, conseqüentemente, o risco de transmissão através da doação também fosse reduzido. Estes estudos também avaliaram se informações clínicas dos

pacientes com resultados inconclusivos seriam úteis para melhorar a interpretação dos testes sorológicos e proceder com orientação e condutas mais adequadas. Dois grupos se destacam: estudos conduzidos em locais onde a doença de Chagas não é endêmica(30-32) e estudos conduzidos onde a doença de Chagas é considerada endêmica.(33-38) A principal diferença entre as duas situações é que, na primeira, as investigações enfocaram prioritariamente os preditores relacionados a viagens e naturalidade estrangeira ou selecionaram viajantes e estrangeiros para identificar preditores, e na segunda as investigações se concentraram em preditores relacionados a condições em que o convívio com o vetor transmissor da doença é propício.

Estas investigações identificaram os seguintes preditores para doença de Chagas crônica entre doadores de sangue: (a) reconhecimento do vetor ou relato de convivência com o vetor,(32-34,36) (b) relato de ter habitado em área rural,(35,37) (c) relato de transfusão no passado,(38) (d) relato de possuir familiares ou irmãos com doença de Chagas,(33,38) (e) relato de ter habitado em moradia com o vetor,(36,38) (f) tipo de vivenda enquanto habitou em área rural,(32,33) (g) naturalidade ou relato de viagem para a América Latina,(32) (h) sexo,(37) (i) idade,(35,37) (j) escolaridade,(32,35) (k) condição social ou renda,(32,35) (l) relato de picadura pelo vetor anteriormente,(34) e (m) doação de sangue no passado.(35)

Foram realizados estudos de campo em áreas rurais com o intuito de conhecer a dinâmica de transmissão nessas áreas, identificar fatores de risco e indicar onde deveriam ser priorizadas as medidas preventivas de transmissão.(39-44) Estes estudos identificaram os seguintes fatores de risco para a infecção de doença de Chagas: (a) presença do vetor no domicílio,(39,42) (b) presença de vetores infectados com *T. Cruzi*,(44) (c) características da vivenda,(40-42) (d) sexo,(42,43) (e) idade,(41,43,44) (f) escolaridade,(41) (g) renda ou condição social,(43) (h) mãe com doença de Chagas,(39) (i) presença de cães com doença de Chagas,(44) e (j) presença de lenha no peridomicílio.(40)

Ainda, uma única investigação realizada para estudar fatores de risco para infecção por *T. cruzi* entre gestantes(45) identificou como preditores significativos: (a) recebeu transfusão de sangue no passado, (b) idade, e (c) escolaridade.

Portanto, as condições mais estudadas e identificadas como preditores na bibliografia especializada foram o reconhecimento do vetor, o tipo de vivenda e a idade. Na presente investigação, apenas o tipo de vivenda apresentou uma acurácia não ajustada promissora, enquanto idade não apresentou uma acurácia satisfatória e o reconhecimento do vetor não

apresentou nem mesmo uma confiabilidade satisfatória. Por outro lado, após ajuste dos preditores na regressão somente dois preditores pouco estudados anteriormente permaneceram no modelo final: relato de ter vivido em área rural e irmãos com doença de Chagas. Diversas explicações poderiam ser consideradas para as diferenças encontradas entre os efeitos dos preditores nesta investigação e outras conduzidas anteriormente, tais como as diferenças das populações de estudo e de metodologias. Porém, o ajuste dos efeitos dos preditores em uma regressão aparece como uma diferença bastante evidente.

Investigações anteriores já publicadas apresentaram resultados que podem ajudar na tomada de decisão nos seus respectivos cenários, porém não possuem características recomendadas para construção de modelos de predição clínica, como: não houve intenção de interpretar as predições individualmente para cada paciente, estudaram diferentes conjuntos de potenciais preditores contendo tipos e quantidades heterogêneas de preditores, a maioria não gerou medidas ajustadas para múltiplos preditores, algumas não estimaram a força de associação entre preditor e infecção por *T. cruzi*; e diferentes estratégias de seleção amostra. Ainda, mesmo que tais estudos não possuíssem essas limitações, não seria possível extrapolar seus resultados para o cenário clínico sem verificar sua validade, dadas as diferenças de características de populações e de localidades.

No Brasil e em localidades onde a doença possa ser considerada endêmica, e em que o diagnóstico sorológico seja de fácil acesso, uma regra de predição como a deste trabalho ajudaria principalmente a classificar os pacientes dois grupos: os que não necessitariam ser investigados com sorologia e os que necessitariam ser investigados com sorologias, pois lhes seriam atribuídas diferentes probabilidades de serem portadores de doença de Chagas antes dos testes sorológicos. Em outras localidades onde o acesso ao diagnóstico sorológico é difícil, uma regra como essa permitiria, ao menos, estimar os riscos de doença de Chagas crônica da população a ela submetida e, conseqüentemente, evidenciar e indicar a necessidade de planejamento de atenção à saúde. Certamente, uma regra de predição não substituirá o diagnóstico sorológico de doença de Chagas crônica no presente; no entanto, conhecendo a probabilidade de ser corretamente identificado como doente, o médico possuirá maior segurança para tomar decisões posteriores, principalmente quando os testes sorológicos apresentarem resultados inconclusivos.

A avaliação médica do paciente suspeito de ser portador de doença de Chagas crônica, até o momento, é realizada de acordo com a experiência individual. Neste trabalho, foi

possível perceber os elementos clínicos e complementares mais relevantes para a avaliação clínica e como eles atuam quando combinados. A acurácia da combinação desses elementos é maior do que as acurácias não ajustadas para múltiplos preditores dos mesmos elementos indicando a vantagem da combinação de preditores. Por outro lado, a não utilização adequada das combinações de preditores poderia levar à condução inadequada do caso quanto a investigação sorológica para doença de Chagas, ainda que a avaliação seja realizada por profissional experiente. Há evidências indicando que as tomadas de decisões podem ser melhoradas com o auxílio de regras de decisão.(23,46) Portanto, a utilização de uma regra de predição tornaria a abordagem diagnóstica dos pacientes suspeitos de doença de Chagas crônica mais eficiente.

A utilidade de elementos clínicos explorados neste trabalho pode ser limitada por diversos fatores como a memória do paciente quanto aos eventos de interesse (e.g. não lembrar do resultado do rastreamento em doação de sangue anterior), o desconhecimento dos fatos pelo paciente (e.g. não saber se a mãe já fora testada para doença de Chagas ou se tinha doença de Chagas quando faleceu) ou a não compreensão do objeto inquirido (e.g. não saber responder sobre Leishmaniose no passado por não conhecer o que é Leishmaniose). Incertezas podem ser geradas pela falta de confiabilidade de informações, mas essas foram minimizadas quando a confiabilidade foi utilizada como critério de seleção no modelo de predição.

O IPEC funciona como unidade de referenciamento para diagnóstico e tratamento de casos de doença de Chagas para a rede pública e particular de todo o estado do Rio de Janeiro. Se por um lado, isso pode ser considerado uma vantagem por concentrar as condições de referenciamento e o diversificado espectro da doença de Chagas que deveriam ser investigados, por outro, a amostra utilizada nesta investigação pode ter sido pré-selecionada,(19) caso tenham chegado ao IPEC somente os pacientes com mais características da doença, ou os com mais facilidade de acesso. Se isso for verdade, é possível que o desempenho do modelo tenha sido influenciado por esta pré-seleção.

Outra potencial limitação desta investigação, é que não foram estudados como preditores achados de métodos complementares recomendados em pacientes com doença de Chagas, como trânsito esôfago-gastro-duodenal ou esofagomanometria, colonoscopia ou clister opaco, e ecocardiograma. Muitos pacientes passam a ser suspeitos de doença de Chagas após realização de testes complementares com achados que são considerados típicos desta doença como: acalásia; distúrbios diversos de motilidade do esôfago, deformidades

anatômicas do intestino, ou aneurisma de ponta em ventrículo esquerdo. Há também pacientes que procuram o diagnóstico de doença de Chagas após extensiva investigação para outras doenças cardíacas, por final inconclusivas, tornando, assim, o paciente suspeito de ser portador de doença de Chagas por exclusão. Apesar de esses achados em exames complementares serem descritos como típicos, não se conhece suas acurácias de predizer doença de Chagas crônica, dado que não foi possível estudá-los.

No Brasil, praticamente todos os estados já foram considerados áreas de transmissão ativa, salvo o estado do Rio de Janeiro, algumas áreas do Espírito Santo e da região amazônica. Observou-se, nesta investigação que a probabilidade de um paciente natural do Rio de Janeiro ter doença de Chagas é pequena. No entanto, optou-se por não explorar a naturalidade ou história de viagens como potenciais preditores devido a uma dificuldade de correspondência entre localidade natal e áreas endêmicas de doença de Chagas, o que consequentemente dificultaria a aplicação da regra de predição, pois os profissionais só poderiam utilizá-la se conhecessem cada uma das áreas endêmicas de doença de Chagas.

Há diversas abordagens analíticas que podem ser utilizadas para o desenvolvimento, validação e atualização de modelos de predição.(23) Neste trabalho foram demonstradas duas, devido à facilidade de interpretação e de uso. A regressão logística é uma abordagem analítica considerada mais tradicional e mais simples dos que as árvores de decisão e outras técnicas mais modernas.(23) Esta sofreria desvantagem em relação a outras técnicas, quanto a performance em geral, somente em casos em que haja muitos dados e simultaneamente efeitos não lineares e interações complexas entre os preditores e o desfecho.(23) Por outro lado, a predição para o usuário final a partir do nomograma (desenhado a partir de uma regressão) sofre de dois problemas em relação à árvore de decisão: (a) é menos intuitivo, (b) exige aproximação da pontuação dos preditores e do escore final e, consequentemente, há imprecisão da estimativa final de probabilidade.(23)

As árvores de decisão são tidas por muitos como uma estratégia de interpretação bastante intuitiva, dada sua representação gráfica, que se aproxima bastante do raciocínio usual dos médicos.(23) Por outro lado, as árvores sofrem de um problema de instabilidade, particularmente quando construídas a partir de pequena quantidade de dados.(47) Pequenas modificações nos dados, como na prevalência da doença ou atualização com novas observações podem levar a uma partição diferente em um determinado nó. A principal razão para esta instabilidade é a sua natureza hierárquica, pois uma modificação da partição em um

nó se propaga para todos os ramos abaixo deste, tornando a sua interpretação como preditora um tanto precária.(47) Há exemplos na literatura especializada indicando que, em geral, as árvores têm uma performance um pouco aquém de outras abordagens analíticas.(23,48)

Antes de ser de fato recomendado como regra, todo modelo de predição deve ser validado externamente ou temporalmente, de forma que seja possível verificar se a performance da predição é mantida em outros cenários.(23) Há diversas considerações que poderiam justificar essa necessidade, levando-se em conta as diferenças entre as populações em que o modelo fora desenvolvido e onde seria aplicado na prática (e.g. diferenças na prevalência da doença, dos preditores e incapacidade de medir preditores importantes), e as deficiências no desenvolvimento do modelo (e.g. tamanho amostral insuficiente e calibração insuficiente entre outras).

3.2.6 Conclusão

A predição acurada da doença de Chagas crônica antes da realização dos testes sorológicos é possível através da utilização de elementos da historia familiar, da história de exposição à infecção por *T. cruzi* e de achados dos exames complementares. A combinação de dez preditores é a que melhor identifica a presença ou ausência de doença de Chagas. Para simplificar o uso de uma regra, é possível utilizar um modelo com apenas 5 preditores que possui uma performance em geral apenas um pouco menor que a do modelo com dez preditores. No entanto, há necessidade de validação destes modelos em outras populações para verificar se performances são mantidas ou se há necessidade de nova calibração para que seja recomendado como regra de decisão.

3.2.7 Referências

1. [Brazilian Consensus on Chagas disease]. Rev Soc Bras Med Trop. 2005;38 Suppl 3:7-29.
2. Bern C, Montgomery SP, Herwaldt BL, Rassi A, Marin-Neto JA, Dantas RO, et al.

- Evaluation and Treatment of Chagas Disease in the United States: A Systematic Review. *JAMA*. 2007;298(18):2171-2181.
3. Gascón J. [Diagnosis and treatment of imported Chagas disease]. *Med Clin (Barc)*. 2005;125(6):230-235.
 4. Ministério de la Salud Publica y Assitencia Social - El Salvador. Norma Técnica de Prevención y Control de la Enfermedad de Chagas [Internet]. 2007;Disponível em: <http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/dch-els-normas.pdf>
 5. WHO expert committee on the control of Chagas disease. Control of Chagas disease: second report of WHO expert committee. [Internet]. Brasilia: 2002. Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_905.pdf
 6. Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *The Lancet Infectious Diseases*. 2001 Set;1(2):92-100.
 7. Ribeiro ALP, Rocha MODC. Forma indeterminada da doença de Chagas: considerações acerca do diagnóstico e do prognóstico. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [Internet]. 1998;31(3). Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0037-86821998000300008&script=sci_arttext&tlng=es
 8. Le Loup G, Lescure F, Develoux M, Pialoux G. Maladie de Chagas : formes cliniques et prise en charge en zone non endémique. *La Presse Médicale*. 2009;38(11):1654-1666.
 9. Wendel S, Gonzaga A. Chagas' Disease and Blood Transfusion: A New World Problem? *Vox Sanguinis*. 1993;64(1):1-12.
 10. Steele L, MacPherson D, Kim J, Keystone J, Gushulak B. The Sero-Prevalence of Antibodies to *Trypanosoma cruzi* in Latin American Refugees and Immigrants to Canada. *Journal of Immigrant and Minority Health*. 2007;9(1):43-47.
 11. Lane DJ, Sher G, Ward B, Ndao M, Leiby D, Hewlett B, et al. Investigation of the second case of transfusion transmitted Chagas disease in Canada. *Blood*. 2000;96(Pt 1):60a.
 12. Jackson Y, Chappuis F, Loutan L. [Chagas disease in Switzerland: managing an emerging infection and interrupting its transmission]. *Rev Med Suisse*. 2008;4(157):1212-1214, 1216-1217.
 13. Gascon J, Bern C, Pinazo M. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta Tropica*. 2010;115(1-2):22-27.
 14. Enemark H, Seibaek MB, Kirchhoff LV, Jensen GB. [Chronic Chagas disease--an echo from youth]. *Ugeskr. Laeg*. 2000;162(18):2567-2569.
 15. Frank M, Hegenscheid B, Janitschke K, Weinke T. Prevalence and epidemiological significance of *Trypanosoma cruzi* infection among latin american immigrants in Berlin, Germany. *Infection*. 1997;25(6):355-358.

16. Ochs DE, Hnilica VS, Moser DR, Smith JH, Kirchhoff LV. Postmortem Diagnosis of Autochthonous Acute Chagasic Myocarditis by Polymerase Chain Reaction Amplification of a Species-Specific DNA Sequence of *Trypanosoma cruzi*. *Am J Trop Med Hyg.* 1996;54(5):526-529.
17. Young C, Losikoff P, Chawla A, Glasser L, Forman E. Transfusion-acquired *Trypanosoma cruzi* infection. *Transfusion.* 2007;47(3):540-544.
18. Riera C, Guarro A, Kassab HE, Jorba JM, Castro M, Angrill R, et al. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in Europe (Spain): a case report. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2006;75(6):1078-1081.
19. Knottnerus J. The evidence base of clinical diagnosis : theory and methods of diagnostic research. 2 ed. Oxford ;Hoboken NJ: Wiley-Blackwell Pub./BMJ Books; 2009.
20. Szklo M, Nieto FJ. *Epidemiology: Beyond the Basics.* 2 ed. Jones and Bartlett Publishers; 2006.
21. Lin L. Corrections: A note on the concordance correlation coefficient. *Biometrics.* 2000;56(1):324-325.
22. Zhou X, McClish DK, Obuchowski NA. *Statistical Methods in Diagnostic Medicine.* 1° ed. Wiley-Interscience; 2002.
23. Steyerberg EW. *Clinical Prediction Models: A Practical Approach to Development, Validation, and Updating.* 1° ed. Springer; 2008.
24. Hothorn T, Hornik K, Zeileis A. Unbiased Recursive Partitioning. *Journal of Computational and Graphical Statistics.* 2006;15(3):651-674.
25. R Development Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing* [Internet]. Vienna, Austria.: Disponível em: <http://www.R-project.org>
26. Rotondi MA. *epibasix: Elementary Epidemiological Functions for a Graduate Epidemiology\Biostatistics Course* [Internet]. 2009. Disponível em: <http://CRAN.R-project.org/package=epibasix>
27. Stevenson M. *epiR: Functions for analysing epidemiological data* [Internet]. 2010. Disponível em: <http://CRAN.R-project.org/package=epiR>
28. Brasil P. *DiagnosisMed: Diagnostic test accuracy evaluation for medical professionals.* [Internet]. 2010. Disponível em: <http://R-Forge.R-project.org/projects/diagnosismed/>
29. Harrell FE. *Regression modeling strategies: with applications to linear models, logistic regression, and survival analysis.* Springer; 2001.
30. Appleman MD, Shulman IA, Saxena S, Kirchhoff LV. Use of a questionnaire to identify

- potential blood donors at risk for infection with *Trypanosoma cruzi*. *Transfusion*. 1993;33(1):61-64.
31. O'Brien SF, Chiavetta JA, Fan W, Xi G, Yi Q, Goldman M, et al. Assessment of a travel question to identify donors with risk of *Trypanosoma cruzi*: operational validity and field testing. *Transfusion*. 2008;48(4):755-761.
 32. Leiby DA, Read EJ, Lenex BA, Yund AJ, Stumpf RJ, Kirchhoff LV, et al. Seroepidemiology of *Trypanosoma cruzi*, etiologic agent of Chagas' disease, in US blood donors. *The Journal of infectious diseases*. 1997;176(4):1047-1052.
 33. Furuchó CR, Umezawa ES, Almeida I, Freitas VL, Bezerra R, Nunes EV, et al. Inconclusive results in conventional serological screening for Chagas' disease in blood banks: evaluation of cellular and humoral response. *Tropical Medicine & International Health*. 2008;13(12):1527-1533.
 34. Vinelli E, Aguilar M, Pavón L, Enamorado N. El interrogatorio como instrumento para la exclusión de donantes de sangre con riesgo para la transmisión del *Trypanosoma cruzi*. *Rev. méd. hondur*. 1995;63(3):96-9.
 35. Martelli CMT, Andrade ALSS, Silva SA, Zicker F. Risk factors for *Trypanosoma cruzi* infection among blood donors in Central Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* [Internet]. 1992 9;87(3). Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02761992000300002&lng=en&nrm=iso&tlng=en
 36. Hamerschlak N, Pasternak J, Amato Neto V, Carvalho MBD, Guerra CS, Coscina AL, et al. Chagas' disease: an algorithm for donor screening and positive donor counseling. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*. 1997;30(3):205-209.
 37. Pirard M, Iihoshi N, Boelaert M, Basanta P, López F, Van der Stuyft P. The validity of serologic tests for *Trypanosoma cruzi* and the effectiveness of transfusional screening strategies in a hyperendemic region. *Transfusion*. 2005;45(4):554-561.
 38. Salles NA, Sabino EC, Cliquet MG, Eluf-Neto J, Mayer A, Almeida-Neto C, et al. Risk of exposure to Chagas' disease among seroreactive Brazilian blood donors. *Transfusion*. 1996;36(11-12):969-973.
 39. De Andrade ALSS, Zicker F, Silva IG, Souza JMP, Martelli CMT. Risk Factors for *Trypanosoma cruzi* Infection among Children in Central Brazil: A Case-Control Study in Vector Control Settings. *Am J Trop Med Hyg*. 1995;52(2):183-187.
 40. Black CL, Ocaña S, Riner D, Costales JA, Lascano MS, Davila S, et al. Household risk factors for *Trypanosoma cruzi* seropositivity in two geographic regions of Ecuador. *Journal of Parasitology*. 2007;93(1):12-16.
 41. Feliciangeli M, Sanchez-Martin MJ, Suarez B, Marrero R, Torrellas A, Bravo A, et al. Risk factors for *Trypanosoma cruzi* human infection in Barinas state, Venezuela. *The*

- American journal of tropical medicine and hygiene. 2007;76(5):915.
42. Rizzo NR, Arana BA, Diaz A, Cordon-Rosales C, Klein RE, Powell MR. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* infection among school-age children in the endemic area of Guatemala. The American journal of tropical medicine and hygiene. 2003;68(6):678.
 43. Tortora C. Chagas seroepidemiology in school children of Jujuy [Seroepidemiologia de la enfermedad de chagas en escolares de Jujuy]. Medicina. 2000;60(4):469-473.
 44. Gurtler RE, Chuit R, Cecere MC, Castanera MB, Cohen JE, Segura EL. Household prevalence of seropositivity for *Trypanosoma cruzi* in three rural villages in northwest Argentina: environmental, demographic, and entomologic associations. The American journal of tropical medicine and hygiene. 1998;59(5):741.
 45. Boggio G. Modelo de regresión logística aplicado a un estudio sobre enfermedad de Chagas. Cad. Saúde Pública. 1997;13(3):389-396.
 46. Craig JC, Williams GJ, Jones M, Codarini M, Macaskill P, Hayen A, et al. The accuracy of clinical symptoms and signs for the diagnosis of serious bacterial infection in young febrile children: prospective cohort study of 15 781 febrile illnesses. British Medical Journal. 2010;340(apr19 2):c1594.
 47. Hastie T, Tibshirani R, Friedman JH. The elements of statistical learning: data mining, inference, and prediction [Internet]. 2 ed. Springer; 2009. Disponible em: <http://www-stat.stanford.edu/~tibs/ElemStatLearn/>
 48. Austin PC. A comparison of regression trees, logistic regression, generalized additive models, and multivariate adaptive regression splines for predicting AMI mortality. Statist. Med. 2007;26(15):2937-2957.

4 CONCLUSÃO

A revisão da literatura sobre os testes ELISA indica que sua performance é boa. A confiabilidade do ELISA e ELISA-rec se apresenta em níveis aceitáveis, apesar de ser pouco estudada. No entanto, há testes comerciais disponíveis cujos relatórios técnicos não foram acessados por esta revisão, portanto, não foram incluídos, e suas performances permanecem desconhecidas. Os achados permitem concluir que não procedem as argumentações que os testes ELISA possuem baixa performance ou baixa confiabilidade. É fato que o processo de decisão médica leva a momentos de desconforto e insegurança quando as performances dos testes são pouco conhecidas ou não avaliadas por estudos metanalíticos como este. Tanto o ELISA quanto o ELISA-rec poderiam ser utilizados individualmente para o diagnóstico de doença de Chagas crônica.

A revisão da literatura da PCR indica que sua performance é aquém do desejado e sua confiabilidade nunca foi conhecida. A comparação do ELISA com a PCR indica que o primeiro apresenta melhor acurácia. Atualmente, a PCR não deve ser considerada uma ferramenta para o diagnóstico de doença de Chagas crônica na prática clínica. No entanto, este teste ainda permanece como ferramenta promissora, dado seu estado de desenvolvimento para o diagnóstico e seu potencial para aperfeiçoamentos futuros.

A predição acurada da doença de Chagas crônica antes da realização dos testes sorológicos é possível através da utilização de elementos da história familiar, história de exposição à infecção por *T. cruzi* e achados em exames complementares de forma combinada. Assim, a lacuna do conhecimento dos elementos que ajudam na avaliação médica inicial do suspeito de doença de Chagas crônica e que tornam explícita sua probabilidade de ser portador da doença de Chagas, começa a ser preenchida. Portanto, será possível avaliar, de forma complementar à experiência individual do médico, se os pacientes devem ser submetidos a investigação sorológica.

REFERÊNCIAS

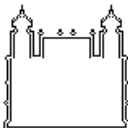

1. Chagas C. Nova tripanozomíase humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 1909;1:159 - 218.
2. Dias JC, Coura JR. Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral. 1º ed. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 1997.
3. Chagas C. Revisão do ciclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi*. Brazil Médico. 1913;27(23):225.
4. Bordet JJBV, Gengou O. Sur l'existence de substances sensibilisatrices dans la plupart des sérums antimicrobiens. Annales de l'Institut Pasteur. 1901;15:289-302.
5. Wasserman AP, Neisser A, Bruck C. Eline serodiagnostische reaktion bei Syphilis. Deutsche Medicinische Wochenschrift. 1906;32:745-746.
6. Guerreiro C, Machado A. Da reação de Bordet e Gengou na moléstia de Carlos Chagas como elemento diagnóstico: nota preliminar. Brasil Médico. 1913;:225-226.
7. Brumpt É. O xenodiagnóstico: aplicação ao diagnóstico de algumas infecções parasitárias e em particular à Trypanosomose de Chagas. Annaes Paulistas de Medicina e Cirurgia. 1914;3(5):97-102.
8. Pifano F. [Parasitological diagnosis of Chagas' disease in the chronic phase; comparative study between the large drop test, xenodiagnosis, hemoculture and experimental inoculations in sensitive animals.]. Gac Med Caracas. 1954 Dez;62(11-12):629-637.
9. Portela-Lindoso AA, Shikanai-Yasuda MA. [Chronic Chagas' disease: from xenodiagnosis and hemoculture to polymerase chain reaction]. Rev Saude Publica. 2003;37(1):107-15.
10. Chiari E, Galvão LMC. Diagnóstico parasitológico da doença de Chagas. In: Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 1997. p. 486.
11. Cerisola JA, Fatała Chaben M, Lazzari JO. [Hemagglutination test for the diagnosis of Chagas' disease.]. Prensa Med Argent. 1962;49:1761-1767.
12. Camargo ME. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 1966 Out;8(5):227-235.
13. Cerisola JA, Rohweder R, Segura EL, Del Prado CE, Alvarez M, Martini GJW. El xenodiagnóstico. , Buenos Aires, Argentina.: Instituto Nacional de Diagnóstico e Investigación de la Enfermedad de Chagas (INDIECH); 1974.

14. Voller A, Draper C, Bidwell DE, Bartlett A. Microplate enzyme-linked immunosorbent assay for chagas' disease. *Lancet*. 1975;1(7904):426-428.
15. [Brazilian Consensus on Chagas disease]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005;38 Suppl 3:7-29.
16. WHO expert committee on the control of Chagas disease. Control of Chagas disease: second report of WHO expert committee. [Internet]. Brasilia: 2002. Disponible em: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_905.pdf
17. Gascón J. [Diagnosis and treatment of imported Chagas disease]. *Med Clin (Barc)*. 2005;125(6):230-235.
18. Ministério de la Salud Publica y Assitencia Social - El Salvador. Norma Técnica de Prevención y Control de la Enfermedad de Chagas [Internet]. 2007;Disponible em: <http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/dch-els-normas.pdf>
19. Comité de Parasitología. Guías clínicas de la enfermedad de Chagas. Parte V - Diagnóstico de laboratorio. *Rev. chil. infectol*. 2008;25(5):379-383.
20. Sturm NR, Degrave W, Morel C, Simpson L. Sensitive detection and schizodeme classification of *Trypanosoma cruzi* cells by amplification of kinetoplast minicircle DNA sequences: use in diagnosis of Chagas' disease. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 1989;33(3):205-214.
21. Rassi A, Rassi A, Rassi SG. Predictors of Mortality in Chronic Chagas Disease: A Systematic Review of Observational Studies. *Circulation*. 2007;115(9):1101-1108.
22. Nessa J. About signs and symptoms: can semiotics expand the view of clinical medicine? *Theor Med*. 1996;17(4):363-377.
23. Burnum JF. Medical diagnosis through semiotics: giving meaning to the sign. *Annals of internal medicine*. 1993;119(9):939.
24. Laupacis A, Sekar N, Stiell LG. Clinical Prediction Rules: A Review and Suggested Modifications of Methodological Standards. *JAMA*. 1997;277(6):488-494.
25. Fahey T, van der Lei J. Producing and using clinical prediction rules. In: *The evidence base of clinical diagnosis : theory and methods of diagnostic research*. Oxford ;Hoboken NJ: Wiley-Blackwell Pub./BMJ Books; 2009.
26. Romaña C. Acerca de um sintoma inicial de valor para o diagnóstico de forma aguda de la enfermedad de Chagas. La conjuntivitis esquizotripanósica unilateral: hipótesis sobre la puerta de entrada conjuntival de la enfermedad. *Publicaciones Mepra*. 1935;22:16-28.
27. De Muynck A. Predictive value of specific signs and symptoms for the diagnosis of acute Chagas' disease in children. *J. Trop. Pediatr*. 1986;32(5):230-233.

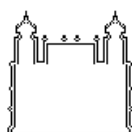
28. Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *The Lancet Infectious Diseases*. 2001;1(2):92-100.
29. Egger M, Smith GD, Altman DG. Systematic reviews in health care: meta-analysis in context. *BMJ*; 2001.
30. Pai M, McCulloch M, Enanoria W, Colford JM. Systematic reviews of diagnostic test evaluations: What's behind the scenes? *ACP J. Club*. 2004;141(1):A11-13.
31. Bachmann LM. Identifying Diagnostic Studies in MEDLINE: Reducing the Number Needed to Read. *Journal of the American Medical Informatics Association*. 2002 7;9(6):653-658.
32. Whiting P, Rutjes A, Reitsma J, Bossuyt P, Kleijnen J. The development of QUADAS: A tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Medical Research Methodology*. 2003;3:1-13.
33. Hollingworth W, Medina L, Lenkinski R, Shibata D, Bernal B, Zurakowski D, et al. Interrater Reliability in Assessing Quality of Diagnostic Accuracy Studies Using the QUADAS Tool. A Preliminary Assessment. *Academic Radiology*. 2006;13(7):803-810.
34. Leeflang M, Reitsma J, Scholten R, Rutjes A, Di Nisio M, Deeks J, et al. Impact of adjustment for quality on results of metaanalyses of diagnostic accuracy. *Clinical Chemistry*. 2007;53(2):164-172.
35. Westwood ME, Whiting PF, Kleijnen J. How does study quality affect the results of a diagnostic meta-analysis? *BMC Medical Research Methodology* [Internet]. 2005;5. Disponível em: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-23244463000&partnerID=40>
36. Whiting P, Harbord R, Kleijnen J. No role for quality scores in systematic reviews of diagnostic accuracy studies. *BMC Medical Research Methodology* [Internet]. 2005;5. Disponível em: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-23944444623&partnerID=40>
37. Lijmer JG, Bossuyt PM, Heisterkamp SH. Exploring sources of heterogeneity in systematic reviews of diagnostic tests. *Statistics in medicine*. 2002;21(11).
38. Chappell FM, Raab GM, Wardlaw JM. When are summary ROC curves appropriate for diagnostic meta-analyses? *Statistics in Medicine*. 2009;28(21):2653-2668.
39. Moses LE, Shapiro D, Littenberg B. Combining independent studies of a diagnostic test into a summary ROC curve: data-analytic approaches and some additional considerations. *Stat Med*. 1993;12(14):1293-1316.
40. Deeks JJ. Systematic reviews of evaluations of diagnostic and screening tests. In: *Systematic reviews in health care: meta-analysis in context*. London: BMJBooks; 2001. p. 520.

41. Guyatt G, Rennie D, Meade M, Cook D. *Users' Guides to the Medical Literature: Essentials of Evidence-Based Clinical Practice, Second Edition*. 2 ed. McGraw-Hill Professional; 2008.
42. Simel DL, Rennie D. The clinical examination. An agenda to make it more rational. *JAMA*. 1997;277(7):572-574.
43. Pauker SG, Kassirer JP. The threshold approach to clinical decision making. *N. Engl. J. Med*. 1980;302(20):1109-1117.
44. Tsalatsanis A, Hozo I, Vickers A, Djulbegovic B. A regret theory approach to decision curve analysis: a novel method for eliciting decision makers' preferences and decision-making. *BMC Med Inform Decis Mak*. 2010;10:51.
45. Knottnerus JA. Diagnostic prediction rules: principles, requirements and pitfalls. *Prim. Care*. 1995;22(2):341-363.
46. Hilden J, Glasziou P. Regret graphs, diagnostic uncertainty and Youden's Index. *Stat Med*. 1996;15(10):969-986.
47. Steyerberg EW, Vickers AJ, Cook NR, Gerds T, Gonen M, Obuchowski N, et al. Assessing the Performance of Prediction Models. *Epidemiology*. 2010;21(1):128-138.
48. Kawamoto K, Houlihan CA, Balas EA, Lobach DF. Improving clinical practice using clinical decision support systems: a systematic review of trials to identify features critical to success. *BMJ*. 2005;330(7494):765-765.

APÊNDICE A – Formulário correspondente à avaliação clínica do artigo 2

	<p>Ministério da Saúde Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS LABORATÓRIO DE PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇA DE CHAGAS</p>																							
<p>PROJETO: Diagnóstico de doença de Chagas por sinais, sintomas e exposições em indivíduos com indicação de investigação diagnóstica de formas crônicas.</p>																								
<p>Avaliação Clínica 2</p>																								
<p>1. Número identificador único</p> <table border="1" style="width: 100%; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td> </tr> </table>											<p>2. Iniciais do nome</p> <table border="1" style="width: 100%; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td> </tr> </table>							<p>Pag</p> <table border="1" style="width: 20px; height: 20px; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr> <td style="font-size: 1.2em;">1</td> </tr> </table>	1					
1																								
<p>3. Identificação do centro participante <input type="radio"/> IPEC-RJ <input type="radio"/> UPE-PE <input type="radio"/> UNICAMP-SP</p>																								
<p>4. Data da avaliação</p> <table border="1" style="width: 100%; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px;"></td><td style="width: 20px;"></td><td style="width: 10px; text-align: center;">/</td><td style="width: 20px;"></td><td style="width: 20px;"></td><td style="width: 10px; text-align: center;">/</td><td style="width: 20px;"></td><td style="width: 20px;"></td><td style="width: 20px;"></td><td style="width: 20px;"></td> </tr> </table>			/			/					<p>5. Sexo</p> <p><input type="radio"/> Masculino <input type="radio"/> Feminino <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>6. Idade ao atendimento:</p> <table border="1" style="width: 50px; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15px;"></td><td style="width: 15px;"></td><td style="width: 15px;"></td> </tr> </table>													
		/			/																			
<p>11. Cidade onde o voluntário nasceu:</p> <table border="1" style="width: 100%; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td><td style="width: 12.5%;"></td> </tr> </table>																						<p>12. Estado</p> <table border="1" style="width: 30px; height: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15px;"></td><td style="width: 15px;"></td> </tr> </table>		
<p>13. Foi referenciado ao diagnóstico de Chagas por:</p> <p><input type="radio"/> Familiar <input type="radio"/> Conta própria <input type="radio"/> Médico <input type="radio"/> Banco de sangue <input type="radio"/> Outros</p>																								
<p>14. Em caso de doação de sangue com rastreamento positivo, houve reteste em outra amostra?</p> <p><input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe <input type="radio"/> Não se aplica</p>																								
<p>15. Em caso de realização de reteste de doação de sangue, o resultado encontrado foi:</p> <p><input type="radio"/> Positivo <input type="radio"/> Negativo <input type="radio"/> Indeterminado <input type="radio"/> Discordante <input type="radio"/> Não se aplica <input type="radio"/> Ignorado</p>																								
<p>16. Qual foi a indicação médica para proceder investigação para doença de Chagas?</p> <p><input type="radio"/> Coração <input type="radio"/> Outras</p> <p><input type="radio"/> Esôfago <input type="radio"/> Transplante</p> <p><input type="radio"/> Intestino <input type="radio"/> Não se aplica</p> <p><input type="radio"/> Área endêmica <input type="radio"/> Ignorado</p>																								
<p>17. O Sr(a) morou ou mora em área rural?</p> <p><input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe</p>																								
<p>18. O Sr(a) habita ou habitou em vivenda de estuque(taipa, sape, pau—a-pique)?</p> <p><input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe</p>																								
<p>19. O Sr(a) reconhece este inseto(barbeiro, fincão, chupão, procotó)? <small>(mostrar exemplar ou fotografia)</small></p> <p><input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe</p>																								
<p>20. Sr(a) já apresentou, alguma vez na vida, um machucado no rosto como este? <small>(sinal de Romaña ou porta de entrada)- mostrar fotografia.</small></p> <p><input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe</p>																								
<p>21. O Sr(a) já recebeu transfusão de sangue alguma vez na vida?</p> <p><input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe</p>																								





Ministério da Saúde
 Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ
 INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS
 LABORATÓRIO DE PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇA DE
 CHAGAS



PROJETO: Diagnóstico de doença de Chagas por sinais, sintomas e exposições em indivíduos com indicação de investigação diagnóstica de formas crônicas.

Avaliação Clínica 2

1. Número identificador único

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

2. Iniciais do nome

--	--	--	--	--	--

Pag

2

22. Caso tenha recebido transfusão, essa ocorreu antes de 1991?

Sim Não Não sabe Não se aplica

23. Sr(a) já doou sangue anteriormente? (ou em outras ocasiões caso esteja em investigação por doação)

Sim Não Não sabe

24. Caso já tenha doado sangue anteriormente, apresentou rastreamento positivo para Chagas nessa doação?

Sim Não Não sabe Não se aplica

25. O Sr(a) tem hipertensão arterial sistêmica ou toma medicações para hipertensão?

Sim Não Não sabe

26. O Sr(a) já tem angina do coração ou já infartou alguma vez (doença coronariana)?

Sim Não Não sabe

27. O Sr(a) já teve alguma derrame (AVC) recente ou antigo?

Sim Não Não sabe

28. O Sr(a) tem ou já teve uma doença de pele chamada Leishmaniose? (caso referir a Leishmaniose visceral, marcar como sim)

Sim Não Não sabe

29. O Sr(a) já teve alguma doença com aumento do fígado e do baço e febre?

Sim Não Não sabe (Hepatoesplenomegalia febril)

30. O Sr(a) já teve alguma doença com sete dias ou mais de febre e com gânglios/ínguas?

Sim Não Não sabe

31. O Sr(a) já teve alguma doença com 7 ou mais dias de febre e com muito cansaço as atividades diárias e coração grande? (cardiopatia aguda)

Sim Não Não sabe

32. O Sr(a) já teve alguma doença com febre por 7 dias ou mais e com algum tipo de sangramento (espontâneo)?

Sim Não Não sabe

33. Quantos irmãos o Sr(a) tem?

34. Quantos irmãos o Sr(a) sabe serem portadores (ou faleceram com) doença de Chagas

35. O Sr(a) sabe se sua mãe tem (ou faleceu com) doença de Chagas?

Sim Não Não sabe

36. O Sr(a) sabe se seu pai tem (ou faleceu com) doença de Chagas?

Sim Não Não sabe



37. Quantos irmãos o Sr(a) sabe que têm (ou faleceram de) doença do coração? (não necessariamente chagásica)

38. O Sr(a) sabe se sua mãe tem (ou faleceu) com alguma doença do coração?

Sim Não Não sabe

24565



	Ministério da Saúde	
 Ministério da Saúde Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ	INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS LABORATÓRIO DE PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇA DE CHAGAS	 I P E C Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas

PROJETO: Diagnóstico de doença de Chagas por sinais, sintomas e exposições em indivíduos com indicação de investigação diagnóstica de formas crônicas.

Avaliação Eletrocardiográfica 1

1. Número identificador único	2. Iniciais do nome do voluntário	Pag
<input type="text"/>	<input type="text"/>	1
3. Nome do avaliador do ECG (primeiro e último)		
<input type="text"/>		
4. Identificação do centro participante		5. Data de execução do ECG
<input type="radio"/> IPEC-RJ <input type="radio"/> UPE-PE <input type="radio"/> UNICAMP-SP		<input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>
6. Qualidade do ECG	7. Frequência cardíaca	33. Data do laudo do ECG
<input type="radio"/> Boa <input type="radio"/> Regular <input type="radio"/> Ruim	<input type="text"/>	<input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>

Assinalar a presença ou ausência dos achados abaixo: (não deixar campos em branco)

- | | |
|---|---|
| <p>8. ECG está normal?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não</p> <p>9. Bradicardia sinusal?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>10. Baixa voltagem?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>11. Arritmia sinusal?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>12. Bloqueio sino-atrial?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>13. Pausa sinusal?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>14. Bloqueio A-V primeiro grau?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>15. Bloqueio A-V primeiro grau 2:1?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>16. Bloqueio A-V segundo grau Mobitz 1?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>17. Bloqueio A-V segundo grau Mobitz 2?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>18. Bloqueio A-V total?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>19. BRD de segundo grau?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>20. BRD de terceiro grau?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> | <p>21. Bloqueio divisional antero-superior?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>22. EV isolada?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>23. EV monomórfica?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>24. EV polimórfica?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>25. TV não sustentada?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>26. BRE de segundo grau?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>27. BRE de terceiro grau?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>28. Zona elétrica inativa?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>29. Fibrilação atrial?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>30. Flutter atrial?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>31. Alteração primária de T?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> <p>32. Ritmo de marca-passo?
 <input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Ignorado</p> |
|---|---|

39952



Revisão sistemática do diagnóstico sorológico e molecular de doença de Chagas crônica

1. Número identificador:

página

18. (Q4) O período entre o teste em estudo e a referência foi razoável para assumir que a doença não se modificou neste período?

Sim Não Não está claro

19. (Q5) Toda a amostra, ou uma parte aleatória, foi submetida ao padrão de referência?

Sim Não Não está claro

20. (Q6) Os pacientes receberam o mesmo padrão de referência independente do resultado do teste em estudo?

Sim Não Não está claro

21. (Q7) A referência padrão foi independente do teste em estudo (i.é. o teste em estudo não fez parte da referência padrão)?

Sim Não Não está claro

22. (Q8) A execução do teste em estudo foi descrita o suficiente para permitir a sua replicação?

Sim Não Não está claro

23. (Q9) A execução do padrão de referência em estudo foi descrita o suficiente para permitira sua replicação?

Sim Não Não está claro

24. (Q10) Os resultados do teste em estudo foram interpretados sem conhecimento do resultado do padrão de referência?

Sim Não Não está claro

25. (Q11) Os resultados do padrão de referência foram interpretados sem conhecimento do resultado do teste em estudo?

Sim Não Não está claro

26. (Q12) Os mesmos dados clínicos que seriam disponibilizados para interpretação do teste na prática, foram disponibilizados para interpretação do teste em estudo?

Sim Não Não está claro

27. (Q13) Os resultados intermediários/inconclusivos/não interpretáveis do teste em estudo foram relatados?

Sim Não Não está claro

28. (Q14) As retiradas dos pacientes do estudo foram explicadas?

Sim Não Não está claro

Descrição de características da amostra utilizada.

38. Este estudo foi multicêntrico?

Sim Não Ignorado

39. País em que a investigação foi conduzida?

40. Lugar da investigação:

41. Ano de início da coleta dos dados:

42. Ano do fim da coleta dos dados:



Revisão sistemática do diagnóstico sorológico e molecular de doença de Chagas crônica

1. Número identificador:

página

43. Proporção de crianças na amostra: %

44. Proporção de homens na amostra: %

45. Idade média/mediana da amostra:

46. Idade máxima da amostra:

47. Idade mínima da amostra:

48. Há sujeitos provenientes de banco de sangue?

Sim Não Ignorado

49. Há sujeitos provenientes de área rural?

Sim Não Ignorado

50. Há sujeitos provenientes de área urbana?

Sim Não Ignorado

51. Proporção de sujeitos de banco de sangue: %

52. Proporção de sujeitos de área rural: %

53. Proporção de sujeitos de área urbana: %

54. Proporção de forma cardíaca: %

55. Proporção de forma indeterminada: %

56. (N) Total da amostra

86. Houve menção de submissão ao CEP?

Sim Não

Elementos e características do teste

57. Modalidade do teste: ELISA ELISA-rec PCR

58. Nome do fabricante:

59. Natureza do teste: In-house Comercial Ignorado

60. Nome do teste em estudo

61. Referência para doentes

62. Referência para não doentes



Revisão sistemática do diagnóstico sorológico e molecular de doença de Chagas crônica

1. Número identificador: página **63. Amostra utilizada**

- Soro Biópsia esôfago
 Sangue total Saliva
 Papel filtro Urina
 Biópsia coração Ignorado

64. Fase do estudo:

- F1(caso-controle)
 F2(caso-controle)
 F3(transversal)

65. Acoplado a inquérito:

- Sim
 Não
 Ignorado

Elementos e características do ELISA**66. Geração do ELISA:**

- Primeira Segunda Terceira Quarta Teste rápido Ignorado

67. Como estimou cut-off? 68. Como estimou zona cinza? 69. Valor do cut-off . **70. Antígeno utilizado**

- Epimastigota Amastigota Trypomastigota Trypo + Epi Não se aplica Ignorado

71. Caso antígeno não recombinante, este foi?

- Cru Purificado Não se aplica Ignorado

72. Cepa utilizada para antígeno

Elementos e características do PCR**73. Tamanho da sequência amplificada:** pb**74a. Número de amostras por paciente:** **74b. Volume por amostra:** ml**75. Volume de extração:** microlitros**76. Quantidade mínima detectada(nanograma)** . **77. Região do amplificado**

- K-DNA DNA Nuclear Não se aplica

78. Característica da região amplificada

- Conservada Hipervariada Não descrito

79. Característica da técnica

- Aninhado Regular Ignorado Hibridizado

80. Método de extração de DNA:

- Fenolcloroformio Comercial Ignorado Outros

17603



Revisão sistemática do diagnóstico sorológico e molecular de doença de Chagas crônica

1. Número identificador:

página 5

81. Controle de inibição:

Albumina Betaglobina Ignorado Outros

82. Controle de contaminação:

Sim Não Não se aplica Ignorado

83. Temperatura de hibridização:

84. Tempo de coleta e extração:

85. Condição de manutenção da amostra:

Adequado Pouco adequado Ignorado

Verdadeiro positivo

Sensibilidade

 .

Especificidade

 .

Área sob a curva

 .

Falso negativo

IC superior se

 .

IC superior sp

 .

AUC IC superior

 .

Falso positivo

IC inferior se

 .

IC inferior sp

 .

AUC IC inferior

 .

Verdadeiro negativo

Kappa ou CICC

 .


ANEXO – Figuras exibidas durante avaliação médica.



Retirado de <http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=34>



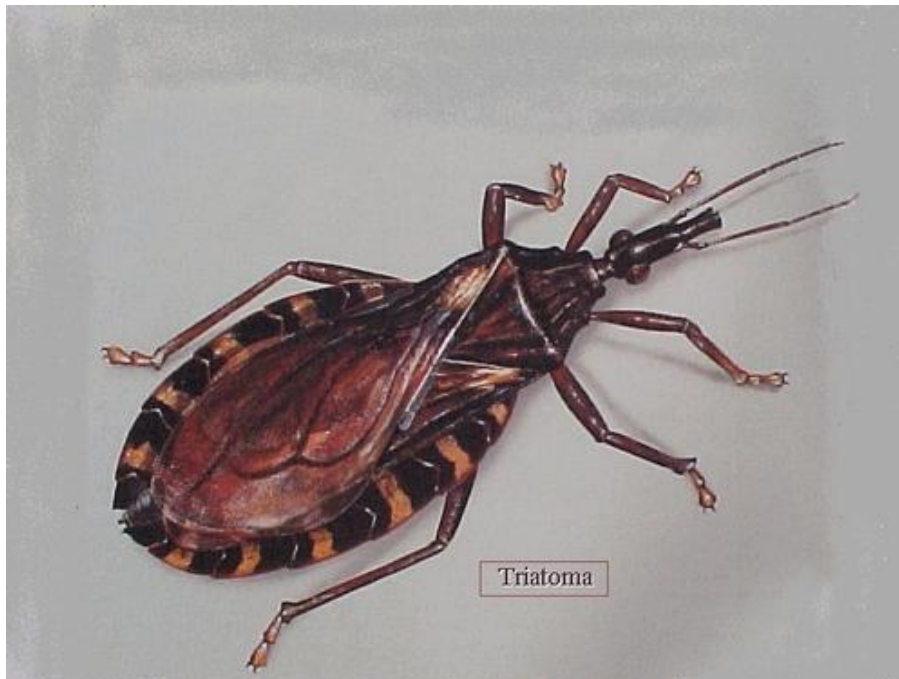
Retirado de <http://www.projis.famerp.br/grp07/>



Retirado de <http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Serra-Talhada-Casa-de-taipa.jpg>



Retirado de <http://gobhuila.gov.co/cms/images/stories/prensa/pito.jpg>



Retirado

de

http://twistedphysics.typepad.com/cocktail_party_physics/images/2007/09/12/triatoma.jpg



Retirado de <http://www.azdhs.gov/phs/oids/vector/images/tsanguisuga.jpg>



http://2.bp.blogspot.com/_fVhRhXQOjD4/TBrzSGJV48I/AAAAAAAAACA/4V93DPn3uy0/s320/Imagem11.jpg



Retirado de
http://pt.wikipedia.org/wiki/Doen%C3%A7a_de_Chagas



http://4.bp.blogspot.com/_jOSx2tni.xxc/Se8jHHym4tI/AAAAAAAAAFUg/uYQpRXKW4UE/s400/leish2.jpg



Retirado de http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_lta_2ed.pdf



Retirado de http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_lta_2ed.pdf