

Universidade Federal de Uberlândia
Centro de Ciências Biomédicas
Curso de Ciências Biológicas

***AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE INFECÇÃO CHAGÁSICA NA
POPULAÇÃO DAS ÁREAS URBANA E RURAL NO MUNICÍPIO DE
ABADIA DOS DOURADOS, MG, EM JULHO DE 1996.***

SANDRA BORGES PEREIRA GOMES

Monografia apresentada à coordenação do Curso
de Ciências Biológicas, da Universidade Federal
de Uberlândia, para a obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia-MG
Junho 1997

Universidade Federal de Uberlândia
Centro de Ciências Biomédicas
Curso de Ciências Biológicas

***AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE INFECÇÃO CHAGÁSICA NA
POPULAÇÃO DAS ÁREAS URBANA E RURAL NO MUNICÍPIO DE
ABADIA DOS DOURADOS, MG, EM JULHO DE 1996.***

SANDRA BORGES PEREIRA GOMES

Prof.^a Dr.^a. Julia Maria Costa-Cruz
Orientadora

Monografia apresentada à coordenação do Curso
de Ciências Biológicas, da Universidade Federal
de Uberlândia, para a obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas.

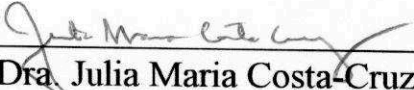
Uberlândia-MG
Junho 1997

Universidade Federal de Uberlândia
Centro de Ciências Biomédicas
Curso de Ciências Biológicas

***AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE INFECÇÃO CHAGÁSICA NA
POPULAÇÃO DAS ÁREAS URBANA E RURAL DO MUNICÍPIO DE
ABADIA DOS DOURADOS, MG, EM JULHO DE 1996.***

SANDRA BORGES PEREIRA GOMES

Aprovada pela comissão examinadora 26 / 6 / 97 Média 80


Prof.^ª Dra. Julia Maria Costa-Cruz
Departamento de Patologia
Orientadora

Ms. Eleuza Rodrigues Machado
Departamento de Patologia
Co-orientadora

Prof.^º Dr. José Roberto Mineo
Departamento de Patologia
Co-orientador

Uberlândia, 26 de Junho de 1997

***Estudar não é um ato de consumir idéias, mas de criá-las e
recriá-las.***

Paulo Freire

Dedico

A meus pais por terem me dado oportunidade de vida, apoio, carinho e compreensão nos momentos de maior dificuldade durante a minha vida acadêmica.

*Se queremos progredir, não devemos repetir a história, mas
fazer uma história nova.*

GANDHI

Agradecimentos

A Prof^a. Dra Julia Maria Costa-Cruz pela orientação, apoio e incentivo constantes e pela dedicação ao ensino e pesquisa da Parasitologia.

Ao Prof^o. Dr. José Roberto Mineo pela participação na banca examinadora e pelas aulas ministradas durante a disciplina de Imunologia.

A Prof^a Ms Eleuza Rodrigues Machado pela amizade e apoio no decorrer do trabalho.

Ao Prof^o Vanderli Anacleto de Campos, economista - Prof^o titular de estatística na Fundação Educacional de Ituiutaba, pelo auxílio na análise estatística dos dados.

Aos funcionários do Laboratório de Parasitologia, pelo apoio dado durante a parte experimental deste trabalho.

A Thatiana Santos de Souza, pela amizade e apoio no desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu querido esposo Edson Pereira Gomes, pelo carinho e esforço durante a coleta do material utilizado no trabalho.

ÍNDICE

1- INTRODUÇÃO	1
1.1- O PARASITA E A DOENÇA DE CHAGAS	1
1.2- FORMAS DA DOENÇA	2
1.2.1- Forma Indeterminada	2
1.2.2- Forma Cardíaca	3
1.2.3- Forma Digestiva	3
1.3- DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE CHAGAS	4
1.3.1- Diagnóstico Clínico	4
1.3.2- Diagnóstico Parasitológico	4
1.3.2.1- Métodos Diretos	4
1.3.2.2- Métodos Indiretos	4
1.3.2.2.1- Xenodiagnóstico	4
1.3.2.2.2- Xenocultura	6
1.3.2.2.3- Hemocultura	6
1.3.3- Diagnóstico Imunológico	6
1.3.3.1- Reação de Fixação do Complemento (RFC)	7
1.3.3.2- Hemaglutinação Indireta (HAI)	7
1.3.3.3- Imunofluorescência Indireta (IFI)	8
1.3.3.4- Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay (ELISA)	8
1.3.3.5- Polymerase Chain Reaction (PCR)	8
1.4- EPIDEMIOLOGIA	9
2- OBJETIVO	11
3- MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1- Área de Estudo	12
3.2- Amostragem	12
3.3- Reação de Imunofluorescência Indireta	13

3.4- Análise Estatística	13
4- RESULTADOS	15
5- DISCUSSÃO	22
6- CONCLUSÃO	26
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
8- APÊNDICE	34

RESUMO

A cidade de Abadia dos Dourados está localizada na região do Alto Paranaíba no estado de Minas Gerais e tem população estimada de 6.354 habitantes (censo 1993). Com o objetivo de avaliar a ocorrência de infecção chagásica, em julho de 1996, foram obtidas 501 amostras de sangue de indivíduos das áreas urbana (294) e rural (207), abrangendo 5 localidades desse município. O material foi colhido por punção digital, com lancetas descartáveis, em papel de filtro (Klabin 80 g/m²) pela metodologia de SOUZA & CAMARGO (1966). Após secagem do sangue à temperatura ambiente o material foi acondicionado em sacos plásticos e estocados em caixas para transporte ao Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de Uberlândia onde foram mantidos a 4°C até o momento da eluição ocorrida nos meses de agosto e setembro de 1996. Para as eluições das amostras os papéis foram cortados em discos de 12 mm de diâmetro, com auxílio do vazador metálico e depositados individualmente em batoques de plástico. A cada disco foram adicionados 0,3 ml de solução salina tamponada com fosfatos 0,01M, pH 7,2 por 18 horas a 4°C. Com os eluatos foi realizada a reação de imunofluorescência indireta (CAMARGO *et al.*, 1966). Como antígenos foram utilizados formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* a partir de cultura em meio LIT (CAMARGO, 1964) e conjugado anti IgG humano (Salk) no título ideal de 80. Em todas as lâminas foram incluídos soros padrões positivo e negativo para doença de Chagas na diluição de 1/20. A leitura das reações foi realizada em microscópio Olympus BH2 RFC, equipado com lâmpada de mercúrio, filtro de interferência e filtro barreira, em objetiva de 40X. As idades dos indivíduos

variaram de 2 a 78 anos. O índice de prevalência da infecção chagásica na população da área urbana foi de 0,3% e na área rural de 7,7%. O único caso da área urbana ocorreu em indivíduo do sexo feminino com 44 anos de idade. O número de casos positivos em relação ao número de amostras colhidas nas 5 localidades (L) seguida da porcentagem de positividade foram: L1 (5/62) 8,1%; L2 (6/87) 6,9%; L3 (0/7) 0%; L4 (1/19) 5,3% e L5 (4/32) 12,5%. Na área rural os 16 casos positivos compreendiam as idades de 27 a 75 anos sendo 11 casos do sexo masculino (68,7%) e 5 do sexo feminino (31,3%). A análise estatística dos dados, utilizando o teste QUI-quadrado (X^2), mostra que provavelmente a área em que o indivíduo habita interfere significativamente na ocorrência de infecção chagásica, sendo significativamente maior na área rural ($p < 0,05$) e que a ocorrência de infecção chagásica independe do sexo do indivíduo. A não detecção de casos positivos em indivíduos menores que 27 anos pode sugerir que houve interrupção da transmissão no município.

Palavras-chaves: *Trypanosoma cruzi* - Soroepidemiologia - Doença de Chagas.

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - O PARASITA E A DOENÇA DE CHAGAS

Dentre as doenças endêmicas, a doença de Chagas ocupa um lugar de destaque, seja pelo grau de morbidade e letalidade, seja pelo alto custo econômico e social que representa. A doença de Chagas constitui importante problema sanitário em diversos estados brasileiros, sendo responsável por parcela significativa dos gastos assistenciais do Sistema Único de Saúde. Levantamento realizado em Minas Gerais mostrou que a doença de Chagas foi responsável, em 1984, por 12,4% de todos os benefícios pagos por invalidez aos trabalhadores rurais e por 7,7% das aposentadorias da área urbana (ROCHA, 1995).

A sua importância com o problema de saúde pública no país deve-se, em primeiro lugar, à elevada prevalência e a extensão geográfica da doença, que se estima cobrir uma área de cerca de 3,6 milhões de Km², o equivalente a 44,5% do território nacional. Segundo a Organização Mundial de Saúde, a doença de Chagas é endêmica em 18 dos 26 estados brasileiros estendendo-se por 2.222 municípios (WHO, 1991). O inquérito sorológico nacional projetava uma

prevalência de cerca de 5 milhões de pessoas infectadas no país nas áreas rurais (CAMARGO *et al*, 1984).

Descoberta pelo brasileiro Carlos Chagas, a doença, tem como agente etiológico o *Trypanosoma cruzi* um protozoário flagelado, pertencente a família Tripanosomatidae e ao subfilo Shizotrypanum.

O *T. cruzi* infecta grande número de mamíferos e é transmitido de um hospedeiro a outro por intermédio de insetos hematófagos, triatomíneos, que são hemípteros da família Reduviidae. No organismo dos vertebrados (animais ou homens), os parasitas assumem a forma de tripomastigotas (no sangue) ou de amastigotas (no interior das células de diversos tecidos), enquanto que nos insetos encontram-se no tubo digestivo, principalmente com epimastigotas ou tripomastigotas metacíclicos (REY, 1992).

No início da infecção do vertebrado, correspondente a fase aguda, a parasitemia é mais elevada, podendo ocorrer morte no hospedeiro. Na espécie humana a mortalidade nesta fase da infecção ocorre principalmente em crianças. Quando o hospedeiro desenvolve resposta imune eficaz, diminui a parasitemia e a infecção tende a se cronificar. Na fase crônica, o número de parasitas é pequeno na circulação, só sendo detectados por métodos especiais como xenodiagnóstico, hemocultura e inoculação em camundongos (NEVES *et al*, 1995).

A infecção no homem pelo *T. cruzi* pode ocorrer por transmissão vetorial, transfusional, congênita ou por transplante de órgãos de doadores chagásicos para receptores sadios, levando a quadros clínicos e conseqüências variadas e pode ser classificada em uma fase aguda benigna ou grave, e uma fase crônica (PRATA, 1990).

1.2 - FORMAS DA DOENÇA

1.2.1 - Forma Indeterminada

Nas áreas endêmicas em 50% a 70% dos casos, a forma indeterminada da doença é encontrada variando com a região considerada e outros fatores desconhecidos, o parasitismo pelo *T. cruzi* desenvolve-se apresentando uma forma latente desde o início; tais casos assintomáticos (só com reações sorológicas ou xenodiagnósticos positivos) são designados como formas indeterminadas, sem sintomas, com eletrocardiograma normal e com radiografias normais de coração, esôfago e cólons. A forma indeterminada é a mais freqüente entre os pacientes crônicos (REY, 1992).

1.2.2 - Forma Cardíaca

A cardiopatia chagásica crônica devida ao *T. cruzi*, apresenta-se com grande variedade de quadros clínicos, observa-se, desde arritmias até os sinais e sintomas de uma insuficiência cardíaca. Há pacientes que têm apenas palpitações e astenia, mostrando aos exames alterações eletrocardiográficas, área cardíaca normal ou ligeiramente aumentada. Nos casos mais graves, a insuficiência cardíaca acompanha-se de sintomas como edemas, derrames cavitários, congestão visceral e dispnéia (REY, 1992).

1.2.3 - Forma Digestiva

Os primeiros sintomas são disfagia, o paciente tem dificuldade em deglutir alimentos sólidos, surgindo uma tendência à regurgitação. Nos casos mais avançados a disfagia é substituída pela sensação de plenitude intratorácica retroesternal. As lesões intestinais (colopatias) da tripanossomíase sul-americana causam inicialmente constipação, que se vai agravando pouco a pouco. O doente começa fazendo uso de laxativos suaves e termina por necessitar de lavagens intestinais com freqüência (REY, 1992).

1.3 - DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE CHAGAS

1.3.1 - Diagnóstico Clínico

Elementos importantes para a suspeita da etiologia chagásica são a região de procedência do paciente ou o fato de ter vivido ou pernoitado em casas onde havia triatomíneos. Outro antecedente a levar em consideração é o fato de ter o paciente recebido transfusões sanguíneas. Durante a fase aguda, o diagnóstico é facilitado quando está presente o sinal de Romanã. Em pacientes de áreas endêmicas, deve-se pensar na doença de Chagas sempre que crianças apresentarem febre, aumento do fígado e do baço e sintomas cardíacos. Noutros casos, chamam muito atenção as arritmias e a insuficiência circulatória em adultos jovens (REY, 1992).

1.3.2 - Diagnóstico Parasitológico

1.3.2.1 - Métodos Diretos

Devido à inespecificidade e diversidade das manifestações clínicas, os métodos de laboratório devem ser utilizados sempre que se queira confirmar ou afastar o diagnóstico da doença de Chagas. No período agudo recomenda-se principalmente o exame parasitológico do sangue, a punção-biópsia de gânglio linfático, cultura de parasitas. Na fase crônica são mais indicadas as provas imunológicas (REY, 1992).

1.3.2.2 - Métodos Indiretos

1.3.2.2.1 – Xenodiagnóstico

A - Xenodiagnóstico Natural

Para a sua realização, faz-se necessária a criação de triatomíneos livres de infecção pelo *T. cruzi* e um tempo mínimo de trinta dias para obtenção dos resultados.

A sensibilidade deste método pode variar de 49,3% (WENDEL *et al*, 1992) a 100% como descrito por SILVA *et al* (1993). A importância da repetição do xenodiagnóstico foi salientada por CASTRO *et al* (1983), sendo também necessária a leitura individual das dejeções dos triatomíneos. No entanto a espécie de triatomíneo utilizada, o método de obtenção das dejeções e talvez mesmo o volume de sangue ingerido pelo vetor podem interferir no resultado do xenodiagnóstico e devem ser levados em consideração para se avaliar a parasitemia (CERISOLA *et al*, 1971; SILVA *et al*, 1993).

B - Xenodiagnóstico Artificial

Consiste na utilização de sangue desfibrinado ou citratado e, como artifício, um tubo de ensaio, coberto com pele de cobaia recém-sacrificada, que ficou em contato com os triatomíneos em estufa a 37°C. O sangue é coletado através da secção dos vasos axilares de camundongos infectados com a cepa Y de *T. cruzi*. Após a contagem de tripanossomas nos camundongos, colhe-se o sangue, heparinizado ou citratado, pelo método anteriormente descrito, e coloca-se no dispositivo sobre a membrana de látex, para a realização do xenodiagnóstico artificial. O dispositivo é constituído de uma estante de madeira, fonte de aquecimento e peças de vidro. A estante serve de suporte para as peças de vidro e para os frascos com os triatomíneos. Essa peça de vidro é constituída por duas câmaras, uma interna, em forma de funil, guarnecida ao fundo por uma membrana de látex (preservativo masculino, não lubrificado), distendida até desaparecer o branco opaco e surgir o branco translúcido, e a externa que serve

para aquecer a primeira, através de um fluxo de água bombeado por um banho-maria, à temperatura de 37°C (ISAC, 1994).

1.3.2.2.2 - Xenocultura

BRONFEN *et al* (1989), inoculando em meio de cultura as dejeções dos triatomíneos usados no xenodiagnóstico, observaram redução no tempo para leitura dos resultados e aumento da sensibilidade. Porém, CHIARI (1992), sugere que esta técnica não seja utilizada rotineiramente em laboratório, mas sim na avaliação eventual do xenodiagnóstico.

1.3.2.2.3 - Hemocultura

Utilizando o meio LIT (Liver Infusion Tryptose) descrito por CAMARGO (1964), CHIARI, BRENER (1966) encontraram positividade para o T. *Cruzi* de 31,8% e modificações subsequentes introduzidas na técnica original aumentaram sua sensibilidade. Alguns fatores são limitantes para a sensibilidade deste método, entre eles o tempo de manuseio da amostra de sangue, o uso de tubos novos para o cultivo e o tempo esperado para examinar a cultura. Recentemente LUZ *et al* (1994) modificando a técnica de hemocultura descrita por CHIARI *et al* (1989), obtiveram sensibilidade, chegando ao valor de 79% com um teste e 94% com três testes.

1.3.3 - DIAGNÓSTICO IMUNOLÓGICO

Os métodos imunológicos são importantes no reconhecimento da doença de Chagas, não só pela grande sensibilidade e pela facilidade de execução, como também por fornecerem informações em horas ou minutos e se beneficiarem do

fato de aparecerem anticorpos no sangue ainda na fase aguda, e de se manterem continuamente ao longo de toda a fase crônica da doença (REY, 1992).

1.3.3.1 - Reação de Fixação do Complemento (RFC)

A sensibilidade descrita para esta reação é variada. DIAS (1955) relata 98,6% e BATISTA, SANTOS (1959) relataram 100%. Devido a discrepância entre os títulos sorológicos obtidos pela RFC em diferentes laboratórios, ALMEIDA, FIFE (1976) padronizaram a preparação de antígenos, bem como a técnica de RFC com 50% de hemólise.

Com o intuito de simplificar a metodologia da RFC para o diagnóstico de diversas patologias e diminuir os custos dos reagentes, ARANTES (1969 e 1976), testou o emprego de eritrócitos humanos como revelador, não observando decréscimo significativo de especificidade ou sensibilidade.

1.3.3.2 - Hemaglutinação Indireta (HAI)

A técnica de Hemaglutinação Indireta (HAI) foi padronizada por KNIERIM, RUBINSTEIN (1970) para diagnosticar a doença de Chagas, usando hemácias humanas ligadas a antígenos provenientes de um extrato aquoso de formas epimastigotas e os índices relatados de sensibilidade e especificidade foram comparáveis aos encontrados para a fixação de complemento por CERISOLA *et al* (1970). Estes resultados recomendam o uso da técnica para a seleção de doadores e estimularam pesquisas para sua otimização.

HOSHINO-SHIMIZU *et al* (1978 e 1982) desenvolveram um reagente polissacarídico estável para diagnosticar a fase aguda ou infecções recentes *por T. cruzi* através da HAI.

1.3.3.3 - Imunofluorescência Indireta (IFI)

Esta técnica permite discriminar diferentes classes de imunoglobulinas IgM, IgG e IgA e foi primeiramente descrita por FIFE *et al* (1959), os quais usaram como antígeno, formas epimastigotas obtidas de cultura *in vitro*. CAMARGO *et al* (1966) desenvolveram a técnica para o diagnóstico da doença de Chagas obtendo altos índices de sensibilidade e especificidade.

Observando que a forma evolutiva do *T. cruzi* utilizada interfere na IFI, ARAÚJO *et al* (1984) relataram que a forma amastigota obtida de cultura celular é um antígeno mais sensível que o da forma epimastigota para detecção de IgG.

1.3.3.4 - Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay (ELISA)

O ELISA é um teste imunoenzimático realizado em placas de poliestireno, usando extrato de *T. cruzi* como antígeno (VOLLER *et al*, 1975).

Devido às altas sensibilidade e especificidade observadas nos testes ELISA para diagnóstico da doença de Chagas, FERREIRA *et al* (1979) recomendaram seu emprego para selecionar doadores de sangue.

1.3.3.5 - Polymerase Chain Reaction (PCR)

Consiste na polimerização e identificação de fragmentos de DNA do parasita que estejam presentes no sangue do paciente infectado através de uma reação de amplificação do ácido nucleico do parasita. Este método é muito específico e poderá oferecer perspectivas para o diagnóstico de fase crônica e controle de tratamento, pois pode detectar quantidades mínimas de antígenos (REY, 1992).

1.4 - EPIDEMIOLOGIA

Estudando-se a distribuição geográfica e o desenvolvimento da doença de Chagas, pode-se inferir que ela era uma doença exclusivamente de animais e triatomíneos silvestres. Posteriormente passou para o homem, na medida em que este modificou ou destruiu o ciclo silvestre natural e construiu a caçua na zona rural. Nessa caçua os triatomíneos adaptaram-se e colonizaram-se, a doença de Chagas tornou-se então uma antropozoonose típica (NEVES *et al*, 1995).

Com o intuito de pesquisar a atual situação da doença de Chagas vários trabalhos têm sido realizados. Os trabalhos de campo sobre a morbidade da doença de Chagas no Brasil iniciaram-se em Bambuí, estado de Minas Gerais (LARANJA *et al*, 1956).

DIAS (1982) reviu a evolução dos casos agudos da doença de Chagas em Bambuí, Minas Gerais, de 1940 a 1982.

Entre 1975 e 1980, foi realizado o Inquérito Sorológico Nacional de Prevalência da Doença de Chagas, onde pode-se notar que as maiores prevalências foram encontradas no Rio Grande do Sul (8,84%); Minas Gerais (8,83%); Goiás (7,40%); Sergipe (5,97%) e Bahia (5,44%). Dos sete milhões de habitantes com infecção chagásica existentes no continente americano, mais de 50% encontram-se no território brasileiro, sendo que o estado de Minas Gerais, principalmente na região Sudoeste, constitui uma das áreas de maior endemicidade (CAMARGO *et al*, 1984).

Foi relatada a interrupção da doença há pelo menos 15 anos por ABREU *et al*, 1975 e 5 anos por PEREIRA, 1983 em outros municípios mineiros.

(MINEO *et al*, 1985) nos seus estudos constata o reaparecimento de casos positivos para o *T. cruzi* em crianças nos municípios de Abadia dos Dourados, Pedrinópolis e Campina Verde, podendo admitir a possibilidade de retorno da transmissão congênita da infecção chagásica.

Muitos trabalhos vem sendo realizados através da coleta de sangue em papel de filtro, pois facilita e reduz o custo do transporte e armazenamento das amostras (GUIMARÃES, 1983).

As amostras estocadas desde duas semanas até 16 meses em temperatura superior a 20°C e umidade relativa maior que 90% se conservaram sem perda de título até três meses e, à mesma temperatura, porém com teor de umidade mais baixo, conservaram-se até 14 meses (MARINKELLE *et al*, 1978).

Uma investigação sorológica da doença de Chagas em cinco municípios da região Noroeste do Paraná, também foi feita utilizando-se a coleta de sangue em papel de filtro para análise qualitativa através da reação de Imunofluorescência Indireta (GOMES *et al*, 1992).

Estudos entomológicos e sorológicos em Pirenópolis, Goiás, foram realizados colhendo-se o sangue digital em papel de filtro, onde detectou-se, em 360 amostras, uma positividade de 11,39%, para a doença de Chagas (SILVA *et al*, 1992).

Pode-se detectar a morbidade da doença de Chagas em áreas do sertão da Paraíba e da caatinga do Piauí através da coleta de sangue em papel de filtro (COURA *et al*, 1996).

2- OBJETIVO

Avaliar a ocorrência da infecção chagásica em indivíduos nas áreas urbana e rural, no município de Abadia dos Dourados, MG através de sangue colhido em papel de filtro utilizando o teste de Imunofluorescência Indireta.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Área de Estudo

A colheita de sangue foi realizada nas áreas urbana e rural do município de Abadia dos Dourados, localizada no estado de Minas Gerais, região do Alto Paranaíba que dista 120 Km da cidade de Uberlândia. A população é estimada em 6.424 habitantes (IBGE 1996) Figura 1.

3.2 - Amostragem

Foram colhidas 501 amostras de sangue das áreas urbana (294) e rural (207), abrangendo 5 subáreas rurais do município de Abadia dos Dourados, atingindo 8% da população. Após a assinatura de um termo de consentimento, o material foi colhido por punção digital, com lancetas descartáveis, em papel de filtro (Klabin 80 g/m²) pela metodologia de SOUZA, CAMARGO (1966), no mês de julho de 1996, as amostras foram numeradas em ordem segundo a área e acompanhadas das respectivas fichas de identificação contendo nome completo,

sexo e idade. Após a secagem do sangue à temperatura ambiente, o material foi acondicionado em sacos plásticos e estocado em caixas para transporte sendo enviado ao Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de Uberlândia onde foram mantidos a 4°C até o momento da eluição. Para as eluições das amostras, que ocorreram nos meses de agosto a setembro de 1996, os papéis foram cortados em discos de 12 mm de diâmetro, com auxílio do vazador metálico e adicionados 0,3 ml de solução salina tamponada com fosfatos 0,01 M, pH 7,2 por 18 horas a 4°C.

3.3 - Reação de Imunofluorescência Indireta

Com os eluatos foi realizada a reação de Imunofluorescência Indireta segundo técnica descrita por CAMARGO *et al*, 1966. Como antígenos foram utilizadas formas epimastigotas de *T. cruzi* obtidas a partir de cultura em meio LIT (CAMARGO, 1964) fixadas em lâminas de microscopia e conjugado anti-IgG humano (Salk) no título ideal de 80. Em todas as lâminas foram incluídos soros padrões positivo e negativo para a doença de Chagas na diluição de 1/20. As leituras das reações foram realizadas em microscópio "OLYMPUS BH2 RFC", equipado com lâmpada de mercúrio, filtro de interferência e filtro barreira em objetiva de 40X.

3.4 - Análise Estatística

Todos os resultados foram analisados usando o teste QUI-quadrado (X^2), com nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$), e com grau de liberdade 1 ($\varphi = 1$) e o teste relativo à diferença de 2 proporções envolvendo a Distribuição Normal ao nível de significância de 5%, (SPIEGEL, 1993).

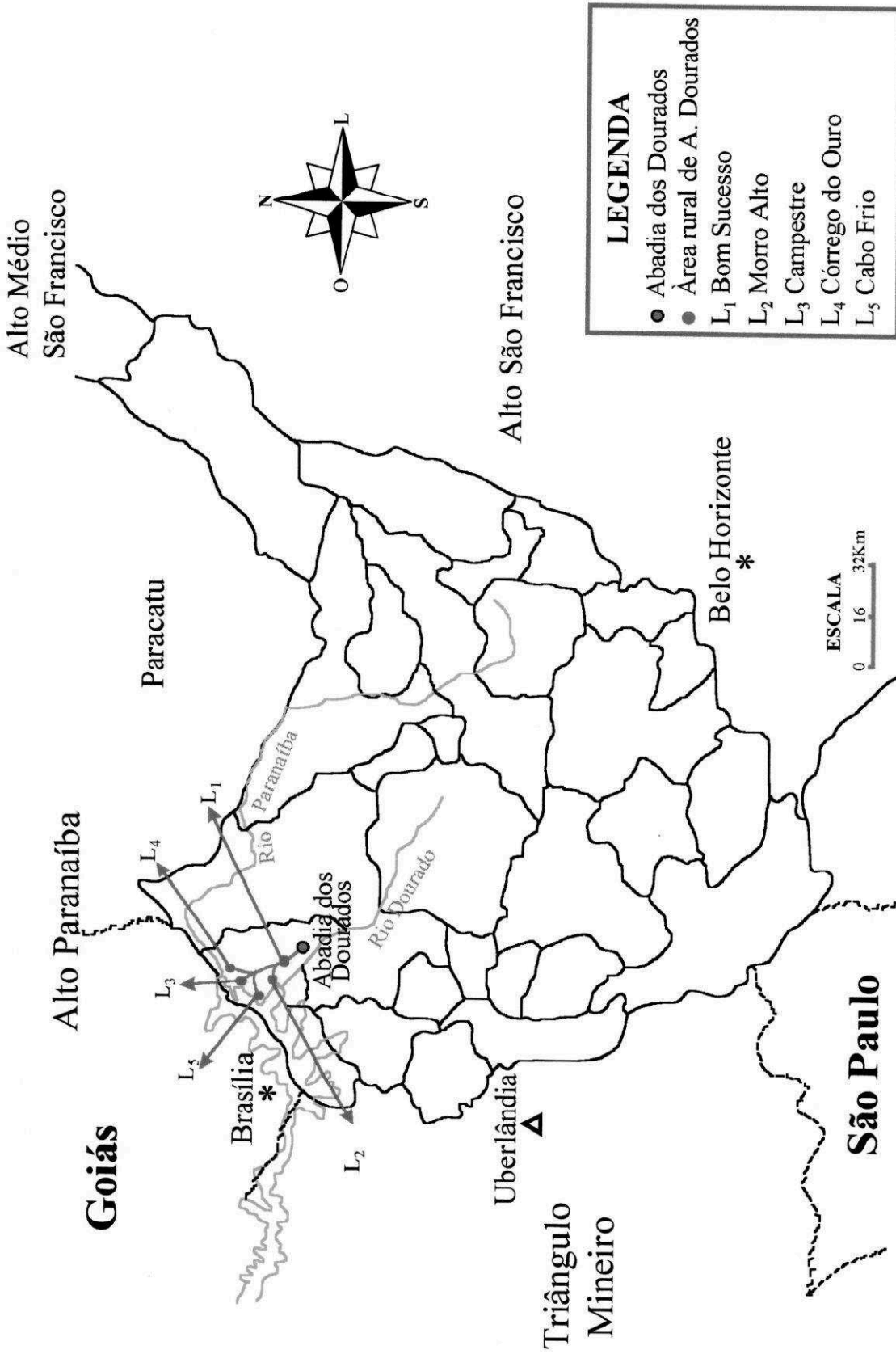


Figura 1 - Localização geográfica de 5 localidades das áreas rural e urbana do município de Abadia dos Dourados, região do Alto Paranaíba, Minas Gerais.

4 - RESULTADOS

A ocorrência de infecção chagásica segundo a área dos habitantes do município de Abadia dos Dourados foi de 17 (3,4%) casos positivos, sendo que 1 (0,3%) caso foi na área urbana e 16 (7,7%) na área rural (Tabela 1).

A análise estatística desses dados mostra que provavelmente a área em que o indivíduo habita interfere significativamente na ocorrência de infecção chagásica, sendo a incidência maior na área rural ($p < 0,05$).

A Tabela 2 demonstra a ocorrência de infecção chagásica segundo o sexo dos habitantes das áreas urbana e rural de Abadia dos Dourados, dos 17 casos positivos, 11 (8,9%) pertenciam à área rural e sexo masculino e 1 (0,5%) pertencia à área urbana e sexo feminino. Na área urbana, houve 105 (100%) casos negativos do sexo masculino e 188 (99,5%) casos negativos do sexo feminino. Na área rural houve 113 (91,1%) casos negativos do sexo masculino e 78 (94%) casos negativos do sexo feminino.

Conforme a análise estatística dos dados, a ocorrência de infecção chagásica independe do sexo do indivíduo ao nível de 5% ($p > 0,05$).

A tabela 3 demonstra a ocorrência de infecção chagásica segundo a faixa etária dos habitantes das áreas urbana e rural de Abadia dos Dourados.

Na faixa etária de 1 a 6 anos não houve casos positivos.

Na faixa etária de 15 a 29 anos houve apenas um caso positivo (5,9%) sendo que este indivíduo habita na área rural. Na faixa etária de 30 a 44 anos houve dois casos positivos (11,8%), sendo que um caso pertencia a área rural e o outro a área urbana.

O maior número de casos positivos foi para a faixa etária de maiores de 45 anos (82,3%), 14 casos. Todos os casos pertenciam a indivíduos da área rural.

O único caso da área urbana ocorreu em indivíduo feminino com 44 anos de idade. Na área rural os casos positivos compreendiam as idades de 27 a 75 anos.

A Figura 2, mostra a porcentagem de amostras positivas segundo o sexo, nas áreas urbana e rural, onde, 31,3% das amostras positivas eram de indivíduos do sexo feminino e 68,7% do sexo masculino.

Através do teste da diferença de 2 proporções envolvendo a Distribuição Normal ao nível de significância de 5%, obtivemos Z calculado = 1,602 e Z crítico = 1,96, concluindo-se não haver diferença significativa entre as proporções de infecção chagásica nos sexos masculino e feminino.

Na Figura 3 demonstra-se o número de casos positivos em relação ao número de amostras colhidas em 5 localidades rurais (L) seguida da porcentagem de positividade: L5 (4/32) 12,5%; L1 (5/62) 8,1%; L2 (6/87) 6,9%; L4 (1/19) 5,3% e L3 (0/7) 0%. Usando-se o teste do Qui-quadrado ao nível de significância 5% para comparar a ocorrência de infecção chagásica nas 4 localidades rurais, as localidades L3 e L4 foram transformadas em uma única localidade para procedermos a análise estatística, obtivemos X^2 (calculado) = 1,667 e X^2 (tabela) = 7,81, constatando não haver diferença significativa entre as proporções de infecção chagásica nessas localidades.

Tabela 1. Ocorrência de infecção chagásica segundo a área dos habitantes do município de Abadia dos Dourados-MG, em julho de 1996.

Reação de Imunofluorescência	Área Urbana		Área Rural		Total	
	Nº amostras	%	Nº amostras	%	Nº amostras	%
Indireta						
Positivo	1	0,3	16	7,7	17	3,4
Negativo	293	99,7	191	92,3	484	96,6
Total	294	100,0	207	100,0	501	100,0

Nº = número de amostras

% = porcentagens

Tabela 2 - Ocorrência de infecção chagásica segundo o sexo dos habitantes das áreas urbanas e rural do município de Abadia dos Dourados-MG, em julho de 1996.

Reação de Imunofluorescência Indireta	Masculino				Feminino				Total			
	Urbana		Rural		Urbana		Rural		Urbana		Rural	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
Positiva	0	0,0	11	8,9	1	0,5	5	6,0	1	0,3	16	7,7
Negativa	105	100,0	113	91,1	188	99,5	78	94,0	293	99,7	191	92,3
Total	105	100,0	124	100,0	189	100,0	83	100,0	294	100,0	207	100,0

Nº = número de amostras

% = porcentagens

Tabela 3 - Ocorrência de infecção chagásica em porcentagem segundo a faixa etária dos habitantes do município de Abadia dos Dourados-MG, em julho de 1996.

Faixa etária dos casos positivos		
Anos	Nº	%
01 - 06	0	0,0
07 - 14	0	0,0
15 - 29	1	5,9
30 - 44	2	11,8
45 E +	14	82,3
Total	17	100,0

Nº = número de amostras

% = porcentagens

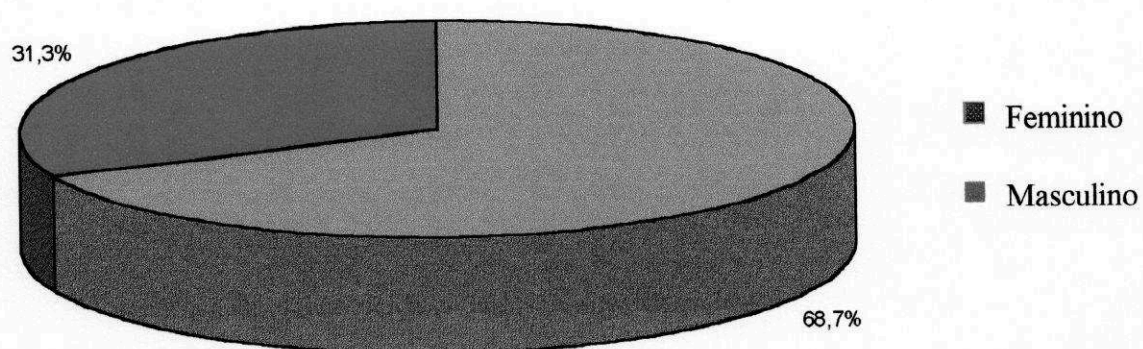


Figura 2: Porcentagem dos casos positivos de infecção chagásica segundo o sexo dos habitantes das áreas urbana e rural de Abadia dos Dourados - MG, em julho de 1996.

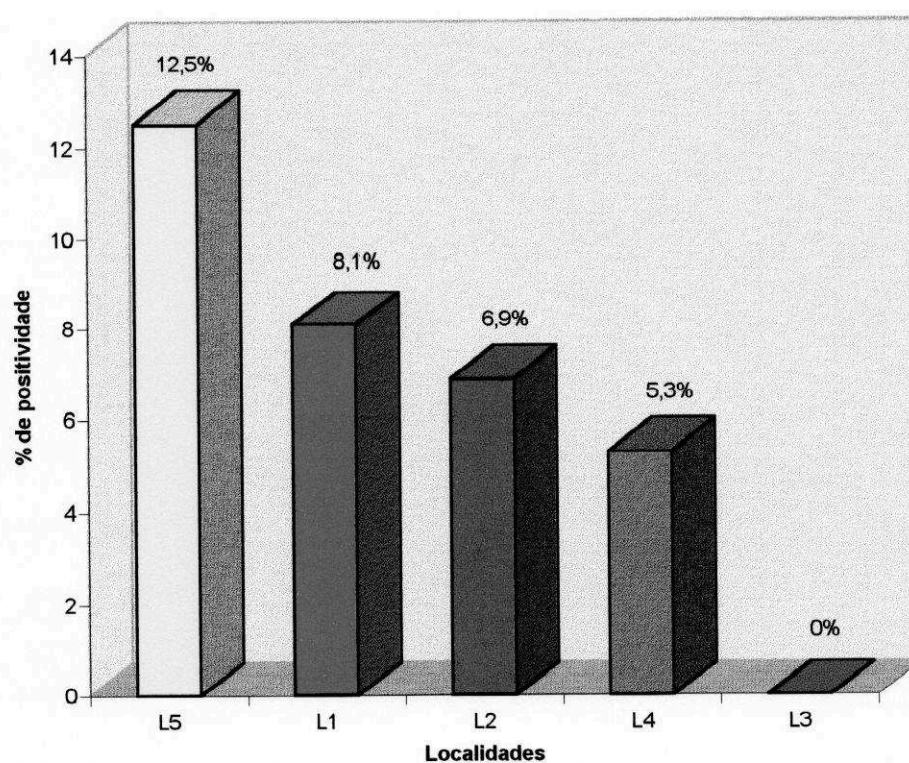


Figura 3: Ocorrência de Infecção Chagásica e distribuição segundo localidades da área rural do município de Abadia dos Dourados - MG, em julho de 1996.

5 - DISCUSSÃO

A coleta de sangue em papel de filtro tem o custo relativo ao transporte e armazenamento muito reduzido em face do menor volume que as amostras ocupam, pelo fato de poderem ser enviadas pelo correio dentro de envelopes comuns e pela inexistência de perdas representadas por quebra de vidrarias. Conhecendo e compreendendo as limitações relativas ao uso da coleta de sangue em papel de filtro, este é o método mais recomendável para inquéritos soroepidemiológicos (GUIMARÃES, 1983).

No presente trabalho, foi feita a coleta de sangue da polpa digital em papel de filtro Klabin 80 g/m², pela metodologia de SOUZA & CAMARGO (1966).

Este método de coleta de sangue em papel de filtro tem sido adotado também por outros autores (SILVA *et al*, 1992; GOMES *et al*, 1992; COURA *et al*, 1996), principalmente em países do Terceiro Mundo, onde o custo do transporte do material dos pontos de coleta ao centro processador é fator importante na escolha de qual procedimento a ser usado.

A exceção do papel de filtro, os outros métodos de coleta, envolvem uma etapa de separação do coágulo e refrigeração do soro até o momento do processamento. Se o inquérito requer um número elevado de amostras e/ou

grandes distâncias entre os pontos de coleta e de processamento, o custo do transporte torna-se elevado; acrescenta-se também, o custo adicional em virtude de erros na identificação das amostras, contaminação do material por condições atmosféricas adversas, como altas temperaturas e umidade, com a consequente desnaturação dos anticorpos eventualmente presentes (GUIMARÃES, 1983).

O teste sorológico de Imunofluorescência Indireta foi usado, segundo técnica descrita por CAMARGO *et al*, (1966), devido a praticidade deste teste e a possibilidade do uso de reagentes padronizados, além dos altos índices de especificidade e sensibilidade.

Um dos aspectos que chama a nossa atenção no presente trabalho é a baixa prevalência da infecção chagásica na área urbana de Abadia dos Dourados, sendo apenas de 1 (0,3%) caso positivo, enquanto na área rural 16 (7,7%) dos casos foram positivos. Recordando-se o fato de ser a doença de Chagas uma enzootia de animais silvestres, e que, através de triatomíneos domiciliários, adaptou-se ao homem.

DIAS (1993) também encontrou a maior permanência dos indivíduos soropositivos em áreas rurais.

Não foi possível utilizar teste estatístico para análise mais detalhada dos positivos em Abadia dos Dourados na épocas 75/80 e 1996 por faixa etária, pois em 75/80 (Inquérito Sorológico Nacional para a DOENÇA DE CHAGAS) não temos o número de casos, contando apenas porcentagem de positivos por faixa etária no período.

Quando comparamos os dados do Inquérito com os do presente trabalho, nas faixa etárias 1-6 e 7-14 as porcentagens de positivos por faixa caíram de 6,8% e 6,8% para 0 (zero)% e 0 (zero)%, respectivamente.

Na faixa etária 15-29 a porcentagem de positivo apresentou pequena diminuição, caindo de 9% para 5,9% por faixa.

Na faixa etária 30-44 houve grande diminuição das porcentagens de positivos, caindo de 34% para 11,8%.

Na faixa acima de 45 houve grande aumento na porcentagem de positivo, elevando de 43,1% para 82,3%.

Podemos concluir diante destes dados que houve interrupção da transmissão da doença de Chagas, visto que não encontramos positividade para indivíduos menores que 27 anos.

A maior porcentagem (82,3%) de positividade foi encontrada na faixa etária acima de 45 anos.

O percentual total de soropositivos no Inquérito Sorológico Nacional para a doença de Chagas em Abadia dos Dourados foi de 31,5. MINEO *et al*, 1985 encontrou 1,5% para a faixa etária de 1 a 6 anos e nenhum caso de positividade para a faixa de 7 a 14 anos.

Não estamos com todos os dados necessários para análise estatística mais detalhada no que se refere a porcentagem de positivos e número de pacientes na amostra, em Abadia dos Dourados no período 75/80.

Tão logo seja possível a complementação dos dados referentes à pesquisa realizada no período 75/80, faremos a análise Estatística, usando o teste apropriado.

O número de casos positivos em relação ao número de amostras colhidas nas 5 localidades (L) rurais de Abadia dos Dourados, mostrou-nos uma variação de 12,5% (L5) a 0% (L3), concluímos assim que para se fazer inferências quanto ao rompimento da cadeia epidemiológica do *T. cruzi*, embora não havendo diferença estatística significativa entre as proporções de infecção chagásica nessas localidades, deve-se levar em conta, sempre, as peculiaridades das localidades, a organização do espaço físico e a ocupação deste espaço pelo homem.

Os indivíduos do sexo masculino apresentaram 4,8% de positividade para a infecção chagásica, e o sexo feminino 2,2% (Tabela 2), porém não houve diferença estatisticamente significativa entre os sexos masculino e feminino.

6 - CONCLUSÃO

Mediante os resultados deste trabalho, a não detecção de casos positivos em indivíduos menores que 27 anos pode sugerir que houve interrupção da transmissão no município de Abadia dos Dourados.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. L. *et al.* Aspéctos demográficos em área onde a doença de Chagas foi interrompida. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 11, 1975, Rio de Janeiro, Anais.

ALMEIDA, I. O., FIFE, E. H. Método de fijación del complemento estandarizado cuantativamente para la evaluacion critica de antígenos preparados com *Trypanosoma cruzi*. Washington: Organizacion Panamericana de la Salud. Oficina Sanitária Panamericana, Oficina Regional de la Organizacon Mundial de la Salud, 1976. (Publicacion científica, 319).

ARANTES, M. A. Emprego de hemácias humanas na reação de fixação de complemento em gotas, para exclusão de doadores de sangue. *Hosp.*, v. 76, n. 1, p. 107-112, 1969.

ARANTES, M. A. Emprego do sistema hemolítico anti-homem em reação de fixação de complemento para sífilis, moléstia de Chagas e Brucelose. *Ci. Cult*, v. 28, n.7, p. 528, 1976, Suplemento.

* Normas segundo ABNT NBR 6023/1989

- ARAÚJO, R. G. *et al.* Use of antigen preparations of amastigote of *Trypanosoma cruzi* in the serology of Chagas disease. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 33, p. 362-371, 1984.
- BATISTA, S. M., SANTOS, U. M. Antígeno metílico de cultura de *Schizotrypanum cruzi*. *Hosp.*, v. 56, p. 1045-1051, 1959.
- BRONFEN *et al.* Isolamento de amostras do *Trypanosoma cruzi* por xenodiagnóstico e hemocultura de pacientes na fase crônica da doença de Chagas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 84, n. 2, p. 237-240, 1989.
- CAMARGO, E. P. Growth and differentiation in *Trypanosoma cruzi*. Origin of metacyclic trypanosomes in liquid media. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v. 6, p. 93-100, 1964.
- CAMARGO, M. E. *et al.* Fluorescent antibody test for diagnosis of american tripanosomiasis. Technical modification employing preservated culture forms of *T. cruzi* in slide test. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v. 8, n.5, p. 227-274, 1966.
- CAMARGO, M. E. *et al.* Inquérito sorológico de prevalência de infecção chagásica no Brasil, 1975/1980. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v. 26, n. 4, p. 192-204, 1984.
- CASTRO, C. *et al.* Importância da repetição do xenodiagnóstico para avaliação da parasitemia na fase crônica da doença de Chagas. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 16, n. 2, p. 98-103, 1983.

CERISOLA, J. A. *et al.* Imunodiagnóstico da doença de Chagas. Evolução sorológica de pacientes com doença de Chagas. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v. 12, p. 403-411, 1970.

CERISOLA, J. A. *et al.* Rendimiento del xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica humana utilizando ninfas de diferentes especies de triatomíneos. *Bol. Chil. Parasitol.*, n. 26, p. 57-58, 1971.

CHIARI, E. Padronização do xenodiagnóstico. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, n. 5, Supl. 3, p. 40-42, 1992.

CHIARI, E., BRENER, Z. Contribuição ao diagnóstico da doença de Chagas na sua fase crônica. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v. 8, p. 134-138, 1966.

CHIARI, E. *et al.* Hemocultures for the parasitological diagnosis of human chronic Chagas disease. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 22, p. 19-22, 1989.

Contagem de população, 1996. IBGE.

COURA, J. R. *et al.* Morbidade da doença de Chagas em áreas do sertão da Paraíba e da caatinga do Piauí. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 29, p. 197-205, 1996.

DIAS, F. Informações acerca de 300 casos da doença de Chagas com período inicial conhecido, fichados no Centro de Estudos de Bambuí. *Hosp.*, v. 47, p. 9-17, 1955.

DIAS, J. C. P. Doença de Chagas em Bambuí, MG, Brasil, Estudo clínico e epidemiológico a partir da fase aguda, entre 1940 e 1982. BH, Universidade de Minas Gerais, 1982. (Tese, Doutorado).

DIAS, J. C. P. Aspéctos clínicos, sociais e trabalhistas da doença de Chagas em área endêmica sob controle do Estado de Minas Gerais, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 26, p. 93-99, 1993.

FERREIRA, A. W. *et al.* Aplicação do teste ELISA ao diagnóstico sorológico da Doença de Chagas. II-Estudo comparativo com outros testes sorológicos em residentes de região endêmica (Mambai,GO). *Abstrats Congresso Internac. Doença de Chagas*, p. 20, 1979.

FIFE, E. H. *et al.* Fluorescent antibody technique for serodiagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. *Biol.*, v. 101, p. 540-543, 1959.

GOMES, M. L. *et al.* Investigação sorológica da doença de Chagas e isolamento do *Trypanosoma cruzi* em indivíduos de cinco municípios da região Noroeste do Paraná. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 25, Supl.3, p. 94, 1992.

GUIMARÃES, M. C. S. Inquéritos soroepidemiológicos. Coleta, transporte e armazenamento de amostras. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 25, p. 93-96, 1983.

HOSHINO-SHIMIZU, S. *et al.* A stable polysaccharide-hemagglutination reagent for the diagnosis of acute or recent *Trypanosoma cruzi* infections. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 20, p. 208-212, 1978.

HOSHINO-SHIMIZU, S. *et al.* A study on the reproducibility of a stable lyophilized reagent for the Chagas disease hemagglutination test: proposals for

- quality control analysis. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 24, p. 63-68, 1982.
- ISAC, E. Influência da heparina e citrato de sódio no xenodiagnóstico artificial. *Rev. Pat. Trop.*, v. 23, p. 121-143, 1994.
- KNIERIM, F., RUBINSTEIN, P. The detection of Chagas disease. *Vox. Sang.*, v. 18, p. 280-286, 1970.
- LARANJA, F. S. *et al.* Chagas disease, a clinical, epidemiological and parasitologic study. *Circulation*, v. 14, p. 1035-1060, 1956.
- LUZ, Z. M. P. *et al.* Hemocultura: técnica sensível na detecção do *Trypanosoma cruzi* em pacientes chagásicos na fase crônica da doença de Chagas. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 27, n. 3, p. 143-148, 1994.
- MARINKELLE, C. J. *et al.* Recomendaciones para el almacenamiento de sueros absorbidos em papel de filtro bajo condiciones rurales, para el diagnostico de infeccion chagastica com puerba de inmunofluorescencia. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 20, p. 112-114, 1978.
- MINEO, J. R. *et al.* Prevalência da infecção chagásica em crianças de cinco municípios da região sudoeste de Minas Gerais, Brasil. *Rev. Cent. Ci. Bioméd. Univ. Fed. Uberlândia, Uberlândia*, v. 1, n.1, p. 3-6, 1985.
- NEVES, D. P. *et al.* *Parasitologia Humana*. 8ed, Rio de Janeiro: Atheneu, p. 82-114, 1995.

- PEREIRA, J. B. Morbidade da doença de Chagas: estudo seccional e longitudinal de uma área endêmica, Virgem da Lapa, MG. Rio de Janeiro: *Instituto Oswaldo Cruz*, 1983. (Tese, Mestrado).
- PRATA, A. Classificação da infecção chagásica no homem. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 23, n. 2, p. 109-113, 1990.
- REY, L. *Bases da Parasitologia Médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 115-153, 1992.
- ROCHA, M. O. C. Aspéctos Médico-Trabalhistas da doença de Chagas. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 28, Supl. 3, p.45, 1995.
- SILVA, I. G. *et al.* Estudo epidemiológico da doença de Chagas em Pirenópolis, Goiás. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 25, Supl. 3, p. 90, 1992.
- SILVA, I. G. *et al.* Importância do método de obtenção das dejeções dos triatomíneos na avaliação da susceptibilidade triatomínica a *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 26, n. 1, p. 19-24, 1993.
- SPIEGEL, M.R. *Estatística*, São Paulo, Schawm Mcgraw Hill, 1993, 643p.
- SOUZA, S. L., CAMARGO, M. E. The use of filter paper blood smears in a practical fluorescent test for American Trypanosomiasis serodiagnosis. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 8, p. 255-258, 1966.
- VOLLER, A. *et al.* A micro-plate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for Chagas disease. *Lancet*, v. 1, p. 426-429, 1975.

WENDEL, S. *et al.* *Chagas disease (American Trypanosomiasis): Its impact on transfusion and clinical medicine.* São Paulo, 1992, 156p.

WHO - Control of Chagas disease. Report of a WHO expert committee. WHO Technical Report Series. 811, Geneva, 1991, 95p.

8 - APÊNDICE**TERMO DE CONSENTIMENTO**

Eu _____

_____ Órgão expedidor _____

Estado: _____ Documento de Identidade: _____

Consinto na colheita de uma (1) amostra de sangue necessária a realização da pesquisa de parasitas sanguíneos a ser realizada no laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de Uberlândia-MG, sob a coordenação das docentes Dra. Julia Maria Costa-Cruz e Eleuza Rodrigues Machado.

Assinatura do pai ou responsável

_____, _____ de _____ de 199____.