

# Reação cruzada nos testes sorológicos entre doença de Chagas e leishmaniose visceral em regiões endêmicas para ambas as doenças

Cross-reactivity in serological tests between Chagas disease and visceral leishmaniasis in endemic regions for both diseases

Reacción cruzada en las pruebas serológicas entre enfermedad de Chagas y leishmaniasis visceral en regiones endémicas para ambas enfermedades

Haroldo José de Matos  
Setor de Atendimento Médico Unificado, Serviço de Epidemiologia,  
Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, Ananindeua, Pará, Brasil

Fernanda Lúcia Cardoso Silva  
Setor de Atendimento Médico Unificado, Serviço de Epidemiologia,  
Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, Ananindeua, Pará, Brasil

Ana Yecê das Neves Pinto  
Setor de Atendimento Médico Unificado, Serviço de Epidemiologia,  
Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, Ananindeua, Pará, Brasil

Francisco Lúcio de Paula Ramos  
Setor de Atendimento Médico Unificado, Serviço de Epidemiologia,  
Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, Ananindeua, Pará, Brasil

Antonio Marcos Mota Miranda  
Setor de Atendimento Médico Unificado, Serviço de Epidemiologia,  
Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, Ananindeua, Pará, Brasil

## RESUMO

Na Amazônia brasileira não é incomum o achado de áreas com interseção de ocorrência de diversas doenças tropicais, entre estas são destaque a doença de Chagas aguda e a leishmaniose visceral (LV), em especial pelas mudanças na epidemiologia desses agravos nos últimos anos. Os achados clínicos são por vezes também comuns em alguns casos, e os testes sorológicos podem apresentar reações cruzadas entre essas doenças. O objetivo deste relato de caso é ressaltar a importância da avaliação clínica criteriosa para uma interpretação correta dos testes sorológicos. É apresentado um caso com síndrome febril com dois meses de evolução, associada à síndrome consumptiva e hepatoesplenomegalia, em que o primeiro teste diagnóstico para doença de Chagas aguda, utilizando o método de imunofluorescência indireta, foi positivo para IgM e IgG. Também obteve-se o mesmo resultado com o teste de hemaglutinação indireta. O teste sorológico para LV mostrou-se igualmente positivo, com elevada titulação para IgG (1:2560). Os demais achados clínicos, como hepatoesplenomegalia e pancitopenia, ajudaram na elucidação do diagnóstico de LV. A resposta terapêutica efetiva ao tratamento específico para LV com antimoniais foi uma evidência final para o diagnóstico da doença nesse caso. É enfatizada a necessidade de uma avaliação clínica bastante criteriosa para a interpretação adequada dos testes sorológicos e também o desenvolvimento de testes com maior especificidade é destacado em um contexto de ocorrência simultânea desses agravos, como o que ocorre na Região Amazônica.

**Palavras-chave:** Leishmaniose Visceral; Doença de Chagas Aguda; Testes Sorológicos; Diagnóstico Clínico.

## INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma das doenças tropicais prioritárias para a Organização Mundial da Saúde, pois é considerada endêmica em mais de 60 países<sup>1</sup>. Entretanto, a maior parte dos casos (cerca

de 90%) abrange cinco países: Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil. Um aspecto marcante é que ela se distribui preferencialmente nas populações mais pobres desses países. A epidemiologia da LV no Brasil tem sofrido mudanças significativas nos últimos 30 anos. Embora a maior parte dos casos ainda ocorra na Região Nordeste, a doença, que antes se considerava restrita às áreas rurais daquela região, apresentou uma grande expansão para outras regiões, notadamente a Região Norte, em especial os Estados do Pará e Tocantins, mas afetando também as Regiões Centro-Oeste e Sudeste, nesta última particularmente os Estados de Minas Gerais e São Paulo<sup>2,3</sup>.

### Correspondência / Correspondence / Correspondencia:

Haroldo José de Matos  
Setor de Atendimento Médico Unificado, Instituto Evandro Chagas  
Rodovia BR 316, km 7, s/n°. Bairro: Levilândia  
CEP: 67030-000 Ananindeua-Pará-Brasil  
Tel.: +55 (91) 3214-2189  
E-mail: haroldomatos@iec.pa.gov.br

O diagnóstico da LV é complexo, especialmente porque a doença tem uma distribuição geográfica comum a outras doenças tropicais que apresentam quadro clínico semelhante, como a doença de Chagas (DC), malária, esquistossomose, febre tifoide e tuberculose<sup>4</sup>.

Embora o método de maior especificidade para o diagnóstico de LV seja o exame parasitológico, nem sempre este é fácil de ser realizado, sendo sua sensibilidade relativamente baixa. Portanto, os testes mais utilizados no Brasil para o diagnóstico de LV são os testes sorológicos, em especial a reação de imunofluorescência indireta (IFI) e a técnica de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA). O problema desses testes é a presença de reações cruzadas com outras espécies de parasitas da família Trypanosomatidae, em especial com o *Trypanosoma cruzi*, o agente da DC<sup>5</sup>.

Por outro lado, a epidemiologia da DC também sofreu mudanças profundas nos últimos 30 anos. Um aspecto relevante dessas transformações inclui um olhar especial para a Região Amazônica, na qual a transmissão predominante é oral. Geograficamente, muitas áreas da Amazônia, notadamente a Amazônia Oriental, incluindo os Estados do Pará e Amapá, exibem superposição de DC e LV<sup>5</sup>.

Assim como na LV, embora o exame parasitológico seja o de maior especificidade, os métodos sorológicos são também utilizados para o diagnóstico de DC no Brasil. Vários métodos têm sido utilizados na prática, tais como fixação de complemento, hemaglutinação indireta e IFI. Entretanto, a reação cruzada é frequentemente observada com LV e leishmaniose tegumentar americana<sup>6,7,8</sup>.

Por essas razões, este estudo teve por objetivo apresentar um caso clínico sobre reações cruzadas em diagnósticos de LV e DC, realizados por métodos sorológicos utilizados na rotina clínica no Brasil, e ressaltar a importância dos dados clínicos, frente aos resultados de exames complementares em um contexto de superposição geográfica das duas doenças na Amazônia Oriental.

## DESCRIÇÃO DO CASO

Sexo masculino, 46 anos de idade, pedreiro, residente na Cidade de Barcarena, Estado do Pará, Brasil. História da doença atual: compareceu ao Instituto Evandro Chagas (IEC) em 20 de janeiro de 2012, com história de quadro febril por cerca de dois meses, acompanhado de calafrios. Referia febre intermitente, urina concentrada e de odor fétido. Apresentava ainda dores articulares com o aparecimento da febre. Relatou episódios de "falta de ar" e perda de peso significativa no período (cerca de 7 kg). História patológica pregressa: três episódios de malária; angioplastia feita dois anos antes. História epidemiológica: criança falecida na vizinhança devido à "doença do cachorro". Exame físico: dermatite seborreica em face e couro cabeludo. Ausculta cardíaca: ritmo cardíaco regular em dois tempos, sem

sopros; bulhas cardíacas hipofonéticas; taquicárdico (100 batimentos por min). Pulmões: ausculta sem alterações. Abdome: hepatomegalia indolor (4 cm do rebordo costal direito); esplenomegalia (3 cm do rebordo costal esquerdo).

## EXAMES COMPLEMENTARES PRÉVIOS

Realizado em 28 de dezembro de 2011 – Contagem de leucócitos:  $3,1 \times 10^3$  /mm<sup>3</sup>; Hemoglobina: 9,8 mg/dL; Plaquetas:  $109 \times 10^3$ ; Glicose: 82 mg/dL; Colesterol: 134 mg/dL; Triglicerídios: 186 mg/dL; Elementos anormais do sedimento urinário: aspecto ligeiramente turvo; Piócitos – 3 a 5 por campo; Hemácias: 1 a 3 por campo de grande aumento; Cilindros granulosos: raros.

Realizado em 18 de janeiro de 2012 – Contagem de leucócitos:  $1,4 \times 10^3$  /mm<sup>3</sup>; Hb: 8,2 mg/dL; Plaquetas:  $99 \times 10^3$ ; Teste rápido para DC: positivo.

Realizado em 19 de janeiro de 2012 – Negativo para malária (IEC).

## EXAMES NO IEC

Realizado em 20 de janeiro de 2012 – Hemácias:  $3,66 \times 10^6$  /mm<sup>3</sup>; Hematócrito: 26,6%; Hemoglobina: 9 mg/dL; Contagem de leucócitos:  $1,12 \times 10^3$  /mm<sup>3</sup>; Plaquetas:  $85 \times 10^3$ ; Velocidade de hemossedimentação: 90 mm; Transaminase glutâmico-oxalacética (TGO): 141 U/L; Transaminase glutâmico-pirúvica (TGP): 121 U/L; Reação do Venereal Disease Research Laboratory (VDRL): não reativo. Sorologia para DC: HI – reagente; IFI: Imunoglobulina M (IgM) – Título: 1:160; Imunoglobulina G (IgG) – Título: 1:160. Sorologia para LV: Imunoglobulina G (IgG) – Título: 1:2560.

## CONDUTA

A partir dos resultados de sorologia positivos para DC, pensou-se na doença em fase aguda. Entretanto, tendo em vista o resultado da IFI para LV com título de IgG em 1:2560, e fazendo-se a correlação clínico-epidemiológica, somada ao perfil do hemograma com pancitopenia, concluiu-se pelo diagnóstico de LV, para a qual foi iniciado o tratamento específico. A reação positiva para DC foi considerada como reação cruzada.

O paciente em questão foi tratado com N-Metil-Glucamina, sendo usadas ampolas de 5 mL, contendo 405 mg de Sb+5, na dose de 20 mg/kg/dia de Sb+5, durante 40 dias, com duas séries de 20 dias e intervalo de dez dias entre as mesmas.

As avaliações posteriores de seguimento do paciente, demonstrando excelente recuperação dos parâmetros hematimétricos e acentuada melhora clínica, corroboraram definitivamente o diagnóstico de LV e afastaram a hipótese de dupla infecção.

## DISCUSSÃO

A interpretação dos resultados dos testes diagnósticos em regiões endêmicas para DC e leishmaniose, como ocorre atualmente na Amazônia brasileira, deve ser feita com muita cautela.

Em relação aos antígenos utilizados pelos testes diagnósticos para leishmaniose, Gontijo e Melo<sup>2</sup> discutem que os antígenos utilizados na elaboração dos testes diagnósticos mais utilizados na prática são, em geral, derivados de promastigotas a partir de cultura, ou de parasitas intactos ou, ainda, de moléculas solúveis. Esses antígenos apresentariam reações cruzadas com outras espécies da família Trypanosomatidae e até mesmo com outros microrganismos, mesmo filogeneticamente distantes<sup>9</sup>.

Por outro lado, Caballero et al<sup>5</sup> fazem uma análise dos principais testes utilizados atualmente no diagnóstico da DC, utilizando como padrão-ouro o método *Western blotting* para *T. cruzi*. Os autores constataram que os ensaios de ELISA apresentaram sensibilidade de 100%. Entretanto a especificidade variou entre 82,84% e 100% quando os casos de leishmaniose foram incluídos e entre 95,57% e 100% quando foram excluídos. Outro aspecto ressaltado pelos autores é que os testes que utilizam antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos são mais específicos do que aqueles que utilizam extratos brutos das formas epimastigotas do *T. cruzi*.

Na década de 1990, Malchiodi et al<sup>4</sup>, utilizando dados de pacientes de Salta, na Argentina, já chamavam a atenção para o cuidado na interpretação desses testes sorológicos em áreas endêmicas para DC e leishmanioses. No seu estudo, utilizando *immunoblot*, os autores identificam bandas específicas para cada agente e critérios para estabelecimento de diagnóstico de coinfeccção.

A partir de um inquérito sorológico com cães, em São Paulo, Troncarelli et al<sup>7</sup>, utilizando método de IFI,

observaram que 17% dos cães apresentaram sorologia tanto para *T. cruzi* como para *Leishmania*, sendo que 1,8% com títulos idênticos, 13,7% com títulos para *Leishmania* superiores aos de *T. cruzi*, e em 0,85% os títulos foram superiores para *T. cruzi*; em 2,5% a sorologia foi positiva para *Leishmania* e negativa para *T. cruzi*, e em 1,7% positiva para *T. cruzi* e negativa para *Leishmania*. Assim, eles concluíram que, em casos de possíveis reações cruzadas, outras técnicas, como reação em cadeia de polimerase, sejam utilizadas na confirmação diagnóstica. Estudos semelhantes corroboraram esses achados<sup>8,9,10,11,12</sup>.

## CONCLUSÃO

O caso descrito é um exemplo emblemático da importância da avaliação clínica cuidadosa face às possíveis reações cruzadas de testes sorológicos especialmente no caso de leishmaniose e DC. O paciente em questão foi tratado com medicação específica, apresentando boa evolução, com recuperação clínica.

O trabalho chama atenção para o fato que em área endêmica para ambas as doenças, além da criteriosa investigação clínica já enfatizada, fazem-se necessários o desenvolvimento e disponibilização de testes adicionais com maior especificidade para a confirmação diagnóstica, sempre que possível.

## AGRADECIMENTOS

Aos setores de Leishmaniose Visceral e Doenças de Chagas da Seção de Parasitologia e à Seção de Patologia do Instituto Evandro Chagas, pela realização dos exames laboratoriais do caso clínico apresentado.



## Cross-reactivity in serological tests between Chagas disease and visceral leishmaniasis in endemic regions for both diseases

### ABSTRACT

In the Brazilian Amazon is not uncommon to find areas with intersecting occurrence of several tropical diseases, among these acute Chagas disease and visceral leishmaniasis (VL) are highlighted, particularly by changes in the epidemiology of these diseases in recent years. Clinical findings are also common in some cases and serological tests can present cross-reactivity between those diseases. The objective of this case report is to highlight the importance of careful clinical evaluation in order to obtain a correct interpretation of serological tests. A case with febrile syndrome with two months of evolution was presented, associated with wasting syndrome and hepatosplenomegaly, where the first diagnostic test for acute Chagas disease, using the indirect immunofluorescence method, was positive for IgM and IgG. It was obtained the same result with the hemagglutination test. Serological tests for VL was equally positive, with high titer IgG (1:2560). Other clinical findings such as hepatosplenomegaly and pancytopenia helped to elucidate the diagnosis of VL. The effective therapeutic response to the treatment with antimonial for VL was a final evidence for the diagnosis in this case. It is emphasized the necessity of a careful clinical evaluation for the proper interpretation of serological tests and also the development of more specific tests that is highlighted in a context of simultaneous occurrence of these health problems as occur in the Amazon region.

**Keywords:** Leishmaniasis, Visceral; Acute Chagas Disease; Serologic Tests; Clinical Diagnosis.

## Reacción cruzada en las pruebas serológicas entre enfermedad de Chagas y leishmaniasis visceral en regiones endémicas para ambas enfermedades

### RESUMEN

En la Amazonía brasileña es común el hallazgo de áreas con intersección de ocurrencia de diversas enfermedades tropicales, entre estas se destacan la enfermedad de Chagas aguda y la leishmaniasis visceral (LV), en especial por los cambios en la epidemiología de esos agravamientos de los últimos años. Los hallazgos clínicos son también comunes en algunos casos, y las pruebas serológicas pueden presentar reacciones cruzadas entre esas enfermedades. El objetivo de este relato de caso es destacar la importancia de la evaluación clínica con criterio para una interpretación correcta de las pruebas serológicas. Se presenta un caso con síndrome febril con dos meses de evolución, asociada al síndrome consumptivo y a la hepatoesplenomegalia, en el cual la primera prueba diagnóstica para la enfermedad de Chagas aguda, utilizando el método de inmunofluorescencia indirecta, fue positiva para IgM e IgG. También se obtuvo el mismo resultado con la prueba de hemoaglutinación indirecta. La prueba serológica para LV se mostró igualmente positiva, con elevada titulación para IgG (1:2560). Los demás hallazgos clínicos, como hepatoesplenomegalia y pancitopenia, ayudaron a elucidar el diagnóstico de LV. La respuesta terapéutica efectiva al tratamiento específico para LV con antimoniales fue una evidencia final para el diagnóstico de la enfermedad en ese caso. Se enfatiza la necesidad de una evaluación clínica bastante cuidadosa para interpretar adecuadamente las pruebas serológicas y también se destaca el desarrollo de pruebas con mayor especificidad en un contexto de simultaneidad de esos agravamientos, como el que sucede en la Región Amazónica.

**Palabras clave:** Leishmaniasis Visceral; Enfermedad de Chagas Aguda; Pruebas Serológicas; Diagnóstico Clínico.



### REFERÊNCIAS

- Alvar J, Velez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One*. 2012 May;7(5):e35671.
- Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Rev Bras Epidemiol*. 2004 set;7(3):338-49.
- Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Nota Técnica nº 33, 08 ago 2010: orientações sobre a Portaria nº 2742, de 31/08/2010, que define a nova relação de doenças e agravos e eventos em saúde pública de notificação compulsória. Brasília: Ministério da Saúde; 2010.
- Malchiodi EL, Chiaramante MG, Taranto NJ, Zwirner NW, Margni RA. Cross-reactivity studies and differential serodiagnosis of human infections caused by *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania* spp; use of immunoblotting and ELISA with a purified antigen (Agl63B6). *Clin Exp Immunol*. 1994 Sep;97(3):417-23.
- Caballero ZC, Sousa OE, Marques WP, Saes-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. *Clin Vaccine Immunol*. 2007 Aug;14(8):1045-9.
- Corredor Arjona A, Alvarez Moreno CA, Agudelo CA, Bueno M, López MC, Cáceres E, et al. Prevalência da infecção por *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania chagasi* e fatores de risco numa população indígena da Colômbia. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 1999 jul-ago;41(4):229-34.
- Troncarelli MZ, Machado JG, Camargo LB, Hoffmann JL, Camossi L, Greca H, et al. Associação entre resultados sorológicos no diagnóstico da leishmaniose e da tripanossomíase canina, pela técnica da imunofluorescência indireta. *Vet Zootec*. 2008 abr;15(1):39-46.
- Santos LS, Torres RM, Machado-de-Assis GF, Bahia MT, Martins HR, Teixeira-Carvalho A, et al. In-house ELISA method to analyze anti-*Trypanosoma cruzi* IgG reactivity for differential diagnosis and evaluation of Chagas disease morbidity. *Rev Soc Bras Med Tropical*. 2012 Jan-Feb;45(1):35-44.
- Sundar S, Rai M. Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2002 Sep;9(5):951-8.
- Hernández P, Heimann M, Riera C, Solano M, Santalla J, Luquetti AO, et al. Highly effective serodiagnosis for Chagas disease. *Clin Vac Immunol*. 2010 Oct;17(10):1598-604.
- Morgado MG, Santos JI, Pinho RT, Argüelles E, Rezende JM, Galvão-Castro B. *Trypanosoma cruzi*: identification of specific epimastigote antigen by human immune sera. *Mem Inst Oswaldo Cuz*. 1989 Jul-Sep;84(3):309-14.
- Maywald PG, Machado MI, Costa-Cruz JM, Gonçalves-Pires MRF. Leishmaniose tegumentar, visceral e doença de Chagas caninas em municípios do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais, Brasil. *Cad Saude Publica*. 1996 jul-set;12(3):231-328.

Recebido em / Received / Recibido en: 21/7/2014  
 Aceito em / Accepted / Aceito en: 5/3/2015