

Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

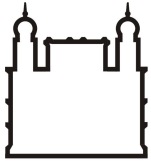
## **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

Doutorado em Programa de Pós-Graduação Medicina Tropical

### **ESTUDO SOBRE A DOENÇA DE CHAGAS AGUDA NO ESTADO PARÁ, AMAZÔNIA.**

**VALÉRIA REGINA CAVALCANTE DOS SANTOS**

Rio de Janeiro  
Setembro de 2017



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical**

VALÉRIA REGINA CAVALCANTE DOS SANTOS

ESTUDO SOBRE A DOENÇA DE CHAGAS AGUDA NO ESTADO PARÁ, AMAZÔNIA.

Tese apresentada no Instituto Oswaldo Cruz  
como parte dos requisitos para obtenção do  
título Doutor em Medicina Tropical (área de  
concentração doenças infecciosas e parasitárias)

**Orientador (es):** Dr. JOSÉ RODRIGUES COURA  
Dr. WILSON SAVINO

Rio de Janeiro  
Setembro de 2017

SANTOS, VALERIA REGINA CAVALCANTE DOS .

ESTUDO SOBRE A DOENÇA DE CHAGAS AGUDA NO ESTADO PARÁ,  
AMAZÔNIA. / VALERIA REGINA CAVALCANTE DOS SANTOS. - Rio de  
janeiro, 2017.  
159 f.; il.

Tese (Doutorado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina  
Tropical, 2017.

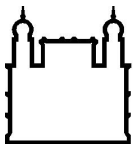
Orientador: Dr. JOSE RODRIGUES COURA.

Co-orientador: Dr. WILSON SAVINO.

Bibliografia: f. 94-117

1. Doença de Chagas Aguda. 2. Transmissão oral. 3. SINAN. 4.  
Acometimento hepatico. 5. Distúrbios da coagulação. I. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da Biblioteca de Manguinhos/ICICT com os dados  
fornecidos pelo(a) autor(a).



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical**

**VALÉRIA REGINA CAVALCANTE DOS SANTOS**

**ESTUDO SOBRE A DOENÇA DE CHAGAS AGUDA NO  
ESTADO PARÁ, AMAZÔNIA.**

**ORIENTADOR (ES): Prof. Dr. Jose Rodrigues Coura**  
**Prof. Dr. Wilson Savino**

**Aprovada em:** 12 de setembro de 2017

**EXAMINADORES:**

**Prof. Dr. Hugo Caire (Fiocruz)**

**Prof. Dr. Guilherme Werneck (UFRJ)**

**Prof. Dr. Robson Monteiro (UFRJ)**

**Prof. Dra. Andrea Silvetre (Fiocruz)**

**Prof. Dr. Helcio Gil Santana (Fiocruz)**

**SUPLENTE:**

**Prof. Dra. Catarina Macedo (Fiocruz)**

**Prof. Dr. Luiz Ricardo Berbert (Fiocruz)**

Rio de Janeiro, 12 de setembro de 2017

## **AGRADECIMENTOS**

A realização deste trabalho foi possível graças ao empenho de muitas pessoas, mas, antes de agradecê-las, agradeço a Deus por me permitir chegar até aqui.

À minha família pelo apoio, força e encorajamento. Aos meus pais dedico esta conquista que foi possível graças ao amor, dedicação e oração de vocês! A minha avó e ao meu avô (in memoriam) pelo amor incondicional. Aos meus irmãos por terem sempre uma palavra de incentivo e carinho e aos meus amados sobrinhos lindos: Amanda e Gabriel, pelo carinho e por tornarem minha vida mais alegre, com as maravilhosas horas de conversas, vídeos e fotos.

Ao meu amor, Fabio Bernardo, agradeço pelo apoio constante e por todos os momentos compartilhados, das felizes vitórias às horas de maior ansiedade e estresse. Pelas horas dedicadas em me ajudar nas planilhas do Excel (só você para descobrir o Mojui dos Campos). Foi fundamental o seu carinho, sua cumplicidade e compreensão... Te amo!

Aos meus orientadores pela visita ao Pará, por todo direcionamento e orientação, ensinamentos e valiosas críticas no desenvolvimento do trabalho e apoio na minha formação.

As minhas colaboradoras Dr<sup>a</sup> Juliana de Meis e Dr<sup>a</sup> Angela Junqueira, agradeço pelo acompanhamento da tese, convivência, parceria, amizade construída ao longo do meu doutorado e visitas ao Pará. A Dr<sup>a</sup> Ângela pela paciência em ouvir todos os meus desabafos. Você é um grande exemplo de amor e dedicação a Amazônia.

Ao HUIBB, em especial a equipe do laboratório agradeço pela colaboração de todos vocês e a Dra. Dilma Souza, agradeço pelo que pude desfrutar do seu conhecimento sobre a doença de Chagas.

A equipe de parasitologia do LACEN/PA em nome do Diretor do LACEN/PA Sebastião Licínio pela cooperação técnica nos anos de realização da tese.

Ao grupo do setor de endemias de Abaetetuba (Dona Rosi, Haroldo, Wendel) sempre tão disponíveis a contribuir para realização deste estudo.

A Coordenação do Programa de Controle da Doença de Chagas e seus integrantes e ao Coordenador do SINAN Estadual pelo apoio fundamental disponibilizado para realização das etapas deste doutorado e concretização do trabalho.

Ao querido amigo da UFPA José Ricardo Vieira por ser um farol incandescente nos momentos de escuridão, agradeço pela disponibilidade em ajudar e pelas ideias que contribuíram para este trabalho.

A Lila de Araújo por toda amizade, pelos encontros felizes e de desabafos, pela parceria e incentivo para fazer o doutorado na Fiocruz.

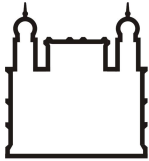
A minha amiga Verena Feijó por me dar abrigo e apoio quando vim morar no Rio. Você foi muito importante nesse processo. Obrigada pela amizade e carinho.

A minha amiga Cristhianne Bezerra com quem compartilhei tantos e bons momentos na ciência e no samba, nas trilhas e nos bares, as saudades e os sofrimentos, as tensões, o frio na barriga, os perrengues, os desabafos, as desventuras... E as boas amizades que você me trouxe Letícia, Moyra, Geane, Carol, Thiago..... Foi bom demais sua companhia nessa cidade maravilhosa!!!!

A todos do grupo de Chagas pelas experiências e experimentos compartilhados, discussões científicas, parcerias, sugestões e momentos de descontração. Agradeço de coração a todos!!! A Mari, Barbara e Alessandro por todo apoio e carinho. A Dina por ser um anjinho que nos momentos mais difíceis, foi tão incentivadora, por ser aquela luz no final do túnel a me dizer: “tudo vai dar certo” e a Rejane, agradeço muito a acolhida. A todos vocês agradeço pelas conversas, risadas e desabafos nesse período aqui no Rio.

A todos do LPT que de alguma forma me ajudaram ao longo do desenvolvimento desse trabalho.

Aos queridos pacientes que cederam de tão boa vontade suas amostras, muito obrigado, minha gratidão e que eu possa retribuí-los.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

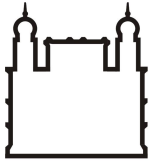
**Fundação Oswaldo Cruz**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**ESTUDO SOBRE A DOENÇA DE CHAGAS AGUDA NO ESTADO PARÁ, AMAZÔNIA.**  
**RESUMO**

**TESE DE DOUTORADO EM MEDICINA TROPICAL**

**VALÉRIA REGINA CAVALCANTE DOS SANTOS**

Nas últimas duas décadas o Estado do Pará tem apresentado casos agudos de doença de Chagas por surtos ou casos isolados associados ao risco de transmissão por via oral. Com o objetivo de avaliar a doença de Chagas aguda (DCA) ao longo dos anos no Estado do Pará foi realizado um levantamento epidemiológico de 2000 a 2016, a partir dos registros sistematizados no Sistema Nacional de Notificação de Agravos (SINAN /Estadual); No período entre o segundo semestre de 2013 até o primeiro semestre de 2016 realizamos estudo prospectivo, de caso-controle, com análise das aminotransferases e fatores da coagulação de pacientes referenciados com DCA e com exame parasitológico positivo, sob atendimento ambulatorial do Hospital Universitário João de Barros Barreto. Os resultados mostram que a DCA vem ocorrendo ao longo dos anos com um aumento do número de casos notificados e confirmados. O ano com menos casos confirmados foi 2005, com cinco casos e o ano com maior número de casos confirmados foi 2016 com 327 casos. No período de 2000 a 2016, foram notificados 16.807 (casos suspeitos) em 130 dos 144 municípios paraenses e confirmados (por diagnóstico laboratorial) 2030 casos de doença de Chagas aguda em 81 destes municípios no estado do Pará. As análises laboratoriais dos pacientes demonstram danos hepáticos, com níveis plasmáticos das aminotransferases elevados, especialmente nos pacientes do sexo feminino, quando comparados aos valores controles. Com relação aos fatores de coagulação, distúrbios da hemostasia, compreendendo aumento nos níveis dos fatores de coagulação, foram registrados. Em conclusão, constatou-se um aumento progressivo nos casos de DCA no Estado do Pará, principalmente pela via de transmissão oral, segundo SINAN no período estudado. Além disso, nos pacientes com DCA, observamos níveis elevados de aminotransferases, o que demonstra a presença de comprometimento hepático. Nestes pacientes também detectamos distúrbios nos níveis séricos de fatores de coagulação. No seu conjunto, o presente trabalho aponta para a necessidade de maior vigilância no que diz respeito à DCA por via oral, e para um aprofundamento sobre a fisiopatologia desta doença no que diz respeito a distúrbios de coagulação sanguínea, incluindo hemorragias.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

## **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

### STUDY ON ACUTE CHAGAS DISEASE IN THE STATE OF PARÁ, AMAZÔNIA.

#### **ABSTRACT**

#### PHD THESIS IN MEDICINA TROPICAL

**VALÉRIA REGINA CAVALCANTE DOS SANTOS**

The State of Pará has presented acute cases of Chagas disease due to outbreaks or isolated cases in the last decades associated with the risk of oral transmission. With the aim to evaluate the acute Chagas disease (ACD) over the years in the State of Pará, a study of the historical data series was carried out, based on the systematized records in the National System of Notification of Injuries (SINAN / State) in the period of 2000 to 2016 (Sinan-Windows for the years 2000 to 2006, and Sinan-Net from 2007). In this historical data series, in the period from the second semestre of 2013 to the first semestre of 2016, we performed an epidemiological study and laboratory analysis (aminotransferases and coagulation factors) in the outpatient clinic of João de Barros Barreto University Hospital. The results show that ACD has been occurring over the years with an increase in the number of reported and confirmed cases. 2005 was the year with the fewest confirmed cases (five), and in 2016 the highest number of confirmed cases (327) occurred. In the period from 2000 to 2016, 16,807 (suspected cases) were reported in 130 of the 144 municipalities in Pará and confirmed 2,030 cases of ACD in 81 of these municipalities in the state of Pará. Laboratory analyses of patients demonstrated liver damage, with high plasma levels of aminotransferases, especially in women, compared to controls. Regarding the coagulation factors, we observed hemostatic disorders, which included increased levels of coagulation factors. In conclusion, we found a progressive increase in ACD cases in the State of Pará, mainly by the oral route. In addition, in the most recently evaluated cases, we observed high levels of aminotransferases, which demonstrate the presence of hepatic impairment. In these patients we also detected disturbances in serum levels of coagulation factors. Taken together, our work points to the need for enhancing surveillance with regard to oral ACD, and to a deeper understanding of the pathophysiology of this disease with regard to blood clotting disturbances, including bleeding.



## Sumário

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Aspectos gerais da doença de Chagas.....	1
1.1.1 Distribuição Espacial e Epidemiologia.....	3
1.1.2 Triatomíneos e ecótopos no Estado do Pará.....	5
1.1.3 A Doença de Chagas Aguda no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN).....	8
1.1.4 Formas de transmissão da doença de Chagas.....	14
1.1.5 Manifestações clínicas da doença de Chagas.....	18
1.1.6 Tratamento da doença de Chagas.....	21
1.2 Contexto da resposta imune na infecção por via oral.....	22
1.3 Distúrbios da coagulação na doença de Chagas.....	25
1.3.1 Estágios fisiológicos da hemostasia.....	25
1.3.2 Cascata de coagulação e seus componentes.....	26
1.3.3 Coagulação e o processo inflamatório nas doenças infecciosas.....	30
1.4 Função hepática na doença de Chagas.....	34
1.5 Racional e Justificativa.....	36
2. Objetivos.....	37
2.1 Geral.....	37
2.2 Objetivos Específicos.....	37
3. METODOLOGIA.....	38
3.1 Delineamento do Estudo.....	38
3.2 Protocolo de estudo.....	39
3.3 Recrutamento do grupo dos pacientes e controles.....	40
3.3.1 Critérios de inclusão dos pacientes.....	40
3.4 Critérios de exclusão dos pacientes.....	41
3.5 Processo de coleta e armazenamento de amostras biológicas.....	41
3.6 Quantificação dos fatores de coagulação por ELISA.....	42
3.7 Análises de marcadores da função hepática: aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) por REFLOTRON.....	42
3.8 Análise Estatística.....	43
4. RESULTADOS.....	44
4.1 Caracterização da análise histórica do SINAN.....	44
4.1.1 Distribuição dos casos por mês de adoecimento nos registros do SINAN.....	46
4.1.2 Distribuição por gênero e idade dos casos do SINAN.....	47
4.1.3 Procedência dos casos do SINAN.....	48
4.1.4 Presença do vetor intradomiciliar nos registros do SINAN.....	49
4.1.5 Forma de transmissão e evolução dos casos do SINAN.....	49
4.1.6 Sinais e sintomas nos registro do SINAN.....	50
4.2 Caracterização demográfica dos pacientes referenciados, atendidos no Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB), no período de 2013 (outubro/2013) a 2016 (fevereiro/2016) na análise histórica.....	51
4.2.1 Hábito alimentar de pacientes referenciados, atendidos no HUIBB, no período de 2013 (outubro/2013) a 2016 (fevereiro/2016).....	53

4.2.2	Distribuição mensal da doença em pacientes atendidos no HUIBB, no período de 2014 a 2015.....	54
4.2.3	Distribuição dos casos de doença de Chagas aguda de acordo com o tempo de infecção e tempo de tratamento dos pacientes atendidos no HUIBB, no período de 2013 (outubro/13) a 2016 (fevereiro/2016).....	54
4.2.4	Distribuição dos casos de doença de Chagas aguda de acordo com sinais e sintomas dos pacientes atendidos no HUIBB, no período de 2013 (outubro/13) a 2016 (fevereiro/2016).....	55
4.3	Dosagem de Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST)...	57
4.3.1	Dosagem de Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST) por sexo	58
4.3.2	Dosagem de Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST) por ADRV e sintomas.....	58
4.3.3	Dosagem de Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST) por ADRV e sintomas por sexo.....	59
4.3.4	Dosagem de Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST) por tratamento.....	60
4.4	Dosagem dos fatores de coagulação.....	62
4.4.1	Dosagem de Fator V.....	63
4.4.2	Dosagem de Fator VIII.....	69
4.4.3	Dosagem de Proteína C Ativada.....	72
3.1.1	Dosagem de Proteína C Ativada por sexo.....	73
4.4.4	Dosagem de Proteína C Ativada por ADRV e sintomas.....	73
5.	DISCUSSÃO.....	76
6.	CONCLUSÕES.....	92
7.	PERSPECTIVAS.....	93
8.	Referências Bibliográficas.....	94
9.	Anexos.....	118

## Índice de Figuras

Figura 1. Ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	2
Figura 2. Distribuição geográfica da doença de Chagas no mundo com base em estimativas oficiais (2006-2010).....	4
Figura 3. Fluxograma investigação da doença de Chagas aguda (DCA) pelo SINAN.....	12
Figura 4. Fluxograma de investigação da doença de Chagas aguda (DCA) no Estado do Pará.....	13
Figura 5. Modelo clássico da cascata de coagulação: reações das vias intrínseca, extrínseca e via comum.....	28
Figura 6 - Distribuição de casos agudos de doença de Chagas Aguda no estado do Pará. SINAN Estadual 2000- 2016.....	46
Figura 7- Distribuição mensal dos casos confirmados de doença de Chagas Aguda, no estado Pará, 2000 – 2016. DP: desvio padrão.....	47
Figura 8 - Distribuição por gênero e faixa etária de indivíduos com doença de Chagas aguda. Pará, 2000-2016.....	47
Figura 9- Distribuição dos casos confirmados de doença de Chagas aguda na área urbana e rural. Pará, 2000-2016.....	48
Figura 10- Análise de correlação linear de Pearson da evolução dos casos de doença de doença de Chagas aguda confirmados nas áreas urbana e rural no período de 2000 a 2016. Fonte: SINAN Estadual.....	48
Figura 11- Distribuição dos casos confirmados de doença de Chagas aguda na área periurbana e ign/branco. Pará, 2000-2016. ....	Error! Indicador Não Definido .
Figura 12- Frequencia de vestígios de triatomídeos intradomicílio nos casos confirmados com Doença de Chagas aguda no Estado do Pará de 2000 a 2016.....	49
Figura 13-Distribuição óbitos em geral e óbitos por transmissão oral, da doença de Chagas aguda no Estado do Pará de 2000 a 2016.....	50
Figura 14-Distribuição dos casos de doença de Chagas aguda segundo o modo provável de fonte de infecção e número de óbitos no Estado do Pará de 2000 a 2016.....	50
Figura 15- Distribuição de frequência de sinais e sintomas apresentados por indivíduos confirmados com DCA no Estado do Pará de 2000 a 2016.....	51
Figura 16- Distribuição mensal dos casos de doença de Chagas aguda de pacientes atendidos no HUIBB, no período de 2014 a 2015.....	54
Figura 17- Quantificação de ALT/AST séricos em pacientes e controles.....	58
Figura 18- Quantificação de ALT/AST por sexo em pacientes e controles.....	58
Figura 19- Quantificação de ALT/AST por ADRV e sintomas em pacientes e controles.....	59
Figura 20 - Quantificação de ALT/AST por ADRV e sintomas em pacientes com DCA e controles por sexo.....	59
Figura 21- Quantificação de ALT/AST e o tratamento (Bz) em pacientes com DCA e controles.....	61
Figura 22- Quantificação de ALT/AST e o tratamento (Bz) em pacientes por sexo com dca e controles.....	62
Figura 23- Expressão de Fator V em amostras de pacientes e controles.....	63
Figura 24 (A e B) - Expressão de Fator V em amostras de pacientes e controles.....	64
Figura 25- Expressão de Fator V por sintomas em amostras de pacientes e controles.....	64
Figura 26 (A E B) - Expressão de Fator V de acordo com os sintomas em amostras de pacientes por sexo e controles. ....	65

<b>Figura 27- Expressão de Fator V nas amostras de pacientes em tratamento e sem tratamento e controles.....</b>	<b>65</b>
<b>Figura 28 (A E B) - Expressão de Fator V de acordo com o tratamento em amostras de pacientes por sexo e controles.....</b>	<b>66</b>
<b>Figura 29- Expressão de Fator VII em amostras de pacientes e controles.....</b>	<b>66</b>
<b>Figura 30 (A e B) - Expressão de Fator VII em amostras de pacientes por sexo e controles. ....</b>	<b>67</b>
<b>Figura 31- Expressão de Fator VII de acordo com os sintomas em amostras de pacientes e controles.....</b>	<b>67</b>
<b>Figura 32 (A E B) - Expressão de Fator VII de acordo com os sintomas em amostras de pacientes por sexo e controles. ....</b>	<b>68</b>
<b>Figura 33- Expressão de Fator VII nas amostras de pacientes em tratamento e sem tratamento e controles.....</b>	<b>68</b>
<b>Figura 34 (A E B) - Expressão de Fator VII de acordo com o tratamento em amostras de pacientes por sexo e controles.....</b>	<b>69</b>
<b>Figura 35- Expressão de Fator VIII em amostras de pacientes e controles.....</b>	<b>70</b>
<b>Figura 36 (A e B) - Expressão de Fator VIII em amostras de pacientes por sexo e controles. ....</b>	<b>70</b>
<b>Figura 37- Expressão de Fator VIII de acordo com o ADRV e sintomas em amostras de pacientes e controles.....</b>	<b>71</b>
<b>Figura 38 (A E B) - Expressão de Fator VIII de acordo com ADRV e sintomas em amostras de pacientes por sexo e controles.....</b>	<b>71</b>
<b>Figura 39- Expressão de Fator VIII nas amostras de pacientes em tratamento e sem tratamento e controles. ....</b>	<b>72</b>
<b>Figura 40 (A E B) - Expressão de Fator VIII de acordo com o tratamento em amostras de pacientes por sexo e controles.....</b>	<b>72</b>
<b>Figura 41- Expressão de APC em amostras de pacientes e controles.....</b>	<b>73</b>
<b>Figura 42 (A e B) - Expressão de APC em amostras de pacientes por sexo e controles.....</b>	<b>73</b>
<b>Figura 43- Expressão de APC de acordo com os sintomas em amostras de pacientes e controles.....</b>	<b>74</b>
<b>Figura 44 (A e B) - Expressão de APC de acordo com os sintomas em amostras de pacientes por sexo e controles.....</b>	<b>74</b>
<b>Figura 45- Expressão de APC nas amostras de pacientes em tratamento, sem tratamento e controles.....</b>	<b>75</b>
<b>Figura 46 (A e B) - Expressão de APC de acordo com o tratamento em amostras de pacientes por sexo e controles. ....</b>	<b>76</b>

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1</b> Lista de variáveis obrigatórias e essenciais presentes nas fichas de notificação e investigação da versão Sinan-NET do sistema de informação de agravos de notificação (Sinan).....	11
<b>Tabela 2</b> – Casos autóctones notificados e confirmados de Doença de Chagas Aguda do Estado do Pará (2000 – 2016).....	45
<b>Tabela 3</b> – Distribuição dos casos de doenças de Chagas aguda por município no Estado do Pará dos pacientes referenciados, atendidos no HUIBB, no período de 2013 (outubro/2013) a 2016 (fevereiro/2016).....	52
<b>Tabela 4</b> – Características epidemiológicas dos pacientes referenciados, atendidos no HUIBB, no período de 2013 (outubro/2013) a 2016 (fevereiro/2016) do Estado do Pará. ....	53
<b>Tabela 5</b> - Distribuição dos casos estudados de doença de Chagas aguda, segundo hábito alimentar de pacientes atendidos no HUIBB, no período de 2013 a 2016 (outubro/13 a fevereiro/2016).....	54
<b>Tabela 6</b> – Distribuição dos casos de Doença de Chagas aguda de acordo com o tempo de infecção dos pacientes referenciados, atendidos no HUIBB, no período de 2013 (outubro/13) a 2016 (fevereiro/2016) do Estado do Pará.....	55
<b>Tabela 7</b> – Distribuição dos casos de doença de Chagas de pacientes atendidos no HUIBB por via oral de acordo com o tempo de tratamento, no período de 2013 (outubro/2013) a 2016 (fevereiro/2016).....	55
<b>Tabela 8</b> - Principais sinais e sintomas apresentados pelos pacientes com doença de Chagas Aguda, atendidos no HUIBB, no período de 2013 (outubro/2013) a 2016 (fevereiro/2016) do Estado do Pará.....	56
<b>Tabela 9</b> - Comparação dos sintomas clínicos de estudos na fase aguda da doença de Chagas: presente estudo (pacientes atendidos no HUIBB, no período de outubro/2013 a fevereiro/2016); 02 estudos na Amazônia por via oral e 01 em Bamuí por via vetorial. ....	57

## Lista de Siglas e Abreviaturas

- ADP: adenosina di-fosfato
- ADRV: alteração difusa na repolarização ventricular
- ALT: alanina aminotransferase
- ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- APC: Proteína C Ativada
- AST: aspartato aminotransferase
- AT: antitrombina
- ATP: adenosina tri-fosfato
- BENEFIT: *Benzonidazol Evaluation for Interrupting Trypanosomiasis*
- Bz: Benzonidazol
- Ca<sup>+</sup>: Cálcio
- CAMP: cininogenio de alto peso molecular
- CAT: comunicação de acidente de trabalho
- Cenepi: Centro Nacional de Epidemiologia
- CID: coagulação intravascular disseminada
- DCA: Doença de Chagas Aguda
- DOS: *Disk operating system*
- E: Edema face/membros
- ECG: eletrocardiograma
- EDTA: ácido etilenodiaminotetracético
- ELISA: Ensaio Imunoenzimático
- EPI: equipamento de proteção individual
- FII: Ficha individual de investigação
- FIN: Ficha individual de notificação
- FIOCRUZ: Fundação Oswaldo Cruz
- FT: fator tecidual
- FVa: fator V ativado
- FVIIa: fator VII ativado
- FVIIIa: fator VIII ativado
- FvW: fator de von Willenbrand

- gp: Glicoproteína
- GI: gastrointestinal
- HAI: Hemaglutinação Indireta
- IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- IL: Interleucinas
- INF- $\gamma$ : Interferon - gama
- M S: Ministério da Saúde
- OMS: Organização Mundial de Saúde
- PAB: piso de atenção básica
- PAI-1: plasminogenio 1
- PC: pré-caliceína
- PCR: reação em cadeia pela polimerase
- PDF: produto de degradação de fibrina
- PDGF: fator de crescimento derivado de plaquetas
- PF3: fator plaquetário 3
- PS: Proteína S
- RIFI: Reação de imunofluorescência indireta
- S.I: Sintomas inespecíficos
- SES: Secretaria de Estado de Saúde
- SESPA: Secretaria de Estado de Saúde do Pará
- SINAN: Sistema de Informação de Agravos de Notificação
- SIRS: Síndrome da resposta infamatória sistêmica
- SVS: Secretaria de Vigilância em Saúde
- *T. cruzi: Trypanosoma cruzi*
- TFPI: Inibidor fisiológico do fator tecidual (do inglês “tissue factor pathway inhibitor”)
- TGF- $\beta$ : Fator de transformação do crescimento (*Transforming growth factor*) - beta
- TM: trombomodulina
- TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral (*tumor necrosis factor*) – alfa
- tPA: plasminogênio tecidual ativado
- TXA2: tromboxane A2
- U V: Ultra violeta

- $\alpha$ AP: antiplasmina alfa

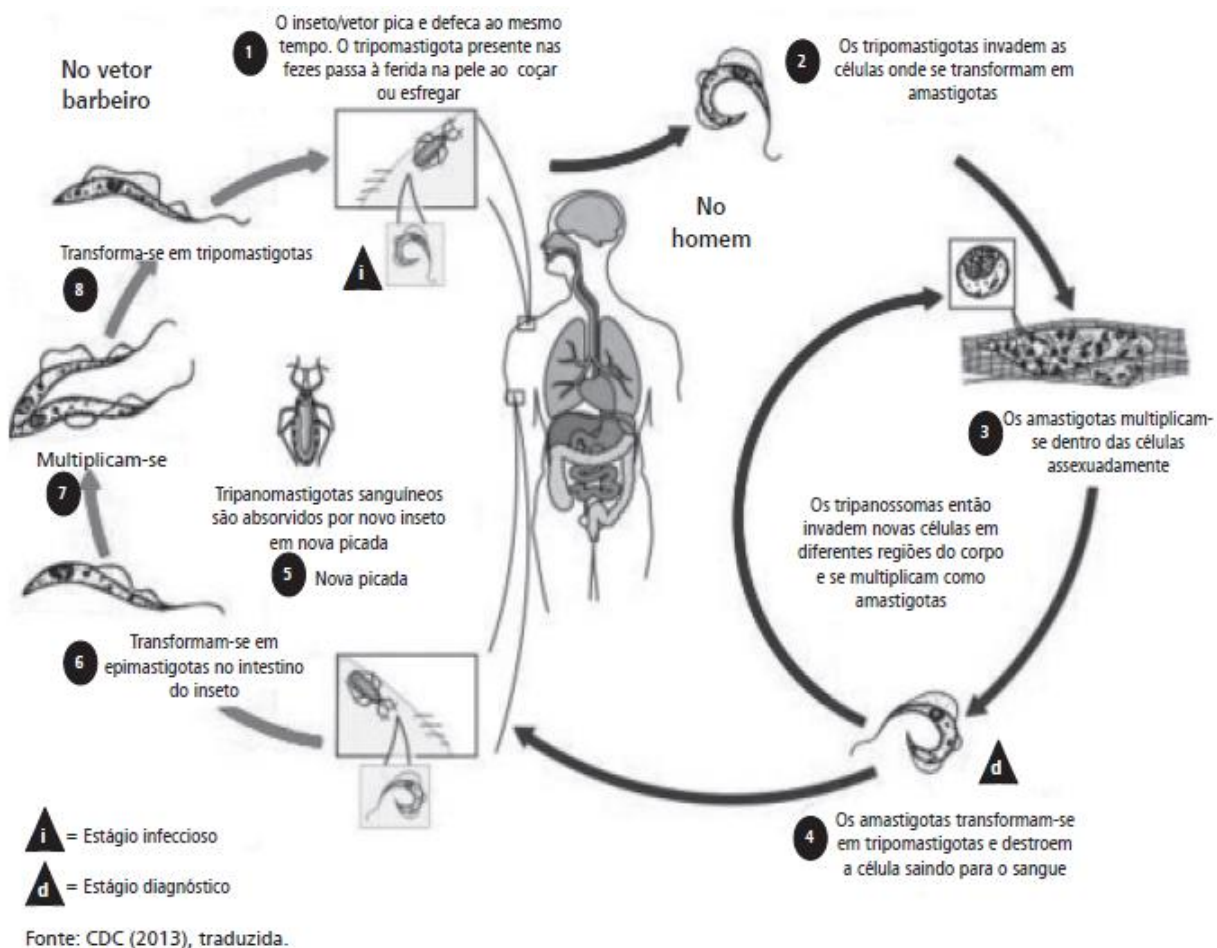


# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Aspectos gerais da doença de Chagas

A doença de Chagas ou Tripanossomíase Americana é uma parasitose causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* (Ordem Kinetoplastida; Família Trypanosomatidae) e transmitida pelo vetor hematófago triatomíneo (Hemiptera; Reduviidae) (Dias *et al.*, 2000; Coura, 2003). Essa doença foi descoberta pelo médico e pesquisador brasileiro Carlos Chagas em 1909, com descobrimento simultâneo do vetor, agente etiológico, patogenia, sintomatologia e ciclo evolutivo (Chagas, 1909). Inicialmente foi caracterizada como uma enzootia de animais silvestres. Passou a ser considerada uma antropozoonose pela alteração na relação vetor-hospedeiro-parasita, com a ocupação dos ecótopos naturais (palmeiras) pelo homem, desmatamento, ocasionando a possível adaptação dos triatomíneos silvestres ao peridomicílio e ao ambiente domiciliar, com subsequente transmissão do parasita aos seres humanos (Rey, 2002; Coura, 2003; Wolfe *et al.*, 2007; Steverding, 2014). A doença de Chagas pode ser transmitida, além dos seres humanos, para mamíferos domésticos (como cães, gatos e porquinho da índia) e selvagens (como roedores, marsupiais e tatus) (Póvoa *et al.*, 1984; Valente *et al.*, 1999; Rassi *et al.*, 2010; Coura, 2015; Coura e Junqueira, 2015).

O ciclo evolutivo do *T. cruzi* envolve diferentes estágios de desenvolvimento, encontrados nos hospedeiros invertebrados e vertebrados (Figura 1). Nos hospedeiros invertebrados (triatomíneos) o parasito replica-se sob a forma epimastigota, que se multiplica sucessivamente por divisão binária no intestino médio. Em seguida, as formas epimastigotas migram para a porção final do trato digestivo e se diferenciam em tripomastigotas metacíclicas, a forma infectante para o hospedeiro vertebrado, que são eliminadas nas fezes e urina de triatomíneos (barbeiros) infectados durante ou logo após a hematofagia (Brenner, 1971; Rey, 2002; Bern, 2015).



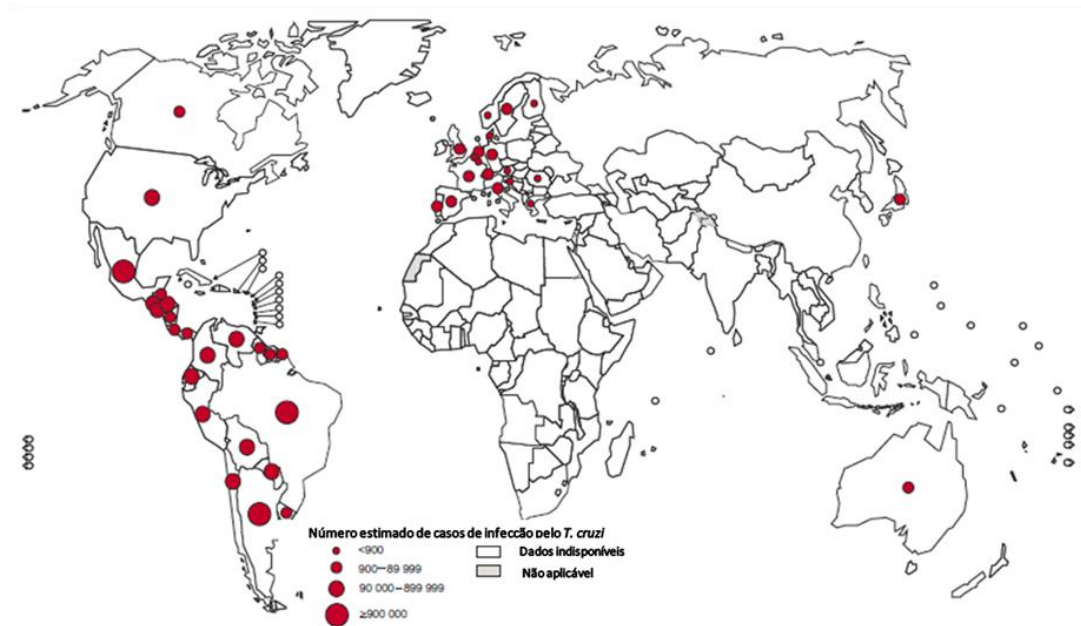
**Figura 1. Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*.** Na transmissão pela via vetorial clássica, a penetração pela pele (chagoma de inoculação) ou mucosa da conjuntiva (sinal de Romaña) promove inchaço, congestão vascular e infiltrado inflamatório local. As formas tripomastigotas nas células do hospedeiro se diferenciam em amastigotas e se multiplicam. Posteriormente, transformam-se em tripomastigotas novamente e promovem a lise das células infectadas, e se disseminam via vasos linfáticos ou sanguíneos para outros tecidos, principalmente células musculares (cardíaca, lisa e esquelética). Fonte: Adaptado do CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*).

A forma clássica de transmissão vetorial ocorre durante o repasto sanguíneo dos triatomíneos. As formas tripomastigotas metacíclicas infectivas presentes nas fezes desses vetores podem infectar diretamente o hospedeiro vertebrado por meio do contato com a lesão na pele proveniente da picada ou com outras superfícies vulneráveis (Brener, 1971; Rey, 2002; Bern, 2015). A picada provoca coceira, facilitando a entrada da forma infectante (tripomastigotas metacíclicos), de forma que no local de inoculação cutânea do parasito pode ocorrer uma reação inflamatória local, com uma formação cutânea, ligeiramente saliente, arredondada, eritematosa, dura, incolor, quente e circundada por edema elástico, assemelhando-se a um furúnculo, conhecida como chagoma de inoculação. Se a inoculação ocorrer através da mucosa conjuntival, o paciente desenvolve rapidamente um edema bupalpebral unilateral, acompanhada por

linfadenopatia regional, conhecido como sinal de Romaña (Coura, 2007, Rassi *et al.*, 2010). Uma vez no hospedeiro vertebrado, essas formas infectantes tripomastigotas metacíclicas têm a capacidade de infectar uma grande variedade de células nucleadas, no interior das quais se diferenciam em amastigotas. As formas amastigotas se diferenciam em tripomastigotas sanguíneos, as quais rompem as células hospedeiras levando a liberação e infecção de novas células, caracterizando picos parasitêmicos, permitindo evidenciar o parasita no sangue periférico na fase aguda da doença. Assim, o tripomastigota sanguíneo representa a forma infectante para o inseto vetor (Brener, 1971; Rey, 2002; Bern, 2015). A habilidade de infectar e replicar em vários tipos celulares é uma característica essencial do ciclo de vida do *T. cruzi*. Independente da via de transmissão, o parasito alcança a corrente sanguínea e o sistema linfático, estabelecendo-se em músculos, tecido cardíaco, sistema digestivo e células fagocíticas (Coura, 2007; Bern, 2015). O tempo de multiplicação, diferenciação e saída do parasito da célula pode variar de acordo com a capacidade infectiva da cepa e as células infectadas (de Souza *et al.*, 2010; Bern, 2015). Na transmissão vetorial clássica o período de incubação é de 4-15 dias, sendo assintomática na maioria dos indivíduos infectados, apenas 1 em cada 30 indivíduos infectados apresenta sintomas (Brasil 2017, Rey, 2002; Rassi *et al.*, 2010).

### **1.1.1 Distribuição Espacial e Epidemiologia**

A doença de Chagas inicialmente teve sua distribuição especialmente em áreas rurais empobrecidas do continente americano, desde o sul dos Estados Unidos à Argentina. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima-se cerca de 6 a 7 milhões de pessoas infectadas em todo o mundo, principalmente nas áreas endêmicas dos países latino-americanos e ameaça a saúde de aproximadamente 70 milhões de pessoas em risco de contrair a doença (OMS, 2016) (Figura 2). Em 2010, foi estimado cerca de 5,7 milhões de pessoas infectadas em 21 países latino-americanos, sendo a Argentina, o Brasil e o México os países com o maior número de pessoas infectadas (aproximadamente 1,5 milhões, 1.2 milhões e 876 mil, respectivamente), seguido pela Bolívia (aproximadamente 607 mil) (OMS, 2015). Nas últimas décadas, devido à mobilidade populacional latino-americana, a doença atravessou fronteiras, sendo relatada em países não endêmicos, sem a presença do vetor, como Canadá, Austrália, Japão e países da Europa (Schmunis e Yadon, 2010) (Figura 2).



**Figura 2. Distribuição geográfica da doença de Chagas no mundo com base em estimativas oficiais (2006-2010). OMS, 2013.** A endemicidade é evidenciada principalmente na América Latina, estimando-se cerca de 6 a 7 milhões de pessoas infectadas pelo *T. cruzi* no mundo. O tamanho do círculo na cor vermelha indica o número de casos estimados. Nos países não endêmicos, devido aos fluxos migratórios oriundos de regiões endêmicas há casos da doença, por transmissão congênita, transplante ou transfusão sanguínea. Em branco e a cor cinza representam que são países sem casos estimados oficialmente. Adaptado de OMS, 2013.

Estima-se que 300 mil pessoas estejam infectadas pelo *T. cruzi* vivendo nos Estados Unidos, sendo a maioria imigrantes latino-americanos que foram infectados em seus países de origem (Edwards *et al.*, 2017; Sheba *et al.*, 2017). Nos estados do sul dos Estados Unidos, ocorre transmissão enzoótica envolvendo vetores infectados e hospedeiros mamíferos, como guaxinins, gambás e cães domésticos (Bern, 2015; Bern e Montgomery, 2009; Coura e Viñas, 2010). A prevalência da doença de Chagas em pessoas latino-americanas vivendo na Europa é maior nos imigrantes oriundos da Bolívia (18,1%), seguidos pelos imigrantes do Paraguai (5,5%), Argentina 2,2% e Brasil (0,6%). Não houve casos registrados da doença entre imigrantes do Uruguai, Venezuela, Panamá, Guatemala e México (Requena-Méndez *et al.*, 2015; Dias *et al.*, 2015). Em geral, a infecção em áreas não endêmicas se caracteriza por contaminações acidentais, por doações de sangue e órgãos de doadores infectados e por transmissão congênita (neonatos de mães imigrantes infectadas) (Schmunis e Yadon, 2010; Edwards *et al.*, 2017; Sheba *et al.*, 2017).

Até 1968, na Amazônia brasileira apesar das evidências da existência do ciclo enzoótico do *T. cruzi*, não havia registro de casos humanos autóctones de doença de Chagas na região. Shaw e colaboradores, em 1969, descreveram quatro casos agudos, em Belém, no Estado do Pará. (Shaw *et al.*, 1969). De 1975-1980 foi realizado o inquérito sorológico nacional de prevalência da

doença de Chagas, que demonstrou percentuais de soroprevalência da infecção chagásica na Amazônia Brasileira que variavam de 2,4% a 0,3% (2,4% no Acre; 1,9% no Amazonas; 0,6% no Pará; 0,4% em Rondônia e 0,3% em Roraima). Nos Estados do Pará e Amazonas, alguns municípios demonstraram percentuais preocupantes, acima da média nacional de 4,2%, como o município de Colares, no Pará, com 5,1% (Camargo *et al.*, 1984).

Por outro lado, nos últimos anos, ocorreram significantes progressos no controle da doença de Chagas na América Latina devido ao aumento na prevenção e controle da transmissão vetorial e transfusional. Destacando-se a interrupção da transmissão da doença pelo principal vetor doméstico, *Triatoma infestans*, em vários países da América do Sul, como Chile, Uruguai, Brasil, em cinco províncias da Argentina e na região oriental do Paraguai. No Brasil, houve redução do número de *T. infestans*, embora ainda existam pequenos focos residuais nos estados do Rio Grande do Sul e na Bahia (Coura e Dias, 2009; OMS, 2010; Coura, 2015; Dias *et al.*, 2016). Outro fator importante foi a obrigatoriedade da realização de triagem sorológica para o *T. cruzi* na maioria dos bancos de sangue nos países endêmicos da América Latina e nos Estados Unidos. Esses fatores contribuíram para diminuição no número estimado de pessoas infectadas de 20 milhões em 1981 para 10 milhões em 2009 (OMS, 2010). Mesmo assim, a doença de Chagas continua a se expandir na região das Américas, com diferentes impactos para o sistema de saúde, agregando custos globais no mundo estimados de aproximadamente sete bilhões de dólares por ano relacionados ao tratamento, redução do rendimento do trabalhador, incapacidade precoce e morte (Lee *et al.*, 2013).

Segundo o boletim epidemiológico do Ministério da Saúde do Brasil (2015), utilizando o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), no período de 2000 a 2013, foram registrados no Brasil 1.570 casos de doença de Chagas aguda (DCA), apenas 6,4% (100) desses casos foram decorrentes da transmissão vetorial. De forma que, os casos advindos de infecção vetorial predominantes no Brasil atualmente encontram-se em fase crônica decorrentes de transmissão em anos anteriores (Brasil, 2015). A transmissão oral da doença de Chagas no Brasil, nesse período, foi responsável, por 70% (1.081) casos, sendo que 1.023 (95%) ocorreram na região Norte, e destes, 812 (79%) foram no Estado do Pará (Brasil, 2015). Estima-se a ocorrência de aproximadamente 46 novos casos por ano no Brasil (OMS, 2015).

### **1.1.2 Triatomíneos e ecótopos no Estado do Pará**

Os levantamentos entomológicos já evidenciaram mais de 140 espécies de triatomíneos no continente americano (Dias *et al.*, 2016). Os gêneros de especial importância na transmissão

do *T. cruzi* ao homem são: *Panstrongylus*, *Rhodnius* e *Triatoma*. Quatro espécies de triatomíneos têm especial importância na transmissão da doença ao homem: *Triatoma brasiliensis*, *Panstrongylus megistus*, *Triatoma pseudomaculata* e *Triatoma sordida* (Brasil, 2017). Dentre as espécies do gênero *Rhodnius*, *R. pictipes* destaca-se na região Amazônica, apresentando ampla distribuição geográfica (36 ecos regiões da Amazônia) e já foi capturado em habitações humanas, geralmente infectado e atraído pela luz artificial (Castro *et al.*, 2010). Também merecem destaque na região amazônica: *Eratyrus mucronatus*, *Panstrongylus geniculatus*, *Panstrongylus lignarius*, *Panstrongylus rufotuberculatus*, *Rhodnius robustus*, *Rhodnius paraensis*, *Rhodnius neglectus* e *Microtriatoma trinidadensis* que foram encontradas infectadas com *T. cruzi* ou *T. cruzi* like (Coura *et al.*, 2002a; Junqueira *et al.*, 2005).

No Estado do Pará há registros de 15 espécies de triatomíneos de hábito silvestre. Entre elas, destacam-se como potenciais vetores da doença de Chagas nesse estado: *Rhodnius pictipes*, *Rhodnius robustus* e *Panstrongylus geniculatus* (Miles *et al.*, 1981, 2009). Essas espécies de triatomíneos têm como ecótopos preferenciais as palmeiras e podem invadir os domicílios sem colonizá-los, geralmente atraídos pela luz (Dias *et al.*, 2002; Dias 2002; Coura *et al.*, 2002b; Castro *et al.*, 2010). A construção de casas muito próximas das matas, em contato direto com os ecótopos de triatomíneos (palmeiras), implica em visitas destes insetos infectados aos moradores que podem ser picados ou são atraídos pela luz artificial, emissão de gás carbônico, calor, raios ultravioleta (UV) e odores (ácidos orgânicos), podendo ser triturados (ou suas excretas) junto aos alimentos, ocasionando a transmissão oral da doença de Chagas (Póvoa *et al.*, 1984; Valente *et al.*, 1999, Coura, 2007; 2010; Castro *et al.*, 2010; Aguiar *et al.*, 2013; Sangenis *et al.*, 2016).

As palmeiras (Arecaceae) são ecótopos antigos e bem definidos que servem de abrigos para diversas espécies de triatomíneos. Na copa das palmeiras encontramos um acúmulo de matéria orgânica, albergando uma ampla gama de reservatórios, tais como: marsupiais, quirópteros, roedores e bradipodídeos, com colonização de diferentes mamíferos, aves, répteis e anfíbios, que propicia o surgimento de um micro-habitat que serve de recurso alimentar, favorecendo a adaptação de diversas espécies, como os triatomíneos nessas palmeiras nesse ambiente (Mascarenhas, 1991). Fato este, que contribui para a manutenção do ciclo enzoótico da doença de Chagas. Os ecótopos preferenciais da maioria das espécies do gênero *Rhodnius* (*R. pictipes* e *R. robustus*) incluem as palmeiras, especialmente as do gênero *Attalea* (Aracoideae), que possuem altura média de 10 m, denominada como acuri, bacuri ou uricuri, (Miles *et al.*, 1981, 2009). Ambas espécies *R. pictipes* e *R. robustus* já foram evidenciadas na Amazônia nas

palmeiras *Attalea maripa* (“inajá”), *Acrocomia aculeata* (“mucajá”), *Astrocaryum murumuru* (“murumuru”), *Astrocaryum aculeatum* (“tucumã”), *Oenocarpus bataua* (“patauí”) e *Orbignya speciosa* (“babaçu”) (Miles *et al.*, 1983; Ricardo-Silva *et al.*, 2012). Em pesquisa entomológica no município de Oriximiná/Pará não foi encontrado infestação de triatomíneos nas palmeiras de açaí, bacaba e buriri (Ricardo-Silva *et al.*, 2012). Em outro estudo no município de Abaetetuba/Pará a espécie de triatomíneo mais abundante nos ecótopos silvestres foi *R. pictipes*, sugerindo que é o vetor mais importante e que pode estar envolvido na dinâmica da transmissão local da doença a qual não depende da domiciliação do vetor (Santos, 2013).

As palmeiras de *Orbignya speciosa* (“babaçu”), são ecótopos ideais para grandes colônias de *R. robustus* que vivem com diversas espécies de invertebrados e vertebrados que servem como fonte alimentar, incluindo lagartos, aves, roedores, gambás e morcegos. As espécies silvestres *P. geniculatus* já foram encontrados em palmeiras de *Attalea maripa* (“inajá”) e *Scheelea martiana* (“urucurizeiro”). Na região da Ilha do Marajó/Pará, encontrou-se *P. geniculatus* junto a mamíferos domésticos como o porco no peridomicílio em áreas ribeirinhas, e animais sinantrópicos como os marsupiais infectados, evidenciando o seu potencial de colonização e de aproximação do domicílio humano (Valente *et al.*, 1998; Valente *et al.*, 2009). O conjunto de pequenos répteis, mamíferos, triatomíneos e outros invertebrados que habitam as palmeiras da Amazônia são elementos de grande importância para a manutenção de hospedeiros do *T. cruzi* (Gaunt e Miles, 2000; Teixeira *et al.*, 2001). Assim, quanto maior a quantidade de matéria orgânica (casca, palha, flores, frutos, fibras e epífitas mortas) nas palmeiras, maior a probabilidade de detecção de colônias de triatomíneos, ao passo que, o nível de infestação é nulo ou baixo em palmeiras “limpas” (Abad-Franch *et al.*, 2010). Palmeiras de açaí e bacaba apesar dos relatos de associação com a transmissão por via oral do *T. cruzi* destacam-se como ecótopos negativos, sem acúmulo de matéria orgânica, não propiciando microhabitat favorável ao abrigo de hospedeiro-reservatórios de triatomíneos (Dias *et al.*, 2008). É interessante ressaltar que palmeiras onde foi encontrada infestação de triatomíneos como, *Oenocarpus bataua* (“patauí”), *Astrocaryum aculeatum* (“tucumã”), *Acrocomia aculeata* (“mucajá”) e *Attalea maripa* (“inajá”), tem sua polpa e/ou fruto consumidos pela população, reforçando a necessidade de manuseio adequado desses frutos, tendo em vista o risco de transmissão da doença de Chagas por via oral envolvido (Ricardo-Silva *et al.*, 2012).

### **1.1.3 A Doença de Chagas Aguda no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN)**

A doença de Chagas aguda (DCA) é uma doença de notificação compulsória em todo o território nacional, o que possibilita a obtenção de um consolidado de informações sobre a doença. A notificação compulsória consiste na comunicação da ocorrência de casos individuais, agregados de casos ou surtos, suspeitos ou confirmados, da lista de agravos estabelecida pelo Ministério da Saúde (MS), que deve ser feita obrigatoriamente às autoridades sanitárias, visando à adoção das medidas de controle pertinentes. O instrumento de coleta dos dados sobre as doenças de notificação compulsória é o Sistema de Informações de Agravos de Notificação (SINAN) (Brasil 2007; Brasil 2017).

O SINAN foi implantado de forma gradual a partir de 1993 pelo MS. Essa implantação foi realizada de forma heterogênea nos estados e municípios, não havendo uma coordenação e acompanhamento por parte dos gestores de saúde, nas três esferas de governo (Brasil, 2007). Em 1998, o SINAN foi regulamentado pela Portaria Ministerial n.º 073 de 9 de março de 1998, tornando obrigatória a alimentação regular da base de dados nacional pelos Municípios, Estados e Distrito Federal, sob coordenação do Centro Nacional de Epidemiologia (Cenepi), que constituiu uma comissão para desenvolver instrumentos, definir fluxos e um novo software para o SINAN, além de definir estratégias para sua imediata implantação em todo o território nacional. Em 2003, as atribuições do Cenepi passaram a ser de responsabilidade da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) (Brasil 2007, 2010).

Esse sistema objetiva o registro e processamento dos agravos de notificação compulsória em todo o território nacional. Esse instrumento permite o delineamento da história e magnitude da doença, a detecção de surtos ou epidemias, possibilitando a informação rápida dos dados gerados na rotina do Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica do Sistema Único de Saúde. Além disso, o sistema deve ser utilizado para elaborar hipóteses epidemiológicas a serem testadas em ensaios específicos norteando a tomada de decisões nas três esferas de governo e as estratégias para orientar medidas de prevenção e controle da doença (Laguardia *et al.*, 2004; Pérez *et al.*, 2006; Brasil 2007).

O SINAN passou por algumas mudanças nas suas versões e plataformas do sistema operacional desde sua implantação. De 1996 a 2000 os registros foram digitados utilizando a plataforma *Disk Operating System* (DOS) e de 2000 a 2006 foi substituído pelo SINAN-Windows (plataforma Windows). A partir de 2007 até os dias atuais a versão Windows evoluiu para o SINAN-NET, com a liberação de novas versões. Essa mudança teve como um dos



objetivos a adequação às novas necessidades impostas ao sistema frente à ocorrência de um maior número de casos da doença. Atualmente temos a versão 5.0 e atualização 5.2, em todo o território nacional. A versão NET possibilita ao município com disponibilidade de acesso à internet, a transmissão diária dos dados da notificação a todos os demais níveis do sistema (Brasil 2007; Laguardia *et al.*, 2004; Brasil 2017).

O SINAN apresenta os seguintes objetivos:

1. Gerar informações que permitam detectar precocemente os casos, visando promover tratamento adequado e oportuno e reduzir a morbidade e, conseqüentemente, evitar o óbito.
2. Garantir informação de qualidade, com dados completos e confiáveis, para adoção de medidas de controle, evitando que processos epidêmicos se instalem.
3. Realizar investigação para identificar e acompanhar a curva epidêmica, identificando área de maior ocorrência de casos e grupos mais acometidos, visando orientar políticas públicas para ações integradas de prevenção e controle.
4. Definir por meio de critérios de prioridade epidemiológica, a formulação de indicadores de saúde e implementação de medidas para melhorar o nível de vida da população (Brasil, 2007).

As doenças de notificação compulsória têm seu registro feito em formulários padronizados. De forma que, todo caso suspeito deve ser notificado no sistema utilizando a Ficha Individual de Notificação (FIN), imediatamente após a confirmação de diagnóstico laboratorial (caso confirmado de DCA), deve-se iniciar a investigação epidemiológica mediante a utilização da Ficha Individual de Investigação (FII) pelo setor de vigilância epidemiológica (Brasil 2007; Coeli *et al.*, 2009; Brasil 2017).

Ficha Individual de Notificação (FIN – Anexo 1): é preenchida pelas unidades assistenciais para cada paciente, a partir da suspeita clínica da ocorrência de algum dos agravos de notificação compulsória (Portaria 1943, de 18 de outubro de 2001) ou de interesse nacional, estadual ou municipal. São registrados dados básicos (pessoa, tempo e lugar) sobre o paciente, sendo encaminhada pelas unidades assistenciais aos serviços responsáveis pela informação e/o vigilância epidemiológica. É composta por duas vias: a via original deve ser encaminhada para o serviço de vigilância epidemiológica responsável por adotar as medidas de controle necessárias e a segunda via deve ser arquivada (Laguardia *et al.*, 2004; Pérez *et al.*, 2006; Brasil 2007).

Ficha Individual de Investigação (FII - Anexo 2): trata-se de um roteiro de investigação que consta além dos dados da notificação, dados completos sobre a doença, tais como local provável de infecção, manifestações clínicas, exames laboratoriais, evolução do caso, classificação final, entre outros dados, possibilitando a identificação da fonte de infecção e os mecanismos de transmissão da doença. Deve ser utilizado preferencialmente pelos serviços municipais de vigilância ou unidades de saúde capacitadas para realização da investigação epidemiológica (Laguardia *et al.*, 2004; Pérez *et al.*, 2006; Brasil 2007).

O preenchimento da Ficha Individual de Investigação deve ser iniciado no momento do primeiro atendimento pelo profissional que levantar a hipótese diagnóstica. A digitação deve ser realizada pelo primeiro nível informatizado, onde a primeira via deve ser arquivada. Em seguida, deve-se seguir o fluxo estabelecido pelo Núcleo de Vigilância Epidemiológica Municipal. A investigação do caso se inicia com o preenchimento da FII, sendo pré-numerada para evitar duplicidade. Essa ficha do SINAN/NET, em uso atualmente, é constituída por 70 campos (Anexo 2) com informações referentes a dados gerais, dados complementares do caso (município de residência, manifestações clínicas, fontes de infecção, modo de transmissão, identificação de áreas de risco, evolução do caso, dentre outros) e classificação final, possibilitando identificar a confirmação ou descarte da doença, sendo que o prazo mínimo para o encerramento da investigação dos casos suspeitos de DCA é de 60 dias após a notificação utilizando a ficha de notificação/investigação do SINAN. O não encerramento dos casos de notificação compulsória nacional, após 60 dias, ou a interrupção de envio de dados, por dois meses consecutivos, acarretará suspensão das transferências dos recursos do Piso de Atenção Básica (PAB), conforme Portaria GM/MS n.º 1.882 (Brasil 1997).

Os campos da ficha de investigação são compostos por variáveis categóricas, e conforme o roteiro de preenchimento do SINAN, nenhum campo deve permanecer incompleto, uma vez que a norma geral de preenchimento preconizada é: “1-Sim”; “2-Não” e “9-Ignorado”. As variáveis das fichas são classificadas em obrigatórias e essenciais. As instruções de preenchimento devem ser rigorosamente obedecidas, não devendo ficar caselas em branco. O não preenchimento dos campos obrigatórios específicos de cada agravo inviabilizará a inclusão dos casos no sistema. Os campos obrigatórios de cada ficha de investigação constam no instrucional de preenchimento ou no dicionário de dados de cada ficha (Brasil 2007).

A tabela abaixo apresenta a lista de variáveis obrigatórias e essenciais utilizadas nas fichas do SINAN-NET:

**Tabela 1 - Lista de variáveis obrigatórias e essenciais presentes nas fichas de notificação e investigação da versão SINAN-NET.**

<b>Variável Obrigatória</b>	<b>Variável Essencial</b>
Número da notificação	Raça/cor
Nome do agravo	Escolaridade
Data da notificação	Nome da mãe
Unidade Federada da Notificação	Distrito de residência
Nome do Município de notificação	Bairro de residência
Unidade de saúde	Logradouro
Data de início dos 1º sintomas	Ponto de referência
Nome do paciente	CEP de residência
Data de nascimento	DDD e Telefone
Sexo	Zona
Idade	Ocupação
Caso esteja grávida, informar IG	Se o paciente manipulou material com T. cruzi.
UF de residência do paciente	Se for RN investigar a mãe
Município de residência do paciente (código do IBGE)	Possibilidade de infecção por transmissão oral
Data de investigação do caso	Sinais e sintomas
Presença de vestígios de triatomíneos intradomiciliar	Data da coleta para exames parasitológico e sorológico
História de uso de sangue ou hemoderivados	Resultado de exames parasitológico e sorológico
Se sim, informar se há controle sorológico na unidade	Tratamento
Classificação final	Droga utilizada para tratamento
Informar se o caso é autóctone	Dosagem e duração do tratamento
Se sim, informar UF do local provável	Evolução do caso
Se sim, informar nome do país provável	No caso de óbito, colocar a data
Se sim, nome do município provável	Provável modo/de infecção
Data de encerramento do caso	Medidas de controle tomadas
	Caso não autóctone
	Informa distrito e bairro
	Critério de confirmação/Descarte
	Doença versus condições de trabalho

Esse instrumento possibilita um conhecimento em maior profundidade a cerca da situação epidemiológica do agravo investigado. De acordo com Boletim epidemiológico de 2015 do MS a doença de Chagas por via oral, que apresenta uma fase aguda bem presente, representa 70% dos casos no Estado do Pará (Brasil 2015). A notificação desses casos com qualidade da informação é medida essencial para que a vigilância seja capaz de acompanhar o padrão de transmissão dessa

doença e a sua curva endêmica. A consolidação desses resultados pode estimular um maior uso deste sistema (Brasil 2007; Brasil 2017).

As unidades de saúde são as principais fontes de detecção dos casos suspeitos de DCA e, também, fontes de dados para os serviços de vigilância. A vigilância epidemiológica municipal por sua vez, além de desencadear as medidas de controle necessárias, tem o papel de inserir os casos no SINAN e posteriormente remetê-los à Secretaria Estadual de Saúde – SES que consolida os dados, que subsequentemente, encaminha ao MS (Brasil 2007, 2009).

O fluxo de informações para notificação/investigação no SINAN, inicia-se com a chegada de um caso suspeito da doença a uma unidade de saúde. Os profissionais da unidade têm a obrigação de realizar o preenchimento da ficha de notificação. As notificações preenchidas nas Unidades de Saúde são então repassadas para o serviço de vigilância do nível municipal, que semanalmente encaminha os dados para a regional de saúde, quando existe regional de saúde. Essa regional transmite quinzenalmente por meio eletrônico as bases de dados para o nível estadual, que conseqüentemente repassa os dados semanalmente para o nível central, representado pela Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, conforme a figura 3. Em todos os três níveis (Municipal, Estadual e Federal), os dados devem ser consolidados e analisados. É fundamental a articulação entre os diferentes níveis do sistema de saúde (municipal, estadual e federal) na organização e funcionamento do SINAN (Brasil 2007; Coeli *et al.*, 2009).



**Figura 3. Fluxograma investigação da doença de Chagas aguda (DCA) pelo SINAN.**

Fonte: Brasil, 2007. LACEN: Laboratório Central de Saúde Pública.

Exemplo de fluxograma estabelecido a partir de um caso suspeito de DCA no Estado do Pará (Figura 4).



**Figura 4.** Fluxograma de investigação da doença de Chagas aguda (DCA) no Estado do Pará. Unidade de Diagnóstico e Tratamento (UDT). LACEN: Laboratório Central de Saúde Pública. IEC: Instituto Evandro Chagas. SESPA: Secretaria de Estado de Saúde Pública. HUJBB: Hospital Universitário João de Barros Barreto. SMS: Secretaria Municipal de Saúde. CRS: Centro Regional de Saúde. Adaptado SESPA.

#### **1.1.4 Formas de transmissão da doença de Chagas**

A doença de Chagas apresenta uma diversidade de possíveis mecanismos de transmissão. Além da transmissão pela via clássica vetorial (já descrito durante o ciclo evolutivo) o *T. cruzi* também pode ser transmitido pela via oral, por transfusão de sangue e transplante de órgãos provindos de doadores infectados, pela via congênita e mais raramente por acidentes laboratoriais (Coura, 2007, de Noya, 2015; Bern, 2015; Requena-Méndez *et al.*, 2015).

##### **1.1.4.1 Transmissão do *T. cruzi* por via oral**

A transmissão da doença de Chagas também pode ocorrer através da contaminação de alimentos e bebidas com as formas infectivas (triatomíneos e/ou fezes) que podem se ingeridas pelo hospedeiro (Coura, 2015). No Brasil, essa forma de transmissão teve o registro do primeiro caso documentado em 1965, no Rio Grande do Sul, envolvendo 17 pessoas que faziam refeições em uma escola agrícola. Todos adoeceram com miocardite aguda e seis deles foram a óbito (Silva *et al.*, 1968). Desde então, os surtos têm sido descritos em vários estados brasileiros, como Amazonas, Amapá, Bahia, Ceará, Pará, Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Após o surto de transmissão oral por caldo de cana em Santa Catarina em 2005 (Andrade *et al.*, 2006), ocorreu uma maior visibilidade na cadeia epidemiológica da doença de Chagas com enfoque para a transmissão oral, pois ainda pouco se conhecia sobre a etiologia e manejo da doença por essa forma de transmissão (Dias *et al.*, 2016). A transmissão por via oral pode ocorrer por ingestão de alimentos, como: cana-de-açúcar, polpa de açaí, bacaba, babaçu, sopas com condimentos *in natura*, contaminados com as fezes ou o com próprio triatomíneo contaminado com o *T. cruzi*, que pode ser triturado com o alimento (da Silva *et al.*, 1968; Sanchez e Ramirez, 2013, Toso *et al.*, 2011). A infecção por via oral também pode ocorrer através da ingestão de carne ou sangue de animais de caça infectados crus ou mal cozidos (Dias, 2006; Brasil 2017). Outra forma já descrita de contaminação do alimento ocorre através do contato com as secreções das glândulas anais de marsupiais infectados, as quais apresentam formas tripomastigotas metacíclicas (Dias, 2006; Dias *et al.*, 2011; Toso *et al.*, 2011). Em outros países da América Latina como Venezuela, Colômbia, Guiana Francesa, Bolívia, Argentina e Equador, também foram descritos surtos geralmente associado a sucos de frutas como: goiaba, laranja e tangerina, além de alimentos contaminados com secreções das glândulas anais de marsupiais infectados com o parasito (da Silva, 1968; Alarcon de Noya *et al.*, 2010 Sanchez e Ramirez, 2013, Toso *et al.*, 2011). Em fevereiro de 2015, em descrição de episódio de surto por ingestão de alimentos contaminados na

Venezuela, envolvendo um caso de transmissão vertical proveniente da transmissão oral, foi demonstrada a ocorrência de morte fetal em 24 semanas de gestação, com detecção de tripomastigotas no líquido amniótico e de ninhos de amastigotas no coração de feto, mostrando a gravidade da transmissão por via oral e a importância do diagnóstico precoce em mulheres em idade fértil (Noya *et al.*, 2017). O risco de transmissão por via oral pela amamentação ainda não foi claramente definido. Apesar das formas tripomastigotas terem sido encontradas no leite materno em trabalhos experimentais com camundongos, a infecção por esta via em humanos não está bem estabelecida (Martins, 2011; Norman e Lopez-Velez, 2013).

Na região Amazônica em 1968, foi descrita a doença de Chagas aguda (DCA), em Belém (PA), acometendo três pessoas de uma família residente no bairro, configurando a primeira descrição de doença de Chagas humana autóctone da região, sob a forma de surto familiar, aos quais se somou a outro surto identificado posteriormente, acometendo quatro pessoas de uma mesma família e domicílio. Nas investigações realizadas sugeriu-se a transmissão por alimento contaminado com fezes de triatomíneos para explicar a simultaneidade dos casos (Shaw *et al.*, 1969). Em 1996, foram descritos casos de doença de Chagas aguda nos estados do Pará e Amapá. No Pará ocorreram surtos nos municípios de Viseu e Belém, com dois e quatro casos de DCA, respectivamente. No Estado do Amapá, no município de Mazagão foram registrados 17 casos em três famílias, com evidência de DCA por transmissão oral. Atribuíram a provável fonte de infecção ao suco de açaí preparado em máquina de extrair o fruto, possivelmente contaminado com fezes ou triatomíneos infectados com *T. cruzi* (atraídos pela luz, caíram na máquina), existentes no peridomicílio (Valente *et al.*, 1997; Valente *et al.*, 2008). Nas imediações das áreas de produção e manuseio do suco, o inseto vetor pode ser moído em meio ao fruto (açaí) (Yoshida *et al.*, 2009). Os surtos descritos ocorreram entre indivíduos que compartilharam da mesma refeição (Shaw *et al.*, 1969; Valente *et al.*, 1997, 2008).

No Estado do Pará, os registros de surtos por transmissão oral em grupos de convivência familiar e comunitária já foram associados ao consumo do fruto do açaí e/ou bacaba, que são hábitos alimentares culturais e de subsistência da população (Shaw *et al.*, 1969; Valente *et al.*, 1999, 2008; Dias *et al.*, 2002; Crespo *et al.*, 2007; Beltrão *et al.*, 2009; Nóbrega *et al.*, 2009). Estudos sugerem que triatomíneos podem ser atraídos por compostos orgânicos liberados pela fermentação de alguns frutos, pela luz artificial e pelo próprio gás carbônico desprendido do corpo humano (Castro *et al.*, 2010; Aguiar *et al.*, 2013). No Pará, a partir do preparo de açaí e

bacaba já foram relatados surtos no qual o processamento ocorreu pela manhã sem influência de luz artificial (Coura *et al.*, 2002; Crespo *et al.*, 2007; Valente, 2011).

A infecção por via oral tem um período de incubação de 3-22 dias e não apresenta os sinais de porta de entrada como chagoma de inoculação ou sinal de Romaña (Dias *et al.*, 2016; Brasil 2017).

A entrada do parasito nas células nucleadas (células dendríticas, macrófagos, fibroblastos, musculares e nervosas) do hospedeiro vertebrado envolve uma variedade de moléculas presentes no hospedeiro e no parasito, como mucinas, transialidases e glicoproteína gp82, entre outras, sendo fundamental para a adesão e a internalização do parasito na célula hospedeiro. Na mucosa gástrica, ocorre a partir da interação das glicoproteínas de membrana gp82 e gp30, presentes na forma tripomastigota metacíclica com mucinas presente nas células epiteliais da mucosa gástrica, promovendo a invasão desta mucosa (Hoft *et al.*, 1996; Yoshida *et al.*, 2000; Yoshida, 2008; de Souza *et al.*, 2010; Collins *et al.*, 2011). Estudos vêm demonstrando que este mecanismo é mediado por receptor promovendo a interação das células hospedeiras a gp82 e gp30 do parasito, desencadeando uma cascata de sinalização intracelular, tanto no parasito quanto na célula, levando à mobilização de cálcio intracelular que é essencial para a internalização do parasito na célula (Staquicini *et al.*, 2010, Yoshida, 2009, Yoshida *et al.*, 2000; 2011). Em modelo experimental estudos também mostram que os tripomastigotas invadem a mucosa gástrica epitelial e uma vez interagindo com componentes estruturais do hospedeiro, exacerbam a capacidade invasiva do parasito (Covarrubias *et al.*, 2007).

Há, portanto, estudos em modelo experimental que vêm demonstrando que a via de inoculação é um fator essencial na patogênese (de Meis *et al.*, 2013, de Noya, 2015). O local de entrada do parasito, na cavidade oral, como observado na infecção natural, ou diretamente no estômago, via gavagem, define a patogenia e fisiopatologia da doença de Chagas, afetando diferentemente a resposta imune do hospedeiro e a mortalidade (Barreto-de-Albuquerque *et al.*, 2015; dos-Santos, 2017). Na infecção pela via oral os animais apresentaram uma doença aguda mais grave, com parasitemia, taxa de mortalidade e níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) mais elevados em comparação com os animais infectados pela via intragástrica. Além disso, os animais infectados pela via oral apresentaram um dano hepático mais intenso, porém com menos danos ao tecido cardíaco (Barreto-de-Albuquerque *et al.*, 2015). Essas observações já demonstradas em modelo animal, explicam



situações que podem estar relacionadas com a gravidade dos sintomas apresentados por pacientes infectados por via oral (Bastos *et al.*, 2010; de Meis *et al.*, 2013; de Noya, 2015; dos-Santos, 2017).

#### **1.1.4.2 Transmissão do *T. cruzi* por transfusão sanguínea e transplante de tecidos/órgãos**

A transmissão da doença de Chagas associada à transfusão em meados das décadas de 1970 e 1980 era um dos principais mecanismos de disseminação da doença na América Latina, devido à falta de triagem sorológica nos bancos de sangue e alta prevalência de doadores com doença de Chagas no Brasil (6,9%) e na América Latina (6,5%), sendo estimada aproximadamente 6 a 10 mil novos casos por ano apenas no Brasil em meados de 1960 (Coura e Vinas, 2010, Moraes-Souza e Ferreira-Silva, 2011). A implementação dos programas de controle da doença de Chagas promovidos pelo sistema nacional de saúde, com o sistema nacional de sangue e hemoderivados em países da América Latina e a Organização Pan-Americana da Saúde, que instituíram a obrigatoriedade da seleção sorológica dos candidatos à doação, promoveu a diminuição significativa da prevalência da doença em doadores de sangue, com avanços na segurança transfusional (Moraes-Souza e Ferreira-Silva, 2011, OMS, 2015). No entanto, nas últimas décadas, a transmissão de *T. cruzi* em transfusão de sangue em países não endêmicos vem crescendo, devido ao aumento do fluxo migratório da população da América Latina para países da América do Norte, Europa, Japão e Austrália (Coura, 2015; Dias *et al.*, 2016). Essa via tem um período de incubação de 20 a 40 dias com manifestações clínicas idênticas às encontradas pela transmissão pela via vetorial clássica com exceção dos sinais de porta de entrada, como chagoma de inoculação ou sinal de Romaña, que não são observados. (Dias, 1997; Moraes-Souza e Ferreira-Silva, 2011).

No caso de transplante de órgãos, o risco de transmissão da doença de Chagas ocorre através do transplante de órgãos ou tecidos de um doador infectado com *T. cruzi* para um receptor que não apresenta a doença. Já foi relatado transmissão da doença de Chagas por transplante de rim, fígado e coração. No entanto, nem todos os pacientes que recebem os órgãos de doadores infectados adquirem a doença, que apresenta um período de incubação prolongado de 112 dias, podendo ocorrer com 23 a 420 dias, com manifestações clínicas que podem ser mais graves que na infecção por via vetorial, como miocardite fulminante e insuficiência cardíaca congestiva (Bern *et al.*, 2011; Bern, 2015; Riarte *et al.*, 1999).

#### **1.1.4.3 Transmissão do *T. cruzi* por via congênita ou vertical**

A transmissão congênita pode ocorrer: 1) através da placenta quando ninhos de amastigotas presentes nesse tecido se diferenciam em tripomastigotas e chegam à circulação fetal ou 2) no momento do nascimento no canal do parto, sendo identificada em todas as crianças nascidas de mães com sorologia positiva para o *T. cruzi*. A confirmação ocorre através da identificação do parasito no sangue do recém-nascido ou sorologia positiva após os seis meses de idade. O risco da transmissão parece ser maior na fase aguda da infecção materna, quando a parasitemia é mais elevada e persistente, mas a gestante pode transmitir o parasita para o feto durante qualquer fase da doença (aguda ou crônica) e em qualquer momento da gestação (Rassi *et al.*, 2004; Contijo *et al.*, 2009; Coura, 2015). A estimativa de casos por ano foi de 14.385 na América Latina, entre 66 a 638 nos Estados Unidos, e cerca de 20 a 183 na Europa. No Brasil, entre 2000 e 2013 foram registrados apenas seis casos de transmissão congênita com prevalência no Estado do Rio Grande do Sul (Cevallos e Hernandez, 2014; Brasil 2015). A doença de Chagas congênita é considerada aguda e, portanto, de notificação obrigatória, com risco de infecção em crianças nascidas de mães infectadas em regiões endêmicas de cerca de 5% (Brasil 2007; Dias *et al.*, 2016, Brasil 2015; Brasil 2017). As triagens dos recém-nascidos de mães infectadas devem ser realizadas para fornecer o diagnóstico e tratamento precoce (Dias *et al.*, 2016; OMS, 2016).

#### **1.1.4.4 Transmissão Acidental (Acidentes laboratoriais)**

As transmissões por acidentes podem ocorrer em diferentes contextos como: nas ações de captura do vetor em áreas endêmicas, em laboratórios de triatomíneos, em trabalhos experimentais com mamíferos infectados e culturas de *T. cruzi*. A atividade de vigilância e controle deve incluir o desenvolvimento de ações de educação permanente em saúde e supervisão, com verificação da utilização apropriada de equipamentos de proteção individual (EPI), comunicação de acidente de trabalho (CAT) dentro dos processos demarcados de vigilância à saúde do trabalhador (Ministério da Saúde, 2014; Dias *et al.*, 2016).

#### **1.1.5 Manifestações clínicas da doença de Chagas**

A doença de Chagas apresenta duas fases clínicas sucessivas: aguda e crônica. A fase aguda caracteriza-se por alta parasitemia no sangue periférico, parasitismo de muitos tipos celulares e os sintomas clínicos podem persistir por até 12 semanas pós-infecção, evoluindo para a fase crônica que pode ser assintomática (indeterminada) ou sintomática (Brasil 2017; Rassi *et al.*,

2010, Shikanai-Yasuda e Carvalho, 2012). Mecanismos patogênicos na infecção pelo *T. cruzi*, já descritos desde 1911, consistem na reação inflamatória local, com necrose, destruição tissular e cicatrização com fibrose (Andrade, 1999).

Na transmissão vetorial a fase aguda é assintomática na maioria dos indivíduos, apenas 1 em cada 30 indivíduos infectados apresenta sintomas. Quando o caso é sintomático, manifesta-se por reações locais (chagoma de inoculação ou sinal de Romana), seguidos de manifestações inespecíficas, como: febre, mal-estar, anorexia, vômitos e diarreia (Dias *et al.*, 2016; Brasil 2017). Em casos mais graves (5% a 10%), associados à intensa resposta inflamatória, com morte de células teciduais (fibrose e apoptose), os pacientes infectados, na sua maioria em recém-nascidos, lactantes e indivíduos mais velhos, podem desenvolver miocardite ou meningoencefalite, com taxa de mortalidade de 5-10% devido a essas complicações (Moncayo e Ortis, 2006; Dias *et al.*, 2016; Brasil 2017; Rassi *et al.*, 2010). A taxa de mortalidade estimada em pacientes não sintomáticos na fase aguda é ainda menor, sendo de um em cada 200 a 400 indivíduos (Rassi *et al.*, 2010). Após a fase aguda, de acordo com a cepa de *T. cruzi* e a resistência do hospedeiro a doença torna-se assintomática e latente (fase crônica indeterminada) em muitos casos (cerca de 50 - 70%) por um período entre 10 a 20 anos, podendo ou não evoluir para a fase crônica sintomática (Moncayo e Ortis, 2006; Messenger *et al.*, 2015; Brasil 2017). Cerca de 30 a 40% dos indivíduos infectados evoluem para uma fase crônica sintomática e podem apresentar morbidades como cardiomiopatia, síndromes de megacólon e/ou megaesôfago e alterações no sistema nervoso (Moncayo e Ortis, 2006; Brasil 2017; Dias *et al.*, 2016). Entre as alterações no eletrocardiograma (ECG) observadas na transmissão vetorial prevalece o bloqueio de ramo direito (Souza *et al.*, 2013 Souza e Pova 2016). A cardiomiopatia chagásica crônica com cardiomegalia, arritmias, insuficiência cardíaca, tromboembolismo é uma das complicações que gera falência cardíaca e óbito em aproximadamente 38% dos casos (Higuchi 1999; Higuchi, 2003, Parker e Sethi, 2011, Rassi *et al.*, 2012, Messenger *et al.*, 2015).

A transmissão por via oral parece induzir a uma infecção aguda mais grave, com manifestações clínicas mais intensas do que se observa nos casos de transmissão por via clássica (Rueda *et al.*, 2014; Shikanai-Yasuda e Carvalho, 2012). Os pacientes infectados por essa via apresentam febre, dor de cabeça, tosse, astenia, edema facial, edema de membros inferiores, mialgia, dor abdominal, meningoencefalite e miocardite (Shikanai-Yasuda e Carvalho, 2012, Toso *et al.*, 2011, Rueda *et al.*, 2014). O edema é um dos sintomas frequentes principalmente na

face, sendo descrito em 57-70% dos casos, sendo relatado também em membros inferiores (24-57%) e de forma generalizada (3-14%) (de Noya, 2015, Pinto *et al.*, 2008, Shikanai-Yasuda e Carvalho, 2012). As manifestações hemorrágicas também representam um sintoma importante no caso suspeito de doença de Chagas aguda (paciente com febre persistente de área endêmica) (Dias *et al.*, 2016). As alterações cardíacas (insuficiência cardíaca congestiva aguda e miocardite) também são um sinal frequente (Bastos *et al.*, 2010; Pinto *et al.*, 2008).

O ECG desempenha importante papel no diagnóstico da cardiopatia chagásica, no conhecimento das anormalidades elétricas, da disfunção ventricular e na avaliação prognóstica. As alterações no ECG têm sido observadas em 50-100% dos casos (Bastos *et al.*, 2010, Marques *et al.*, 2013, Pinto *et al.*, 2008, Shikanai-Yasuda *et al.*, 1991, Souza *et al.*, 2013). Entre as alterações eletrocardiográficas mais presentes durante a fase aguda na área endêmica, encontram-se as alterações difusa da repolarização ventricular (ADRV), podendo estar presentes mesmo em indivíduos assintomáticos (Souza *et al.*, 2013). Pinto e colaboradores, (2010) registraram como a principal alteração eletrocardiográfica em 43,3% em estudo na região amazônica com 179 pacientes com DCA no período entre 1992 e 2005 (Pinto *et al.*, 2010; Souza *et al.*, 2013). ADRV são alterações no ECG que podem ser relevantes na triagem diagnóstica de um caso febril em área endêmica como indicador da DCA, com predomínio de 72,6% em estudo com 161 pacientes na fase aguda da doença de Chagas (Souza e Pova, 2016). Marques e colaboradores (2013) em outro estudo na Venezuela com 103 pacientes na fase aguda por infecção oral (surto causado pela ingestão de suco de goiaba contaminado) demonstraram que 66% dos pacientes apresentaram alterações no ECG, principalmente no segmento ST e onda T (37,86%) (Marques *et al.*, 2013). No entanto o estudo de Parada e colaboradores (1997) relataram uma frequência menor de pacientes com alterações no ECG, apenas 40% dos casos apresentaram alteração no segmento ST e onda T em 4,4% dos casos de 58 pacientes na fase aguda da infecção vetorial clássica (Parada *et al.*, 1997). Na infecção oral tem-se observado que o tempo entre o início dos sintomas, o diagnóstico etiológico e o começo do tratamento estão relacionados à gravidade da infecção e a taxa de mortalidade mais alta, sendo estimada em 8-35%, que pode ocorrer principalmente no período após duas semanas de infecção (Alarcón de Noya *et al.*, 2010, Rassi *et al.*, 2010, de Noya, 2015). Essa mortalidade tem sido associada a manifestações neurológicas, como meningoencefalite e principalmente ao acometimento cardíaco, sendo observado em 80% dos indivíduos manifestações cardíacas, como insuficiência cardíaca congestiva aguda e miocardite aguda (Pinto *et al.*, 2004; Dias *et al.*, 2008). A forma de transmissão, carga parasitária, e aspectos

imunológicos do parasita podem ser cruciais da evolução clínica da doença de Chagas (Dias *et al.*, 2016). De forma que o diagnóstico precoce e o tratamento são primordiais, buscando evitar uma evolução mais grave da doença (Alarcón de Noya *et al.*, 2010, Bastos *et al.*, 2010, Rassi *et al.*, 2010, de Noya, 2015).

Na doença de Chagas transfusional a febre prolongada, que não responde a antibióticos, é o sintoma mais comum e às vezes é a única sintomatologia encontrada. Cerca de 80 a 100% dos casos apresentam febre e aproximadamente 20% dos pacientes infectados por essa via são completamente assintomáticos, não levantando a suspeita da transmissão da doença por transfusão de sangue (Dias, 1997, Moraes-Souza e Ferreira-Silva, 2011).

Na doença de Chagas congênita, os recém-nascidos infectados geralmente são assintomáticos (60 a 90%). Os sinais e sintomas da doença de Chagas congênita sintomática incluem baixo peso ao nascer, nascimentos prematuros, índice de Apgar baixo, hepatoesplenomegalia, anemia e trombocitopenia. Uma minoria de recém-nascidos pode desenvolver uma forma aguda grave com risco de vida apresentando meningoencefalite, anasarca, síndrome do desconforto respiratório e/ou pneumonite associado com o parasitismo da parede alveolar (Bern *et al.*, 2011, Dias *et al.*, 2011, Cevallos e Hernandez, 2014). A rápida detecção da infecção em recém-nascidos e o tratamento imediato reduzem significativamente a morbimortalidade (Dias *et al.*, 2011).

#### **1.1.6 Tratamento da doença de Chagas**

O tratamento específico da doença de Chagas conta com apenas dois medicamentos, o Nifurtimox (Lampit®) e o Benzonidazol (Bz), desenvolvidos nos anos de 1960 e 1970 (Coura *et al.*, 1997; Croft *et al.*, 2005). No Brasil a única opção para o tratamento é o Benzonidazol. Esses medicamentos atuam nas formas sanguíneas do *T. cruzi* e são mais eficazes na fase aguda da doença (Sosa Estani e Segura, 1999), sendo recomendados para todas as pessoas diagnosticadas com infecção aguda, casos de infecção congênita, pacientes imunodeprimidos (infecção reativada) e pacientes em fase crônica precoce (OMS, 2017). Na fase crônica, quando os parasitos são escassos no sangue e se concentram nos tecidos, a eficiência do tratamento é controversa, uma vez que não estão definidos os reais benefícios da utilização do tratamento nesta fase da doença de Chagas (Macedo e Silveira, 1987; Viotti *et al.*, 1994; Coura *et al.*, 1997).

Vários autores demonstram que o tratamento com Bz apresenta pequena ou nenhuma atividade na fase crônica, com índices de cura variando entre 0% a 19,1%. Entretanto, Viotti e colaboradores indicam benefícios na fase crônica que podem prevenir ou retardar a evolução da doença de Chagas para as formas clínicas mais graves, com diminuição da progressão de alterações eletrocardiográficas e da cardiopatia, em relação aos indivíduos não tratados (Viotti *et al.*, 1994, Macedo e Silveira, 1987, Garcia *et al.*, 2005, Fernandes *et al.*, 2009). No estudo BENEFIT (*Benzonidazol Evaluation for Interrupting Trypanosomiasis*), foi testada a hipótese de que o tratamento com Benzonidazol, comparativamente a placebo, poderia prevenir a progressão da cardiomiopatia chagásica crônica (Marin-Neto *et al.*, 2009). O estudo englobou pacientes de diversas regiões, incluindo Brasil, Colômbia, Venezuela, Argentina, Peru e Bolívia, sendo designados aleatoriamente para receber Benzonidazol ou placebo. Os resultados demonstraram redução da carga parasitária nesses pacientes, porém sem reflexo no agravamento dos problemas cardíacos (Marin-Neto *et al.*, 2009).

O sucesso terapêutico para doença de Chagas é considerado quando há negatificação parasitológica e sorológica após o tratamento específico. A comprovação de cura corresponde à negatividade sorológica com dois ou mais exames negativos para detecção e quantificação da carga parasitária do *T. cruzi*, realizados pela técnica de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e reação em cadeia da polimerase (PCR) negativo. Cerca de 70% dos indivíduos tratados na fase aguda apresentam cura (Silveira *et al.*, 2000, Garcia *et al.*, 2005, Marin-Neto *et al.*, 2009).

## **1.2 Contexto da resposta imune na infecção por via oral**

A transmissão por via oral desenvolve quadros mais graves da infecção, com uma mortalidade de 8-35%, maior que a observada na transmissão vetorial clássica, estimada em <5-10% (Pinto *et al.*, 2008; Rueda *et al.*, 2014, Shikanai-Yasuda e Carvalho, 2012; Rassi *et al.*, 2010). Este fato possivelmente está relacionado à resposta específica com a porta de entrada do parasito através dos sítios da mucosa, com mecanismos imunológicos locais, impactando a imunidade regional e sistêmica, evidenciando a existência de diferentes respostas nos órgãos linfóides. A via de transmissão oral vem sendo bem estudada em modelos experimentais. Os modelos murinos demonstram que o tecido gastrointestinal (GI) forma uma interface entre o organismo e seu ambiente, constituindo uma imensa área de superfície, podendo levar nas mucosas uma resposta imune específica e a proporção dessa resposta do hospedeiro determinará o destino do parasito, assim como o nível de parasitemia sistêmica (Collins *et al.*, 2011).

Camandaroba e colaboradores, (2002) relataram em modelos murinos infectados com as cepas Peruana e Colombiana de *T.cruzi* pela via intraperitoneal e oral (intragástrica) que específicas vias de infecção e diferentes cepas induzem a diferentes níveis de parasitemia e de alterações patológicas. Hoft e colaboradores (1996) demonstraram que após 14 dias de infecção de camundongos por via oral com cepa Tulahuén (TcVI) do *T. cruzi* em análises histopatológicas, a presença de lesões inflamatórias em diversos órgãos, como: pâncreas, baço, fígado, medula óssea, coração, duodeno, adrenal cérebro e músculo esquelético. Em análises imunohistoquímicas, observaram a presença do *T.cruzi* na mucosa gástrica com 4 e 14 dpi (dias pós-infecção), porém não detectaram o parasito no esôfago e nem na orofaringe, sugerindo então que a mucosa gástrica é a principal porta de entrada do parasito na infecção oral e a partir deste tecido se estabelece uma infecção sistêmica (Hoft *et al.*, 1996).

Outros estudos com infecção oral corroboram com esse resultado, utilizando técnicas padronizadas de infecção intragástrica ou intrafaringeana, considerando a infecção oral e intragástrica como vias similares de infecção e demonstrando a interação do parasito com mucosa gástrica, mostrando que as glicoproteínas, gp82 e gp30, presentes na superfície do parasito são resistentes ao suco gástrico e se ligam à mucina gástrica, permitindo a invasão e replicação do parasito na célula (Hoft *et al.*, 1996, Staquicini *et al.*, 2010, Yoshida, 2009). Por outro lado, nos últimos anos os estudos em modelos experimentais têm evidenciado que a porta de entrada do parasito é um fator determinante na patogênese, podendo influenciar na resposta imune do hospedeiro, possivelmente modulando mecanismos imunes locais que terão impacto na imunidade sistêmica e conseqüentemente nas manifestações clínicas e na morbimortalidade do hospedeiro (De Meis *et al.*, 2013, de Noya, 2015). Na corrente sanguínea e no sistema linfático os tripomastigotas sanguíneos liberados podem infectar uma grande variedade de células do hospedeiro se disseminando por diversos órgãos e tecidos (De Meis *et al.*, 2013).

Foi demonstrado em estudo com duas vias de inoculação, que camundongos infectados com a cepa Tulahuén (TcVI) do *T. cruzi* apresentaram maior parasitemia e mortalidade por via subcutânea do que por via intranasal. Sendo também evidenciado que os camundongos infectados pela via intranasal apresentaram um maior parasitismo no cérebro, sugerindo que nos primeiros momentos da infecção, os parasitos invadem as células da cavidade nasal, multiplicam-se e, em seguida, migram para o cérebro através dos tecidos olfatórios da cavidade nasal (Caradonna e Pereiraperrin, 2009).

Barreto-de-Albuquerque e colaboradores (2015), em estudo utilizando vias de inoculação oral e intragástrica (gavagem), com camundongos machos de linhagem BALB/c de 6-8 semanas infectados com cepa Tulahuén (TcVI), demonstraram uma doença aguda mais grave, com maior parasitemia, maior mortalidade, níveis mais elevados de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- $\alpha$  e interferon gama (IFN- $\gamma$ ) e danos hepáticos mais graves por maiores níveis séricos de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) nos animais infectados por inoculação oral comparados aos animais infectados por gavagem (via intragástrica). Nos animais infectados pela via intragástrica foi observado um quadro de miocardite mais grave e maiores níveis de fator de transformação do crescimento beta (TGF- $\beta$ ) e interleucina 17 (IL-17). A mortalidade dos animais com altos níveis de TNF- $\alpha$  e essa diferença entre a resposta imune foi correlacionado principalmente com a porta de entrada do parasito no hospedeiro (Barreto-de-Albuquerque *et al.*, 2015).

Dos-Santos e colaboradores (2017), em modelo experimental (camundongos da linhagem BALB/c machos com idade variando de 6-8 semanas) utilizando vias de infecção: oral, intragástrica, subcutânea e intravenosa, com imagem por bioluminescência demonstram que a cinética da disseminação do parasito pela via oral. A região nasomaxilar é o principal local de interação e replicação do *T. cruzi* logo após a infecção oral, levando à infecção na fossa nasal, envolvendo regiões adjacentes como cavidade nasal e linfonodo mandibular. E, a partir da cavidade nasal, se dissemina para outros órgãos (hipófise, cérebro, coração, baço, fígado e região genital). De uma forma geral se observa que com a progressão da infecção (14 e 21dpi) o parasita se distribui de forma sistêmica em todas as vias de inoculação, principalmente na região genital e abdominal, com preferência do parasito pelos órgãos sexuais masculinos e do trato gastrointestinal (dos-Santos, 2017).

De uma forma geral esses dados reforçam o fato que a porta de entrada do parasita no hospedeiro pode modular os mecanismos imunes e a gravidade da doença (de Meis *et al.*, 2013; de Noya, 2015; dos-Santos, 2017). Fica claro que o balanceamento entre as citocinas pró e antiinflamatórias desempenham um papel crucial na resposta imune na doença de Chagas. O desafio consiste em identificar quais mecanismos imunológicos tornam pessoas mais suscetíveis que outras a forma mais grave da doença de Chagas, especialmente por via oral.



### **1.3 Distúrbios da coagulação na doença de Chagas**

#### **1.3.1 Estágios fisiológicos da hemostasia**

A hemostasia é o resultado de um conjunto de processos bem regulados que inclui três processos: hemostasia primária, coagulação (hemostasia secundária) e fibrinólise (Guyton e Hall, 2017; Bozzini, 2004). Estes processos que formam o sistema hemostático tem a capacidade de reconhecer danos vasculares e recrutar uma apropriada combinação de células e enzimas, produzindo um "tampão" insolúvel nos locais de lesão (constituído de plaquetas e fibrina), interrompendo assim a perda de sangue. Têm como finalidade manter a fluidez do sangue, sem haver extravasamento pelos vasos ou obstrução do fluxo pela formação de trombos e estão prontos para induzir o tampão hemostático rápido e localizado em um local de lesão vascular (Guyton e Hall, 2017). De forma que, os fatores vasculares e sanguíneos devem estar em equilíbrio, permitindo que o sangue permaneça líquido no interior dos vasos (Carlos e Freitas, 2007). Para esse processo acontecer é necessário o funcionamento de três fatores interligados: a integridade dos vasos, a presença de plaquetas em número e funcionamento normal e quantidades fisiológicas dos fatores da cascata de coagulação do sangue (Garcia-Navarro, 2005).

Na hemostasia primária, as plaquetas têm papel primordial. No momento da lesão ou disfunção endotelial na presença do fator de Von Willebrand (FvW) e fator VIII a adesão plaquetária é ativada. As plaquetas ativadas liberam o conteúdo dos grânulos citoplasmáticos com múltiplos fatores ativos que aderem ao colágeno nos tecidos e ao fator de Von Willebrand (FvW), que é um fator essencial nessa ligação plaquetária ao colágeno e outras superfícies (Garcia-Navarro, 2005; Brummel-Ziedins e Wolberg, 2014). As plaquetas contêm dois tipos específicos de grânulos: grânulos alfa que expressam a molécula de aderência P-selectina nas suas membranas e contêm fibrinogênio, fibronectina, fator V e FvW, fator plaquetário 4, fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e TGF- $\beta$  e os grânulos  $\delta$  ou corpúsculos densos constituídos de adenosina difosfato (ADP), cálcio ionizado, histamina, serotonina, epinefrina e tromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) (Cotran, 2000). O ADP é um potente indutor da agregação plaquetária, sendo responsável pela ativação de outras plaquetas e pela modificação da sua forma, que passa de discoide para esférica com aparecimento de pseudópodes. De forma que essas plaquetas se agregam umas as outras formando um tampão que fornecerá um ambiente adequado ao processo de coagulação do sangue, com a formação de um coágulo resistente. Nessa etapa uma lipoproteína denominada fator plaquetário 3 (PF3), que participa de inúmeras reações da cascata

de coagulação é exteriorizada pelas plaquetas (Brummel-Ziedins e Wolberg, 2014). Nesse sentido, a participação das plaquetas ocorre nas seguintes fases: agregação primária-formação do tampão plaquetário; agregação secundária – as plaquetas do tampão plaquetário liberam ADP, que é um potente indutor da agregação plaquetária; coagulação do sangue – interação sequencial de cerca de 13 proteínas plasmáticas (fatores de coagulação) que corresponde a cascata da coagulação, formando assim o coágulo sangüíneo; retração do coágulo – com a ação da actina, miosina e ATP das plaquetas, e remoção do coágulo – a parede do vaso se restaura pela formação de novo tecido, sendo o coágulo assim removido pelas enzimas liberadas pelos lisossomos das plaquetas (Cotran, 2000; Garcia-Navarro, 2005).

O processo de coagulação sanguínea envolve reações químicas que convertem uma proteína solúvel no plasma, o fibrinogênio, em um polímero insolúvel, a fibrina, por ação de uma enzima chamada trombina (Guyton e Hall, 2017; Bozzini, 2004). Esse processo se inicia logo após o aparecimento de uma solução de continuidade no vaso lesado, com vasoconstrição vascular, diminuindo o fluxo sanguíneo. A fibrina forma uma rede de fibras elásticas que aprisiona a massa de eritrócitos, leucócitos e plaquetas, consolidando o tampão plaquetário e o transformando em tampão hemostático. A hemostasia secundária envolve a cascata da coagulação, sistema fibrinolítico e antifibrinolítico. De forma que as proteínas da coagulação formarão fibrina, que reforçará o tampão plaquetário e, posteriormente, o sistema fibrinolítico irá dissolver o trombo gradualmente, a fim de restaurar o fluxo sanguíneo normal (fibrinólise). As plaquetas são responsáveis pela formação do coágulo primário, cuja estabilidade depende da consolidação das ligações entre as plaquetas pela fibrina. A formação da fibrina é o produto final da ativação em cascata de vários fatores da coagulação (Cotran, 2000; Bozzini, 2004).

### **1.3.2 Cascata de coagulação e seus componentes**

A clássica cascata da coagulação pode ser explicada de maneira simplificada como uma sequência de reações interligadas entre várias proteínas que convertem pró-enzimas (zimogênios) em enzimas (proteases), que são denominados de fatores de coagulação, culminando na geração de trombina, e conseqüente formação de um agregado insolúvel de fibrina a partir de uma proteína solúvel do plasma denominada fibrinogênio (Figura 5). Na síntese desses fatores da coagulação o fígado representa um relevante órgão nessa função (Guyton e Hall, 2017). Esse processo envolve, de forma geral, os fatores de coagulação plasmáticos; íons cálcio e os anticoagulantes fisiológicos (Guyton e Hall, 2017). O processo da coagulação ocorre pelos

elementos combinados da via extrínseca em resposta ao contato do sangue com os tecidos extravasculares, da via intrínseca pelo contato do sangue com uma superfície diferente do endotélio normal e das células sanguíneas e da via final comum (Fator X). Os fatores da coagulação correspondem aos fatores que se modificam durante a coagulação (fatores I, V, VIII e XIII); fatores do grupo da protrombina (fatores II, VII, IX e X) e fatores do grupo de contato (fatores XI e XII) (Carlos e Freitas, 2007; Brummel-Ziedins e Wolberg, 2014). A ativação desses fatores é iniciada a partir da lesão ou ação de mediadores inflamatórios sobre as células endoteliais que desencadeia expressão do fator tecidual (FT), responsável pelo início da cascata da coagulação pela via extrínseca, e ativação concomitante de plaquetas e do plasminogênio tecidual (tPA). Substâncias ativadoras provenientes tanto da lesão tecidual quanto das plaquetas (entre elas a enzima tromboplastina) dão início a uma complexa rede de reações químicas que na presença de íons cálcio culmina na conversão de protrombina em trombina, que por sua vez converte o fibrinogênio em fibrina. A fibrina produz o alicerce de fibras que mantém estável o agregado de plaquetas previamente formado (Brummel-Ziedins e Wolberg, 2014; Guyton e Hall, 2017).

### **Via extrínseca**

O tecido traumatizado, danos nos vasos sanguíneos, o contato do sangue com os tecidos extravasculares, são eventos capazes de promover a exposição do FT na superfície das células subendoteliais expostas ou induzir a expressão desse fator por leucócitos, plaquetas e células endoteliais, respectivamente, dando início a via extrínseca. O FT é uma proteína transmembrana que interage com o fator VII ativando-o ou com a sua forma ativa (fator VIIa), já presente na circulação sanguínea. Sequencialmente o complexo FT/fator VIIa converte enzimaticamente o fator X para sua forma ativa (fator Xa) (Bozzini, 2004; Guyton e Hall, 2017).

### **Via intrínseca**

A via intrínseca inicia-se pelos fatores do sistema de contato (fator XII, pré-caliceína - PC, fator XI e cininogênio de alto peso molecular – CAMP), presentes na circulação sanguínea. As reações enzimáticas ocorrem nas seguintes etapas: 1) fase de contato; 2) a ativação do fator X; 3) a formação de trombina; 4) a formação de fibrina insolúvel. Na fase de contato os fatores de contato PC/CAMP convertem o fator XII em uma enzima proteolítica (fator XIIa). O fator XIIa atua enzimaticamente sobre o fator XI para ativá-lo. O fator XIa, na presença de íons cálcio, atua sobre o fator IX gerando IXa. O fator IXa forma o complexo com o fator VIIIa (ativado pela

trombina), ions cálcio e ativa o fato X e a partir desse ponto do processo compartilha a via comum da coagulação (Bozzini, 2004; Guyton e Hall, 2017).

### Via comum

A via comum se inicia a partir da formação do fator Xa, pela combinação de FT, cálcio, fator VIIa na via extrínseca e cálcio, fator IXa, fator VIIIa na via intrínseca. O fator Xa combina-se com seu cofator Va (ativado pela trombina), na presença de cálcio, para formar o complexo denominado ativador de protrombina, convertendo a protrombina em trombina. A principal ação da trombina é a conversão do fibrinogênio em fibrina, que são interligados pelo fator XIIIa (ativado pela trombina), formando polímeros insolúveis de fibrina (Bozzini, 2004; Guyton e Hall, 2017). A Figura 5 ilustra o resumo da atuação dos fatores envolvidos na cascata da coagulação, conforme modelo proposto em 1964.

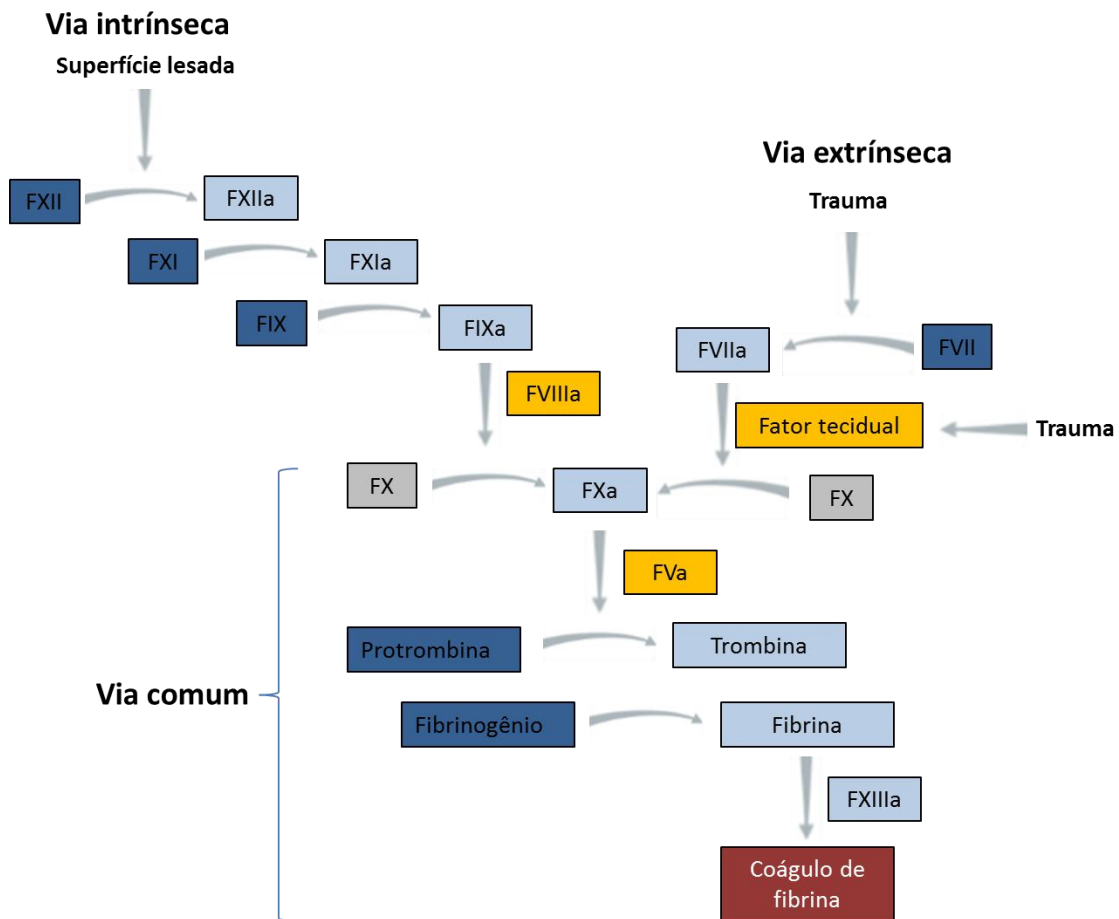


Figura 5. Modelo clássico da cascata de coagulação: reações das vias intrínseca, extrínseca e via comum.

Tão importante quanto à formação do coágulo de fibrina, que bloqueia a perda de sangue e repara a parede vascular lesada, é a remoção do coágulo sanguíneo, para que prossiga a circulação sanguínea normal. Finalizando esse processo ocorre a fibrinólise (última etapa do processo hemostático, após hemostasia primária e coagulação), processo de dissolução do coágulo de fibrina, removendo a fibrina formada em excesso, restabelecendo a fluidez do sangue no interior do vaso restaurado (Bozzini, 2004; Brummel-Ziedins e Wolberg, 2014).

Nesse sentido, no mecanismo da fibrinólise a fibrina é degradada em Produtos de Degradação da Fibrina (PDFs) por ação de uma enzima proteolítica, a plasmina, que circula no plasma na sua forma inativa, o plasminogênio. As células endoteliais secretam o ativador de plasminogênio (plasminogênio tecidual ativado - tPA) que promove a conversão do plasminogênio em plasmina, que lisa a rede de fibrina. A via fibrinolítica pode ser dividida em duas fases: a geração de plasmina, a partir da proenzima inativa plasminogênio, e a ação proteolítica da plasmina sobre a fibrina (Bozzini, 2004; Brummel-Ziedins e Wolberg, 2014).

### **Mecanismos reguladores da coagulação**

O equilíbrio entre mecanismos pró-coagulantes e anticoagulantes é essencial para prevenir distúrbios hemostáticos, como manifestações hemorrágicas ou quadro de trombose (formação excessiva de coágulos), sendo fundamental a regulação da cascata da coagulação e da fibrinólise (Davie *et al.*, 1991; Bozzini, 2004). Em condições fisiológicas, coagulação e fibrinólise encontram-se em equilíbrio, de forma que, a ativação excessiva da fibrinólise levará ao sangramento, enquanto que a inibição da fibrinólise resultará em trombose (Davie *et al.*, 1991). A principal proteína envolvida no início do processo fibrinolítico é o tPA. O processo de regulação da fibrinólise se produz principalmente pelo inibidor do ativador do plasminogênio - 1 (PAI-1), e pela ação da antiplasmina ( $\alpha$ AP) (Cesarman-Maus e Hajjar, 2005). A antiplasmina está presente no plasma em concentração 10 vezes maior do que a plasmina, combina-e com o excesso de plasmina liberada, impedindo o aparecimento de fibrinólise generalizada (Bozzini, 2004).

Os inibidores fisiológicos da coagulação (anticoagulantes endógenos) são essenciais na regulação do processo de coagulação, e incluem Proteína C ativada (APC), Proteína S (PS), Inibidor do TF (“*Tissue Factor Pathway Inhibitor*”-TFPI) e antitrombina (AT) (Ott, 2011; Brummel-Ziedins e Wolberg, 2014).

A APC em combinação com a proteína S degradam os fatores Va e VIIIa, também exerce atividade antiinflamatória e na prevenção da trombose microvascular que pode acontecer após contato com produtos bacterianos como endotoxinas, já descrito na sepse (Levi e Van, 2010).

O TFPI é uma proteína secretada pelas células endoteliais que forma um complexo TF/VIIIa/FXa/TFPI para impedir que a produção de trombina escape do controle (Lwaleed e Bass, 2006).

A antitrombina é a maior inibidora dos fatores de coagulação incluindo trombina, fator IXa, Xa, XIa e XIIa (Olson e Bjork, 1994).

De forma que, os anticoagulantes endógenos como a proteína C, a proteína S, TFPI e a antitrombina III modulam a coagulação, aumentando a fibrinólise e removendo os microtrombos (Brummel-Ziedins e Wolberg, 2014).

### **1.3.3 Coagulação e o processo inflamatório nas doenças infecciosas**

A resposta inflamatória leva à ativação do sistema hemostático que, por sua vez, também influencia consideravelmente a atividade inflamatória. Essa estreita relação entre a inflamação e a hemostasia contribui consideravelmente para a patogênese e / ou progressão de algumas doenças infecciosas, como dengue, ebola, HIV, malária e sepse (Levi e van der Poll 2005, 2010). Estudos mostram que a expressão de trombosmodulina (TM), que é uma glicoproteína responsável pela ativação da proteína C (PC-atividade anticoagulante) em células endoteliais e células monocíticas pode ser alterada na presença de citocinas inflamatórias (Chen *et al.*, 2009). A IL-6 que é uma citocina pró-inflamatória, produzida e secretada por células endoteliais, células musculares lisas, monócitos e macrófagos, envolvida nos efeitos imunes celulares e humorais relacionados à inflamação, defesa do hospedeiro, sendo mediadora central da resposta de fase aguda e é considerada uma citocina pró-coagulante. As citocinas pró-inflamatórias, incluindo o fator de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), IL-6 e interferon gama (IFN  $\gamma$ ) podem estimular o endotélio e células circulantes (como monócitos, macrófagos) a expressarem FT, desenvolvendo um estado de predisposição a distúrbios trombóticos. Assim como podem determinar a produção e a elevação das concentrações plasmáticas de fibrinogênio pelo fígado, sugerindo que níveis elevados de citocinas inflamatórias podem estar relacionados a uma desregulação da cascata da coagulação. Dessa forma, acredita-se que o FT desempenhe papel essencial nas complicações pró-trombóticas observadas nas doenças infecciosas como dengue, sepse, ebola (Francisco *et al.*, 2006; Willerson e Ridker, 2004). Estudos mostram que o FT, que ativa a via extrínseca da cascata da coagulação também pode ser sintetizado pelas células endoteliais induzidas por endotoxinas

bacterianas ou por citocinas, podendo ser pró-trombóticas, aumentando as atividades catalíticas desses fatores da coagulação, afetando as plaquetas, proteínas da coagulação e o sistema fibrinolítico (Cotran, 2000).

As infecções virais frequentemente estão associadas com desordens na cascata da coagulação e, conseqüentemente, todos os aspectos da cascata da coagulação, como a hemostasia primária, coagulação e a fibrinólise podem ser afetados (Goeijenbier *et al.*, 2012). Na dengue, a intensa ativação do sistema imune tem efeito no extravasamento plasmático por disfunção endotelial, destruição e disfunção plaquetária, consumo de fatores da coagulação, exposição do FT na superfície celular, pelas células endoteliais e monócitos ativados, desenvolvendo um estado de predisposição a distúrbios trombóticos (Levi *et al.*, 2004; Kurane, 2007). Esses eventos promovem um desequilíbrio do sistema hemostático, com ativação dos sistemas de coagulação e de fibrinólise, sendo associado ainda a trombocitopenia, aumento da permeabilidade vascular e nas manifestações hemorrágicas (Sosothikul *et al.*, 2007). Essa ativação de ambos os sistemas (coagulação e fibrinólise) desempenha um papel chave na indução das manifestações clínicas graves, podendo chegar à coagulação intravascular disseminada (CID), choque e óbito (Bandyopadhyay *et al.*, 2006; Nascimento *et al.*, 2014). Em estudos realizados em pacientes com dengue foram observados níveis significativamente elevados de aminotransferases (ALT/AST), em particular nos pacientes que apresentavam sangramento, mostrando que o envolvimento hepático é uma das características da infecção, com relato de hepatomegalia e, sugerindo-se que devido à função hepática de síntese dos fatores de coagulação, estes níveis elevados das aminotransferases podem ser em consequência da tentativa de compensação por esse órgão na produção desses fatores (Trung *et al.*, 2010; Fiestas *et al.*, 2011; Solórzano, 2014).

Na infecção pelo vírus ebola foi mostrado, em modelos experimentais com primatas, que a inibição do FT reduz a mortalidade desses primatas que receberam dose letal do vírus ebola, com redução dos processos de coagulação e inflamação (Geisbert *et al.*, 2003). Esse achado reforça a ideia que a cascata da coagulação é um importante componente na patogenia das febres hemorrágicas virais e que a expressão do FT em monócitos de pacientes, apresenta um papel importante na patogênese, na forma grave de doenças como na dengue, ebola, entre outras (Geisbert *et al.*, 2003; De Azeredo *et al.*, 2010).

Na sepse, que é considerada uma síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS), sintomas como trombocitopenia e anormalidades de coagulação sanguínea são relatados frequentemente associados à ativação da coagulação pela expressão aumentada de FT e supressão

dos inibidores naturais da coagulação, como diminuição da ativação da proteína C. A consequência desse desequilíbrio entre elementos pró e anticoagulantes, colabora para um estado pró-trombótico e CID na sepse (Thomas e Augustin, 2009; Levi, 2010).

Na malária, há descrição de casos de pacientes com aparentes distúrbios de hemostasia e plaquetopenia tanto nos pacientes com *Plasmodium vivax*, como com *Plasmodium falciparum* (Guptar *et al.*, 2013). Com ativação da cascata da coagulação e comprometimento da atividade anticoagulante da proteína C ativada (APC - atua como anticoagulante natural na regulação da cascata da coagulação), podendo cursar com plaquetopenia, maior risco para formação de trombos e CID (Mike e Siddhartha, 2003; Levi *et al.*, 2004; Rusell, 2006). De uma forma geral, esses estudos demonstram interação entre o processo inflamatório e o sistema da coagulação na patogênese de múltiplas doenças (Foley e Conway, 2016).

Na doença de Chagas, Cardoso e Brener (1980), demonstraram em estudo experimental que a trombocitopenia depende da cepa, sendo mais grave em animais infectados com a cepa Y atingindo  $1 \times 10^4/\text{mm}^3$  do que na cepa colombiana com  $1 \times 10^5/\text{mm}^3$ , enquanto que os animais controles apresentaram valor mínimo de  $1 \times 10^6/\text{mm}^3$ . Mostrando, ainda que essa diminuição do número de plaquetas é proporcional ao aumento da parasitemia, voltando a apresentar valores normais quando a infecção passa da fase aguda para fase crônica. Marcondes e colaboradores (2000) em infecção aguda experimental por *T. cruzi*, demonstraram alterações no sistema hematopoiético, com diminuição do número de megacarioblastos, resultando em trombocitopenia nos animais infectados sem tratamento, variando de  $6 \times 10^6/\text{ml}$  a  $54 \times 10^6/\text{ml}$  de plaquetas; os animais controles apresentaram níveis de 358 a  $452 \times 10^6/\text{ml}$  e os animais com sete dias de tratamento com Nirfutimox apresentaram níveis de 324 a  $376 \times 10^6/\text{ml}$  de plaquetas, mostrando reversão das alterações plaquetárias com o tratamento (Marcondes *et al.*, 2000).

Em pacientes, as alterações já relatadas em relação às plaquetas, tem variação de acordo com a fase aguda ou crônica da doença de Chagas. Pinto e colaboradores (2008), em estudo com pacientes agudos da Amazônia relataram plaquetopenia em níveis menores que  $150.000/\text{mm}^3$  em 8,2% dos casos. No Ceará, em estudo com DCA envolvendo um surto alimentar com oito pacientes, observaram em 99% dos casos baixa contagem de plaquetas, com níveis abaixo que  $150.000/\text{mm}^3$  e sinais hemorrágicos como “manchas no corpo e urina avermelhada” (Cavalcanti *et al.*, 2009). Noya e colaboradores (2017) relataram em pacientes com DCA por surto alimentar na Venezuela trombocitopenia com níveis menores que  $150.000/\text{mm}^3$ . Nesses estudos foram considerados os valores de referência entre  $150.000$  e  $400.000/\text{mm}^3$  nos hemogramas (Pinto *et al.*,



2008; Cavalcanti *et al.*, 2009; Noya *et al.*, 2017). Em alguns casos por transmissão oral, já foram observados sangramento digestivo e outros tipos de sinais hemorrágicos concomitantes. Pinto e colaboradores (2003) descreveram um surto no Pará envolvendo 12 casos pertencentes a duas famílias vizinhas. Dois pacientes evoluíram para o óbito por comprometimento digestivo, um deles com hemorragia digestiva, logo após o início do tratamento (dois dias), sem presença de parasitas no exame histopatológico realizado na lesão ulcerada do corpo gástrico. Esse relato encontra similaridade com surto de doença de Chagas de transmissão oral, com 24 casos agudos, entre os quais dois apresentaram hemorragia digestiva seguida de óbito, ocorrido em Santa Catarina em fevereiro de 2004 (Pinto *et al.*, 2003, 2008; SVS, 2005).

Silva Filho e colaboradores (2017) em estudo com 89 pacientes crônicos, não observaram trombocitopenia, relatando níveis plaquetários na faixa dos valores de referência (150.000 e 400.000/mm<sup>3</sup>) no sexo feminino variando de 198.508/mm<sup>3</sup> a 331.936/mm<sup>3</sup> e no sexo masculino variando de 184.768/mm<sup>3</sup> a 282.484/mm<sup>3</sup> nos hemogramas. Pinazo e colaboradores (2016), em estudos com pacientes chagásicos crônicos relatam um desequilíbrio entre esses elementos pró e anticoagulantes, mostrando um potencial estado pró-trombótico, independentemente do comprometimento cardiológico e ou digestivo, sendo que os níveis desses elementos da coagulação foram normalizados nos pacientes crônicos que receberam tratamento, podendo ser explicado pela diminuição da parasitemia ou por outro efeito do benzonidazol (Pinazo *et al.*, 2016). Outros estudos de coagulação em pacientes com doença de Chagas crônica demonstram resultados divergentes ao avaliar marcadores pró-trombóticos e atividade inflamatória. De maneira que, Herrera e colaboradores (2011) em estudo com pacientes cardíacos na fase crônica da doença de Chagas e pacientes controles saudáveis, concluíram que os pacientes com cardiopatia chagásica crônica que apresentavam um estado inflamatório (principalmente dano cardiovascular) estava associado ao estado pró-trombótico, enquanto que Melo e colaboradores (2010) não evidenciaram essa correlação em estudo com pacientes com cardiopatia chagásica crônica e pacientes cardíacos não chagásicos (Herrera *et al.*, 2011; Melo *et al.*, 2010). Essa discrepância de resultados pode ser explicada diante do fato que diferentes graus de acometimento cardíaco e/ou digestivo são encontrados nos pacientes crônicos e estão relacionados com o perfil de citonas pró-inflamatórias. E esses processos de inflamação e de coagulação estão estritamente relacionados (Pérez *et al.*, 2011).

#### 1.4 Função hepática na doença de Chagas

As aminotransferases séricas AST (aspartato aminotransferase) e ALT (alanina aminotransferase) são enzimas envolvidas no metabolismo, que pertencem ao grupo das aminotransferases e catalisam a conversão dos aminoácidos que chegam ao fígado, com a remoção do  $\alpha$  – amino através das reações de transaminação, onde o grupo  $\alpha$  – amino é transferido para o átomo de carbono  $\alpha$  do  $\alpha$  – cetoglutarato, produzindo o respectivo  $\alpha$  – cetoácido análogo do aminoácido. Em casos de lesão tissular ou doença afetando o parênquima hepático ocorre a liberação de maior quantidade dessas enzimas para a corrente sanguínea (Lehninger, 2014). A enzima ALT, exclusivamente citoplasmática, é produzida principalmente pelo fígado. A enzima AST, existente tanto na forma mitocondrial quanto citoplasmática, é produzida também por outros órgãos, como coração, músculo esquelético, rins e cérebro, assim como pelas hemácias e leucócitos. Então, lesões nestes órgãos liberam estas enzimas do citoplasma e das mitocôndrias na circulação sanguínea (Tietz, 2008; Lehninger, 2014).

Diferentes variações nos níveis das aminotransferases já foram demonstradas em diversas doenças. Foram observados na dengue, níveis significativamente elevados de aminotransferases (ALT/AST), principalmente na dengue hemorrágica. Estes níveis elevados das aminotransferases podem ser por um mecanismo de compensação desse órgão na produção dos fatores de coagulação (Trung *et al.*, 2010; Fiestas *et al.*, 2011; Solórzano, 2014). O vírus da dengue parece ter alguns efeitos hepatotóxicos. Alterações hepáticas com níveis circulantes elevados de AST variando de 93,3U/L a 174U/L (valores de referência: até 26U/L para homens e até 33U/L para mulheres) e de ALT variando de 86U/L a 88,5U/L (valores de referência: até 31U/L para homens e até 20U/L para mulheres), já foram mostrados em estudos em ambas as formas clínicas (dengue clássico e dengue hemorrágico), sendo o envolvimento hepático geralmente assintomático (Souza *et al.*, 2004; Póvoa *et al.*, 2014; Samanta e Sharma, 2015). Essa relação AST/ALT (níveis circulantes de AST mais elevados em relação a ALT) aumentada mostrado na dengue (Souza *et al.*, 2004; Póvoa *et al.*, 2014; Samanta e Sharma, 2015) é útil para diagnóstico diferencial de hepatite aguda causada pelos vírus da hepatite A, B ou C onde é comumente observado o aumento da relação ALT/AST (Nguyen *et al.*, 1997; Trung *et al.*, 2010). As manifestações hepáticas podem ser resultado de toxicidade viral direta ou devido a resposta imunológica desregulada em resposta ao vírus. Na forma de febre hemorrágica da dengue já foi relatado óbito por insuficiência hepática aguda (Souza *et al.*, 2004; Nguyen *et al.*, 1997; Samanta e Sharma, 2015). Outro fator relevante é que ALT possui meia vida mais curta que AST. Assim, uma

diminuição lenta nos níveis de AST na dengue, poderia ser devido à meia-vida mais prolongada desta enzima ou pode estar refletindo uma recuperação mais lenta do fígado (Seneviratne *et al.*, 2006).

Na malária há relatos de danos hepáticos caracterizados pela liberação de aminotransferases hepáticas no soro. Estudos em pacientes com malária, na análise dos resultados bioquímicos demonstram aumento das enzimas hepáticas AST e ALT, que pode estar ocorrendo em função de dano hepático induzido pelo parasito durante a infecção (Alexandre *et al.*, 2010; Mendonça *et al.*, 2013).

Na infecção experimental do *T. cruzi* por via intraperitoneal em cães, já foi observado o aumento no nível sérico de ALT e AST frente à infecção com a cepa Y, tal como, aumento do nível sérico de ALT na infecção com a cepa Colombiana, ambos na fase inicial da infecção (9dpi), demonstrando que a infecção pode levar a uma lesão inicial no fígado, com aumento nos níveis séricos de ALT e AST, que após o controle do parasitismo não é mais observada (Duz *et al.*, 2014). Em modelo animal por infecção oral com cepa Tulahuén do *T. cruzi* já foi demonstrado parasitismo tecidual com detecção do DNA do parasito, presença de ninhos de amastigotas e infiltrado inflamatório no órgão (Hoft *et al.*, 1996; Barreto-de-Albuquerque *et al.*, 2015).

Na fase aguda da doença de Chagas em pacientes já foi descrito comprometimento hepático com hepatomegalia, lesões de caráter inflamatório, alterações histológicas com degeneração gordurosa, hipertrofia das células de Kupffer, áreas de necrose, infiltração linfomonocitária e congestão do órgão (Pinto *et al.*, 2008; Rezende, 1997; Dias 2002). Pinto e colaboradores (2008) em estudo com pacientes agudos da Amazônia, utilizando como valores normais para aminotransferases de ALT: 5 a 32 U/L e para AST: 8 a 40 U/L, observaram níveis elevados de ALT com valores máximos de 279 U/L em 59,7% dos pacientes e níveis elevados de AST com valores máximos de 292 U/ml em 50% dos pacientes (Pinto *et al.*, 2008). Em estudo com DCA associado à contaminação por surto alimentar, no qual a possível fonte contaminação foi uma sopa a qual tinha sido adicionado coentro e cebolinha liquidificados, provenientes de uma horta domiciliar, foi evidenciado a presença de hepatomegalia dentre os sintomas dos pacientes, com níveis de aminotransferases elevados de ALT de até 336 U/L e de AST de até 760 U/L, considerando os valores normais para aminotransferases de ALT: até 30 U/L e para AST: até 38 U/L (Cavalcanti *et al.*, 2009). A determinação da concentração dessas aminotransferases de interesse clínico no plasma dos pacientes com doença de Chagas em fase aguda pode fornecer

informações importantes a respeito do comprometimento hepático, assim como do comprometimento muscular (cardíaco) (Tietz, 2008; Lehninger, 2014).

### **1.5 Racional e Justificativa**

A doença de Chagas é uma doença tropical negligenciada e um problema de saúde pública em vários países da América Latina, sendo a Amazônia brasileira considerada endêmica para doença. A transmissão oral do *T. cruzi* por alimentos contaminados se tornou mais frequente causando surtos de doença de Chagas aguda (DCA) em vários estados como Amazonas, Amapá, Bahia, Ceará, Pará, Rio Grande do Sul e Santa Catarina (Marcili *et al.*, 2009; Garcia *et al.*, 2006; Benchimol *et al.*, 2006; Pinto *et al.*, 2001; Dias *et al.*, 2008; Nobrega *et al.*, 2009).

Nos últimos anos, no Estado do Pará, tem se observado aumento de casos de DCA, com registro de óbitos pela doença. O SINAN tem um papel primordial nas atividades de prevenção e controle da doença nos níveis municipal, estadual e nacional. Nesse sentido, o levantamento da ocorrência do número de casos da doença de Chagas aguda pelo SINAN no Estado do Pará pode demonstrar o perfil epidemiológico ao longo dos anos, como: a incidência por ano, a forma de transmissão e evolução dos casos, assim como identificar tendências e áreas da população a serem priorizados nas atividades de prevenção.

Os mecanismos patogênicos na DCA da transmissão por via oral não estão completamente esclarecidos. Os estudos já publicados com pacientes abordam principalmente a fase crônica da doença de Chagas. Temos poucos estudos avaliando o dano hepático em pacientes, com dosagens de aminotransferases em DCA por transmissão oral e não fazem correlação com a produção dos fatores de coagulação pelo fígado. Em relação aos fatores de coagulação, há poucos estudos com pacientes, somente na fase crônica da doença de Chagas. Portanto, queremos esclarecer fatores envolvidos na evolução da doença, contribuir para uma melhor compreensão das manifestações clínicas associadas ao comprometimento hepático e as manifestações hemorrágicas, avaliando componentes do processo hemostático (Fatores da coagulação) e o dano hepático (aminotransferases), em pacientes agudos infectados por via oral pelo *T. cruzi*.

## **2. Objetivos**

### **2.1 Geral**

Analisar a doença de Chagas Aguda no Estado do Pará.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Descrever a série histórica da DCA no Estado do Pará a partir do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) de 2000 a 2016.
- Sistematizar os dados epidemiológicos (gênero, faixa etária, forma de transmissão e sintomas clínicos) de pacientes com DCA referenciados ao Hospital Universitário João de Barros Barreto, na cidade de Belém, no período de outubro de 2013 a fevereiro de 2016.
- Correlacionar o acometimento hepático com a quantificação sérica das aminotransferases em pacientes referenciados ao HUIBB, comparados a controles saudáveis.
- Avaliar a expressão dos fatores de coagulação (V, VII, VIII e APC) na DCA em pacientes referenciados ao HUIBB, comparados a controles saudáveis.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 Delineamento do Estudo

Os desenhos de estudo realizados foram: primeiro - corresponde ao levantamento epidemiológico pelo SINAN Estadual; segundo - corresponde ao estudo caso-controle. A base de coleta que norteou o estudo foi realizada nos registros do SINAN Estadual por meio de uma análise histórica dos registros dos casos notificados e confirmados de doença de Chagas aguda (DCA), no período de 2000 a 2016. Para análise dos registros do SINAN foram seguidas as seguintes definições dos casos de doença de Chagas aguda (Brasil 2017):

- **Caso suspeito de doença de Chagas aguda (Notificado):** Pessoa com febre persistente (por mais de 7 dias) com uma ou mais das seguintes manifestações clínicas: edema de face ou de membros, exantema, adenomegalia, hepatomegalia, esplenomegalia, cardiopatia aguda (taquicardia, sinais de insuficiência cardíaca), manifestações hemorrágicas, icterícia, sinal de Romaña, chagoma de inoculação, e/ou que: tenha tido contato direto com triatomíneo e/ou suas excretas; e/ou tenha recebido sangue/hemocomponentes ou transplante de células/tecidos/órgãos contaminados por *T. cruzi*; e/ou tenha ingerido alimento suspeito contaminado por *T. cruzi*; e/ou seja recém-nascido, de mãe infectada.

- **Caso confirmado de doença de Chagas aguda:**

**Parasitológico** - *T. cruzi* circulante no sangue periférico identificado por meio de exame parasitológico direto.

**Sorológico** - Caso suspeito com sorologia reagente com anticorpos da classe IgM anti-*T. cruzi* por imunofluorescência indireta (IFI); ou sorologia reagente com anticorpos da classe IgG anti-*T. cruzi* por IFI, com alteração na concentração de IgG de pelo menos 2 títulos em um intervalo mínimo de 21x dias em amostras preferencialmente pareadas; ou soroconversão por qualquer um dos métodos: método imunoenzimático (ELISA), hemaglutinação indireta (HAI) ou imunofluorescência indireta (IFI).

- **Caso descartado:** Caso suspeito, com resultado dos exames laboratoriais negativos ou não reagentes (parasitológico e sorologia), e/ou que tiver outra doença com diagnóstico.

- **Surto epidêmico:** Acometimento simultâneo de infecção chagásica aguda em dois ou mais indivíduos com relação familiar ou restrita a um espaço delimitado: colégio, quartel, creches, grupos reunidos em uma festa, um quarteirão, um bairro.

No período de outubro/2013 a fevereiro/2016, foi realizado em paralelo um estudo transversal caso-controle (segundo desenho de estudo) com pacientes atendidos no Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB – Hospital de referência para doenças infecto-parasitárias), sendo os casos aqueles com diagnóstico confirmatório de doença de Chagas pelo método parasitológico direto (gota espessa ou creme leucocitário), com avaliação clínico-epidemiológica (Anexo 3) e que assinaram o termo de consentimento pós-informado.

Gota espessa é a pesquisa direta na amostra biológica, com fixação e coloração. O sangue é coletado entre a lâmina e a lamínula e examinado com aumento de 400x no microscópio ótico. Os parasitas são visualizados pelos movimentos rápidos entre as hemácias (Luqueti e Rassi, 2000).

Creme leucocitário é um método utilizado na rotina de confirmação de casos agudos, que permite a investigação direta do parasita na amostra concentrada por centrifugação. O protocolo estabelecido consiste na coleta de 10 ml de sangue em tubos com anticoagulante e centrifugado a 1500 rpm por 10 minutos. Após a centrifugação retira-se com auxílio de uma pipeta, a camada superior de plasma, mantendo no tubo a interface fina que contém os glóbulos brancos e a camada de células vermelhas inferior. Com o auxílio de outra pipeta coleta-se a camada mais clara de glóbulos brancos (creme leucocitário ou buffy coat). Este creme pode ser examinado entre a lâmina e a lamínula em aumento de 400 vezes ou pode ser confeccionado esfregaços. Neste caso após a fixação, cora-se pelo GIEMSA durante 25 minutos, lava-se a lâmina e após secagem deve ser examinada em microscópio ótico com aumento de 400x e 1000x (com imersão).

### **3.2 Protocolo de estudo**

O estudo teve aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), segundo CAAE: 19248813.5.0000.5262. As variáveis demográficas e quantitativas de interesse avaliadas pelo SINAN/Estadual - Secretaria de Estado da Saúde do Pará (SESPA) na Ficha de investigação individual do SINAN (Anexo 2) e na ficha clínico- epidemiológica utilizadas no HUIBB (Anexo 3) em comum foram: sexo, idade, residência do caso (urbano e rural), vias de transmissão, manifestações clínicas, mês de adoecimento. Particularmente na ficha do SINAN registrou-se

também a presença de triatomíneos intradomiciliar e a evolução do caso. Exclusivamente nas fichas clínico-epidemiológicas preenchidas no atendimento de pacientes no HUIBB registraram-se as seguintes variáveis: provável tempo de infecção, tempo de tratamento (caso já estivesse sob o mesmo), vínculo a alimento suspeito contaminado e com outras pessoas doentes, tipo de moradia, hábito alimentar e avaliação cardíaca (dados coletados através dos exames cardíacos).

### **3.3 Recrutamento do grupo dos pacientes e controles apenas para o segundo desenho de estudo**

#### **3.3.1 Critérios de inclusão dos pacientes**

Foram incluídos no estudo, pacientes atendidos no Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB) com diagnóstico de doença de Chagas aguda, com idade igual ou maior de 18 anos e assinaram, após explicação, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE - Anexo 4), aceitando participar do estudo. Os pacientes incluídos se enquadraram nos critérios de classificação de fase aguda por infecção oral estabelecido pelo consenso brasileiro de doença de Chagas (Dias *et al.*, 2016):

- **Caso suspeito de doença de Chagas aguda**

- Manifestações clínicas: febre (superior a sete dias), Edema de face ou de membros, sem sinal de Romaña ou chagoma de inoculação.
- Relato de ingestão de alimento suspeito de contaminação pelo *T. cruzi*.

- **Caso confirmado de doença de Chagas aguda**

- Exame parasitológico positivo por gota espessa ou creme leucocitário;
- Sorologia positiva com anticorpos IgM anti-*T. cruzi* por IFI; ou sorologia reagente com anticorpos da classe IgG anti-*T. cruzi* por IFI (pelo menos 2 títulos em um intervalo mínimo de 21 dias em amostras preferencialmente pareadas; ou soroconversão por qualquer um dos métodos (ELISA, HAI ou IFI).

- **Evidências de transmissão oral**

- Exclusão de outras vias de transmissão.
- Evidência epidemiológica de um alimento como fonte de transmissão.



- Ocorrência simultânea de mais de um caso com vinculação epidemiológica (procedência, hábitos, elementos culturais).

### **3.3.2 Grupo controle**

Indivíduos saudáveis, com idade, sexo e região semelhantes aos pacientes com diagnóstico negativo para doença de Chagas. Essas amostras foram obtidas mediante colaboração com a Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará – HEMOPA, após assinatura do termo de consentimento pós-informado.

### **3.4 Critérios de exclusão dos pacientes**

Foram excluídos do ensaio os pacientes que apresentaram evidências de cardiopatia não chagásica, como: cardiopatia reumática, isquêmica, congênita e hipertensiva e aqueles que não concordaram em participar do estudo. Além disso, foram excluídas gestantes e indivíduos com doença gastrointestinal e outras co-morbidades como HIV, alergias e doenças hematológicas.

### **3.5 Processo de coleta e armazenamento de amostras biológicas**

Uma amostra de sangue (20 mL) foi coletada uma única vez de cada paciente, preferencialmente da veia antecubital, em tubo a vácuo (VacuTainer® de 20 ml), com anticoagulante EDTA, rotulado adequadamente (com nome, número de prontuário, data de coleta) para dosagens bioquímicas das enzimas hepáticas: aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT); e fatores de coagulação (V, VII, VIII e APC). Logo após a coleta, o material foi centrifugado para o isolamento do plasma. Uma vez isolado, o material foi devidamente aliquotado e congelado em gelo seco e em seguida as amostras foram armazenadas em freezer -70°C, localizado no Laboratório Central (LACEN), para posterior análise. As amostras do grupo controle foram colhidas no Hemopa seguindo o mesmo protocolo.

Participaram desse estudo para avaliação laboratorial, um total de 182 indivíduos. 102 com diagnóstico de DCA com evidência de transmissão oral e 80 indivíduos controles não infectados (sorologia negativa para doença de Chagas). Os pacientes foram pareados com os indivíduos controle, tendo como critérios de pareamento: faixa etária e gênero, ficando um total de 50 pacientes e 50 controles para a quantificação das aminotransferases e dos fatores de coagulação.

### **3.6 Quantificação dos fatores de coagulação por ELISA**

As dosagens dos fatores de coagulação (V, VII, VIII e APC) foram realizadas pelo kit de ELISA do laboratório Elabscience<sup>®</sup>, método do tipo sanduíche. Este é um teste imunoenzimático com anticorpos específicos para cada fator.

Na preparação procedeu-se a diluição do anticorpo de captura em PBS (salina tamponada com fosfato) sem proteína transportadora, pipetando-se 100 µL em cada poço, cobrindo a placa e incubando durante a noite a temperatura ambiente. Posteriormente, após aspirar cada poço e lavar com tampão de lavagem, repetindo o processo duas vezes para um total de três lavagens, lavou-se cada poço com 400 µL usando uma multicanal. A placa foi bloqueada adicionando-se 300 µL de diluente em cada poço e incubando as placas por uma hora a temperatura ambiente. Repetiu-se a lavagem e as placas ficaram prontas para a adição da amostra. No início do ensaio adicionou-se 100 µL das amostras (plasma) descongeladas e de padrões diluídos no diluente reagente em cada poço. A placa foi incubada 2 horas à temperatura ambiente. Repetiu-se a lavagem e posteriormente adicionou-se 100 µL da solução de estreptavidina-HRP em cada poço e a placa foi incubada durante 20 minutos a temperatura ambiente. Repetiu-se a lavagem e adicionou-se 100 µL de solução de substrato a cada poço e incubou-se durante 20 minutos à temperatura ambiente. Logo depois adicionou-se 50 µL de solução STOP (ácido sulfúrico) a cada poço. A reação enzimática é parada ao adicionar ácido sulfúrico e a reação passa a apresentar uma dada coloração. A intensidade da cor da reação é lida em espectrofotômetro usando filtro de 450nm. Em todos os testes foram incluídas amostras de plasma positivo e controles negativo para doença de Chagas.

### **3.7 Análises de marcadores da função hepática: aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) por REFLOTRON**

Como parâmetro para avaliação do comprometimento hepático pela doença de Chagas em fase aguda foi realizado a dosagem dos níveis das aminotransferases séricas AST (aspartato aminotransferase) e ALT (alanina aminotransferase) nas amostras de plasma, utilizando pipeta automática de 30µl e tiras reagentes do sistema de fotometria de reflectância *in vitro* do aparelho de diagnóstico Reflotron<sup>®</sup> Plus (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim-Baden- -Württemberg), que realiza uma reação bioquímica da oxidação de um indicador colorimétrico, com a

determinação quantitativa da atividade enzimática das aminotransferases medida a 567 nm em U/L.

### **3.8 Análise Estatística**

Para análise dos dados e comparações utilizamos métodos paramétricos e não paramétricos. Avaliamos as variáveis de categoria pelo método do qui-quadrado e probabilidade exata de Fisher. Para determinação das análises quantitativas, com comparação entre os grupos de pacientes e os controles, foram utilizados o teste One Way ANOVA, com teste de Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn. Como teste de normalidade foi aplicado para verificar valores discrepantes (outliers) o teste Shapiro-Wilk.

Nas análises dos fatores de coagulação foi realizada a análise de resíduos e posteriormente a transformação Box-Cox no programa *R* para linearização das amostras.

A análise de dados do SINAN foi realizada utilizando-se os seguintes programas: Bioestat, GraphPad Prism 5 e Microsoft Excel 2003®.

Os valores foram considerados significativos quando  $p < 0,05$  em todos os testes.

### **3.9 Limitações do Estudo**

No primeiro desenho de estudo, correspondente ao levantamento epidemiológico pelo SINAN Estadual não foi possível obter as informações desde 1996 a 1999 por dificuldades de recuperação desses arquivos. Também apresentou algumas limitações na avaliação de algumas variáveis essenciais como, por exemplo, tipo (específico e sintomático) e tempo de tratamento, realização e resultado de ECG, na qual não foram devidamente preenchidas.

Para o segundo desenho de estudo correspondente ao estudo caso-controle apresentou limitações como, dificuldade em estabelecer a coleta na fase inicial da doença; dificuldade de acesso aos hemogramas e coagulograma para análise da contagem de plaquetas, tempo de sangramento, tempo de coagulação, tempo de ativação de protrombina e o tempo de ativação parcial da tromboplastina; ficha clínico-epidemiológica sem avaliação de manifestações hemorrágicas e consumo de álcool.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Caracterização da análise histórica do SINAN

Na análise histórica do SINAN, o Estado do Pará entre os anos de 2000 e 2016, notificou um total de 16.807 (casos suspeitos) em 130 dos 144 municípios paraenses e confirmou (diagnóstico laboratorial) 2.030 casos de doença de Chaga aguda em 81 destes municípios, com uma média anual de 135 casos (desvio padrão: 99,8, mediana: 114 casos) [IC95%: 80,0-190,6]. O ano com menos casos confirmados foi em 2005 com cinco casos (0,2% do total) ao passo em que 2016 registrou-se o maior número de casos confirmados (327 casos; 16,1% do total). Calculamos o percentual de casos notificados (suspeito da DCA) e confirmados (diagnóstico positivo da infecção pelo *T. cruzi*) por município. O percentual dos casos confirmados em relação aos notificados foi de 12,1% (Tabela 2). O município de Abaetetuba apresentou o maior número de casos notificados (4.205; 25,0% das notificações),

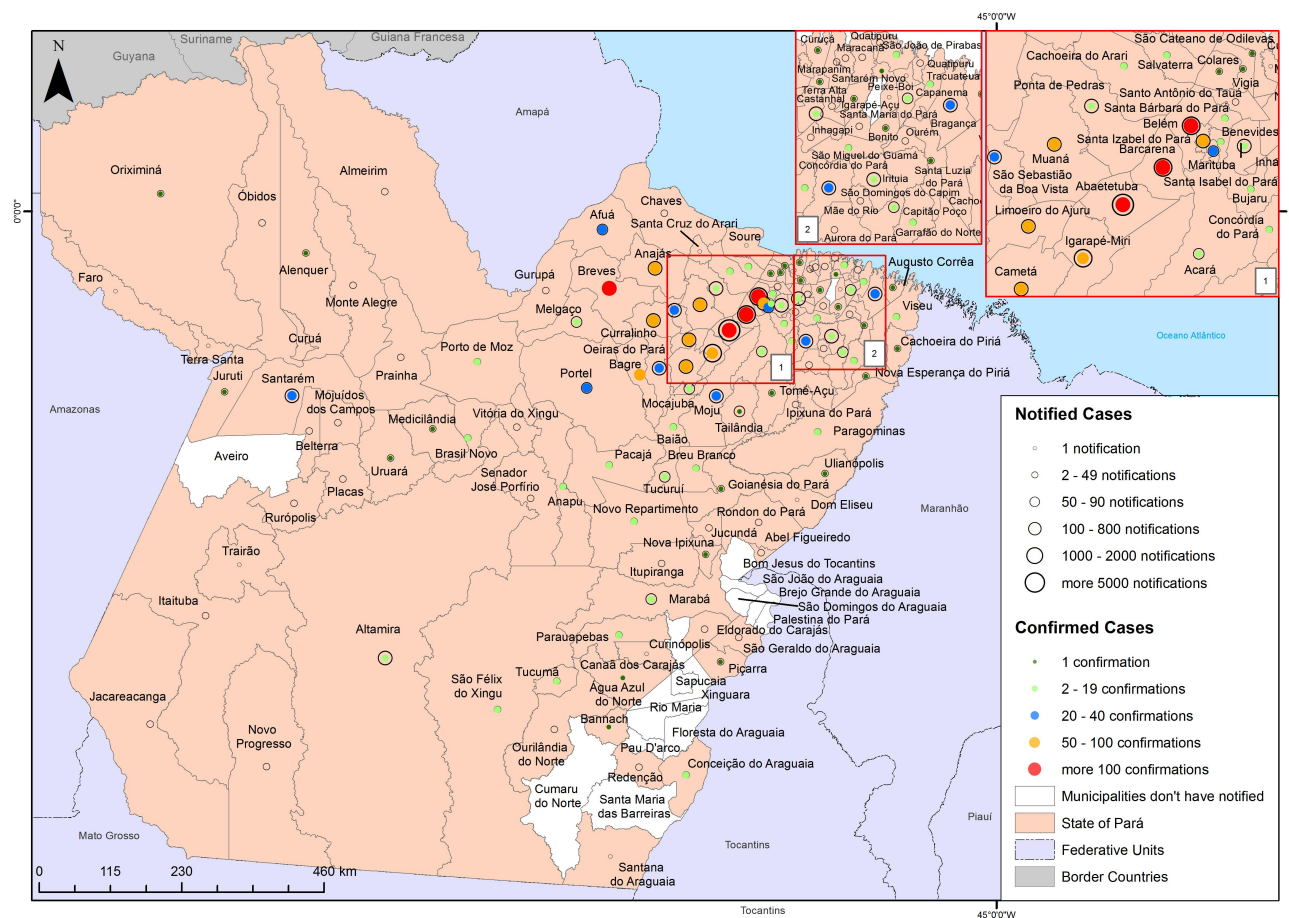
seguido por Belém (1.713; 10,2%) e Barcarena (1.611; 9,6%) (Tabela 2). No entanto, a análise dos casos confirmados em relação aos notificados por município, mostra que Barcarena e Abaetetuba apresentam baixo percentual de confirmação (8,8% e 7,4%, respectivamente), enquanto que Bagre, Anajás e Portel apresentaram maior percentual (83,7%, 54,9% e 44,9%, respectivamente). A análise estatística de correlação linear de Pearson, considerando níveis de significância de 95% ( $p < 0,05$ ), utilizando-se o software Bioestat versão 5, mostrou que houve um aumento significativo do número de casos suspeitos notificados ( $p < 0,0001$ ) e confirmados ( $p = 0,0001$ ) ao longo do período estudado. Entretanto, o percentual de casos confirmados em relação aos notificados caiu significativamente nesse mesmo período ( $p = 0,012$ ).

**Tabela 2 – Casos autóctones notificados e confirmados de Doença de Chagas Aguda do Estado do Pará (2000 – 2016).**

<b>Municípios</b>	<b>Notificados</b>	<b>%</b>	<b>Confirmados</b>	<b>%</b>	<b>% C/N*</b>
Abaetetuba	4205	25,0	311	15,3	7,4
Belém	1713	10,2	341	16,8	19,9
Barcarena	1611	9,6	142	7,0	8,8
Igarapé-Miri	1596	9,5	99	4,9	6,2
Cametá	930	5,5	77	3,8	8,3
Moju	731	4,3	35	1,7	4,8
Ponta de Pedras	607	3,6	18	0,9	3,0
Muaná	545	3,2	50	2,5	9,2
Breves	504	3,0	212	10,4	42,1
Ananindeua	400	2,4	85	4,2	21,3
Santarém	330	2,0	33	1,6	10,0
Santa Isabel do Pará	262	1,6	6	0,3	2,3
São Sebastião da Boa Vista	247	1,5	40	2,0	16,2
Limoeiro do Ajuru	226	1,3	41	2,0	18,1
Castanhal	219	1,3	17	0,8	7,8
São Domingos do Capim	203	1,2	21	1,0	10,3
Currálinho	166	1,0	55	2,7	33,1
Irituia	153	0,9	11	0,5	7,2
Oeiras do Pará	138	0,8	28	1,4	20,3
Altamira	108	0,6	5	0,2	4,6
Bragança	105	0,6	30	1,5	28,6
Anajás	102	0,6	56	2,8	54,9
Afuá	89	0,5	26	1,3	29,2
Acará	88	0,5	17	0,8	19,3
Melgaço	82	0,5	18	0,9	22,0
Tucuruí	80	0,5	12	0,6	15,0
Marituba	71	0,4	20	1,0	28,2
Tailândia	70	0,4	1	0,0	1,4
Portel	69	0,4	31	1,5	44,9
Mocajuba	64	0,4	4	0,2	6,3
Capitão Poço	50	0,3	2	0,1	4,0
Bagre	43	0,3	36	1,8	83,7
Demais municípios	1000	5,9	150	7,4	15,0
<b>Total</b>	<b>16807</b>	<b>100</b>	<b>2030</b>	<b>100,0</b>	<b>12,1</b>

\* C/N = % dos casos confirmados em relação aos notificados. Fonte: SINAN Estadual.

No mapa (Figura 6), observamos uma maior concentração dos casos agudos de DCA, na região metropolitana de Belém, Marajó e Nordeste do Estado, o que pode estar relacionado à produção e consumo de frutos de palmeira, especialmente açaí pela população local.



**Figura 6 - Distribuição de casos agudos de doença de Chagas aguda no estado do Pará. SINAN Estadual 2000- 2016.**

#### 4.1.1 Distribuição dos casos por mês de adoecimento nos registros do SINAN

A distribuição mensal dos casos estudados de DCA no período entre 2000 a 2016 mostra que o maior número de registros de notificações e confirmações ocorreu entre agosto e dezembro, De acordo com a Figura 7 anualmente espera-se um aumento de casos a partir do mês de julho com um pico no mês de setembro.

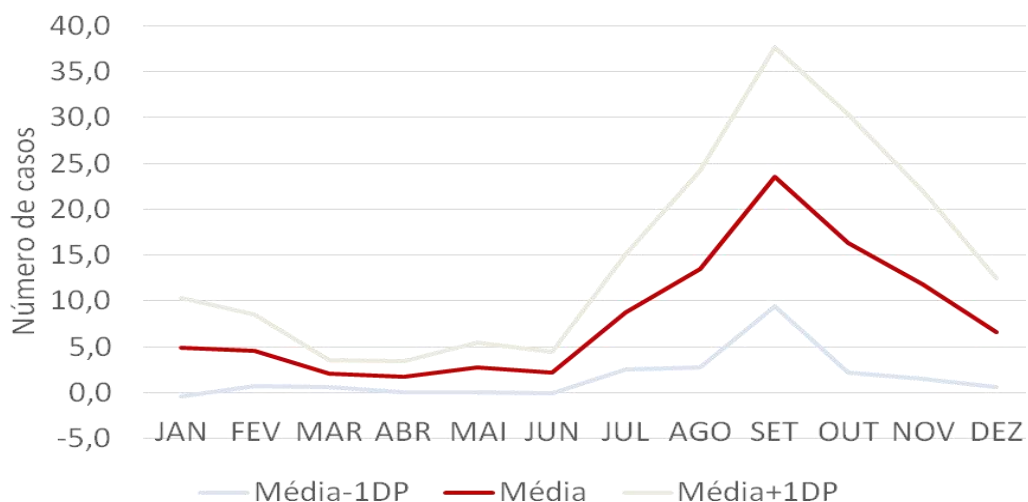


Figura 7- Distribuição mensal dos casos confirmados de doença de Chagas aguda, no Estado do Pará, 2000 – 2016. DP: desvio padrão. Fonte: SINAN Estadual

#### 4.1.2 Distribuição por gênero e idade dos casos do SINAN

No período do estudo, cerca de 55% dos casos confirmados no SINAN foram homens e 45% mulheres (Figura 8). A faixa etária mais acometida corresponde aos adultos com idade entre 18 a 59 anos, que representaram 69% (38% do sexo masculino e 31% do sexo feminino, respectivamente). Na faixa etária de 0 a 17 anos, tivemos 19% (10% do sexo masculino e 9% do sexo feminino, respectivamente) e a partir de 60 anos, tivemos um total de 12% (6% do sexo masculino e 6% do sexo feminino, respectivamente) (Figura 8). Nos registros do SINAN específicos da transmissão por via oral o sexo masculino também demonstra ser mais atingido na mesma faixa etária, porém na faixa etária de 12 a 17 anos e acima de 60 anos o sexo feminino é mais acometido.

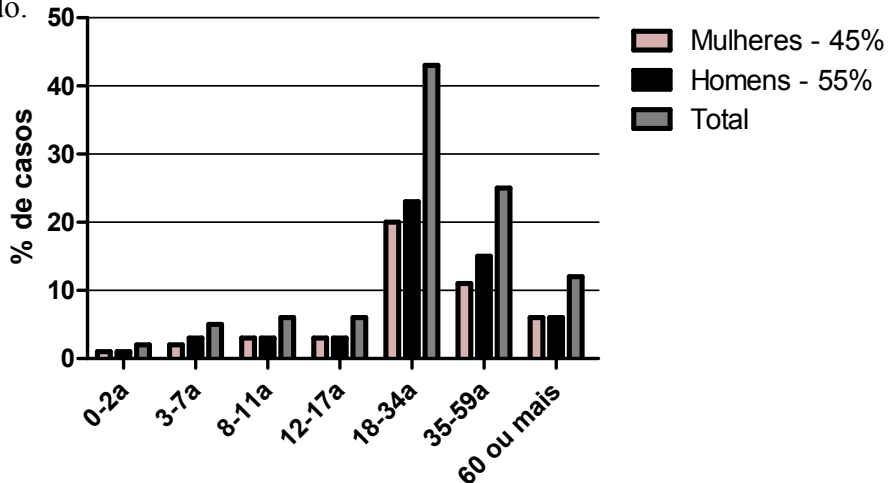


Figura 8 - Distribuição por gênero e faixa etária de indivíduos com doença de Chagas aguda. Pará, 2000-2016. Fonte: SINAN Estadual.

### 4.1.3 Procedência dos casos do SINAN

Quanto à localização da residência, foi verificado que o maior número de casos é proveniente da zona urbana totalizando no período estudado (2000/2016) 1020 casos, enquanto na zona rural foram registrados 880 casos (Figura 9), apesar da análise de regressão revelar um crescimento significativo tanto na zona rural como na urbana (Figura 10). Nas áreas periurbanas e nas respostas ignorado/branco ocorreram 11 e 119 casos respectivamente (Figura 11).

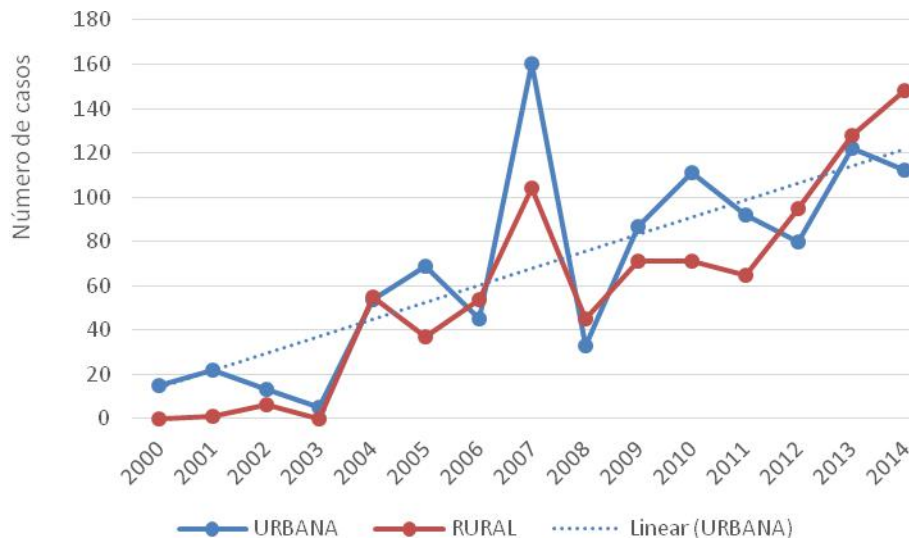


Figura 9- Distribuição dos casos confirmados de doença de Chagas aguda na área urbana e rural. Pará, 2000-2016. Fonte: SINAN Estadual.

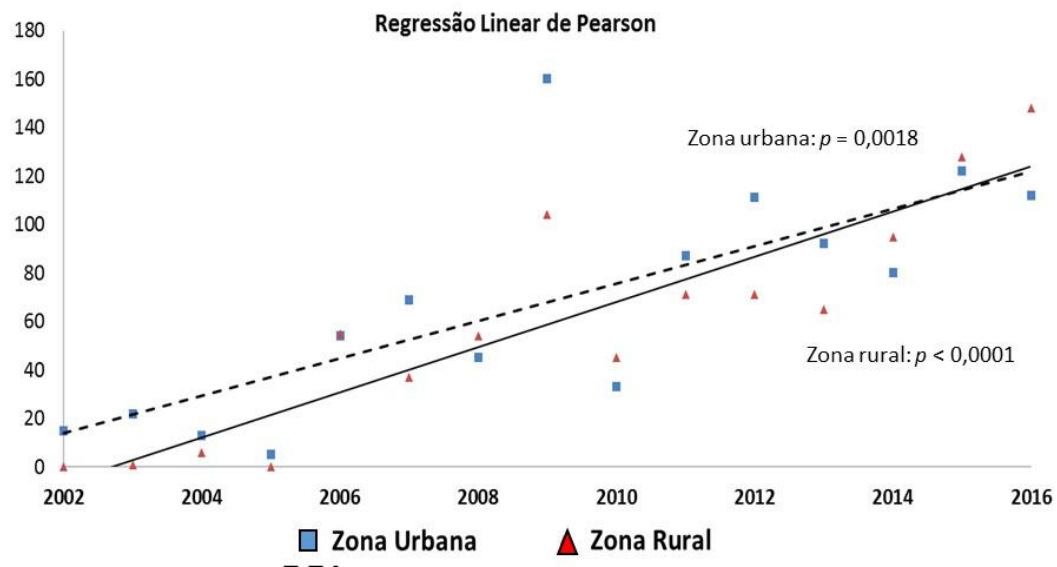


Figura 10- Análise de correlação linear de Pearson da evolução dos casos de doença de Chagas aguda confirmados nas áreas urbana e rural. Pará, 2000-2016. Fonte: SINAN Estadual.



#### 4.1.4 Presença do vetor intradomiciliar nos registros do SINAN

Observamos que não há uma correlação entre a incidência da DCA e a presença do vetor intradomiciliar durante o período estudado. O maior percentual de casos é sem a presença de vestígios de triatomíneos como podemos observar na figura 12, mostrando que não detectaram triatomíneos domiciliados, mas apenas a presença eventual em domicílios e no peridomicílio, em áreas rurais e ribeirinhas.

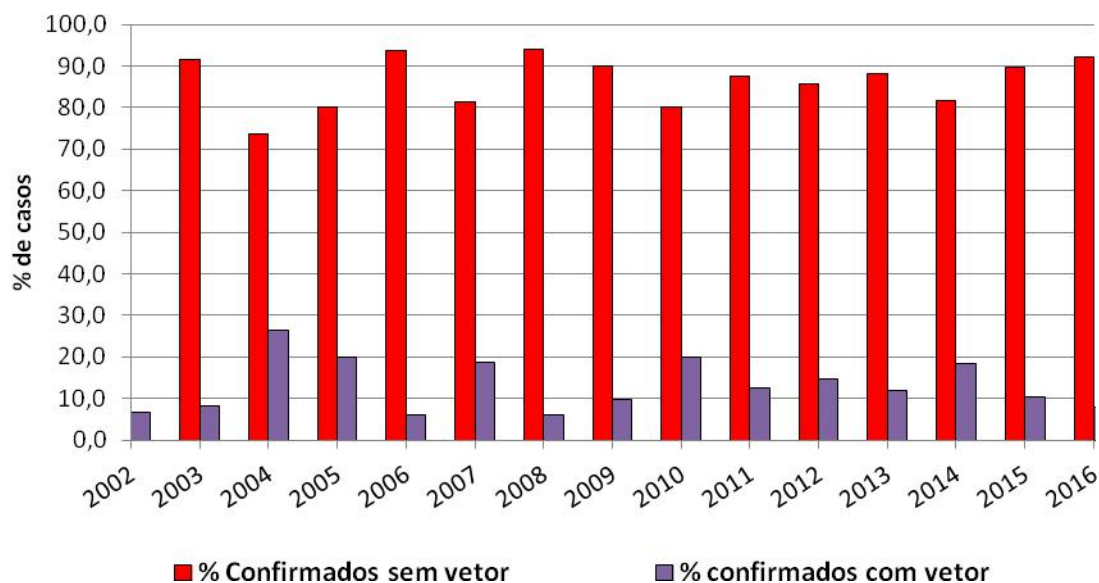
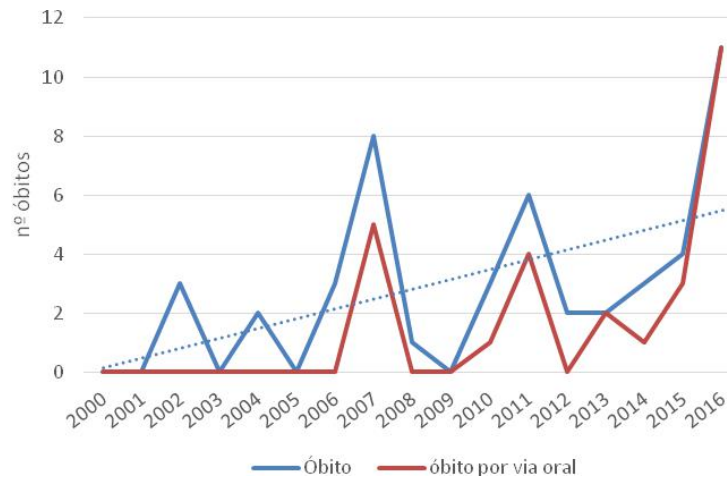


Figura 11- Frequencia de vestígios de triatomídeos intradomicílio nos casos confirmados com doença de Chagas aguda. Pará, 2000 a 2016. Fonte: SINAN Estadual.

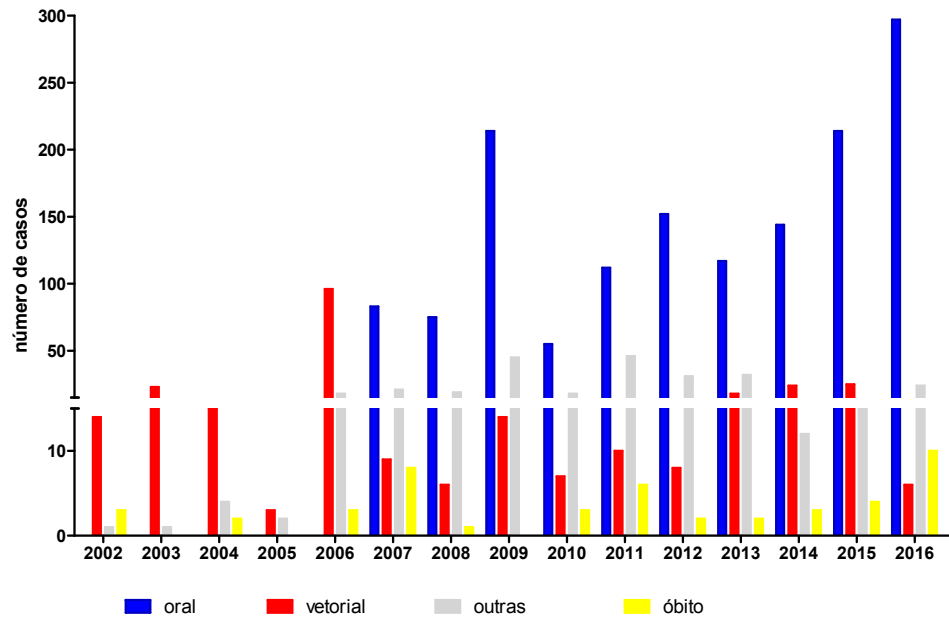
#### 4.1.5 Forma de transmissão e evolução dos casos do SINAN

Em relação à evolução dos casos, nesse período foram registrados 48 óbitos do total de doentes (2.030), com taxa de letalidade (total de óbitos pelo total de casos confirmados com DCA) de 2,4%, com picos nos anos de 2007, 2011 e 2016. Desses óbitos 56% (27) foram atribuídos à infecção por via oral, 19% (9) à infecção vetorial e 25% (12) à via ignorada (Figura 13).

Observamos que a forma de transmissão mais prevalente no estudo foi decorrente de transmissão oral, perfazendo 74,3% dos casos, os 25,7% restante se distribuem nas vias vetorial (13,7%), ignorada (11,2%), transplacentária (0,2%), acidental (0,2%) e outras (0,4%) (Figura 14).



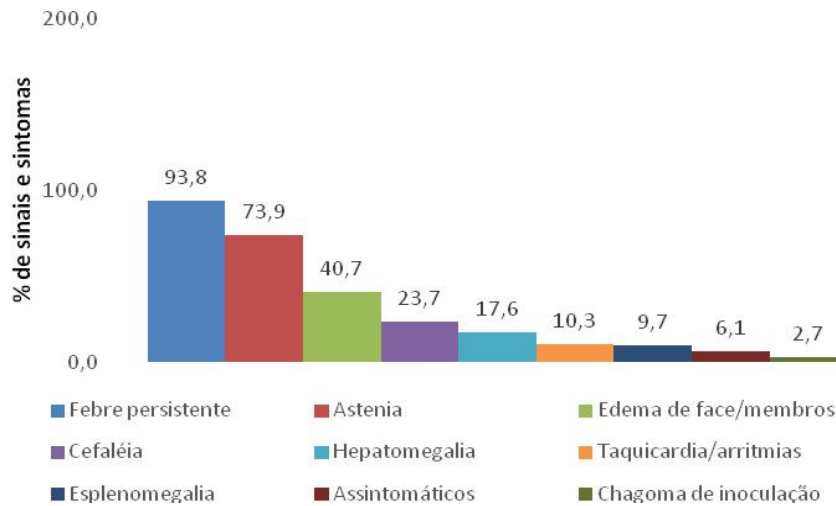
**Figura 12-Distribuição dos óbitos em geral e óbitos por transmissão oral, da doença de Chagas aguda no Estado do Pará de 2000 a 2016. Fonte: SINAN Estadual.**



**Figura 13-Distribuição dos casos de doença de Chagas aguda segundo o modo provável de fonte de infecção e número de óbitos no Estado do Pará de 2000 a 2016. Fonte: SINAN Estadual.**

#### 4.1.6 Sinais e sintomas nos registro do SINAN

Os principais sinais e sintomas observados foram: febre (93,8%), astenia (73,9%), edema de face/membros (40,7%), cefaléia (23,7%), hepatomegalia (17,6%), taquicardia/arritmia (10,3%), esplenomegalia (9,7%), assintomáticos (6,1%) e chagoma de inoculação (2,7%) (Figura 15).



**Figura 14- Distribuição de freqüência de sinais e sintomas apresentados por indivíduos confirmados com DCA no Estado do Pará de 2000 a 2016. Fonte: SINAN Estadual.**

#### **4.2 Caracterização clínico-epidemiológica dos pacientes referenciados, atendidos no Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB), no período de 2013 (outubro/2013) a 2016 (fevereiro/2016) na análise histórica.**

Entre outubro de 2013 a fevereiro de 2016, 102 pacientes com diagnóstico positivo (gota espessa e/ou creme leucocitário) para doença de Chagas aguda foram incluídos neste estudo com suspeita de infecção por via oral. Desses 102 pacientes, que ocorreram no período estudado no Estado do Pará, Abaetetuba foi o município de maior número de casos 26,5% (n=27), seguido de Belém 15,7% (n=16) e Cametá 15,7% (n=16). O sexo masculino foi o mais acometido nesse período, com 55% (n=56) dos casos e 45% (n=46) mulheres, oriundos dos dezenove municípios do Estado do Pará (Tabela 3).

**Tabela 3 – Distribuição dos casos de doenças de Chagas aguda por município no Estado do Pará dos pacientes referenciados, atendidos no HUIBB, no período de 2013 (outubro/2013) a 2016 (fevereiro/2016).**

<b>Município</b>	<b>Total</b>	<b>(%)</b>	<b>Homens</b>	<b>Mulheres</b>
Abaetetuba	27	26,5	15	12
Belém	16	15,7	7	9
Cametá	16	15,7	10	6
Igarapé-miri	12	11,8	7	5
Breves	6	5,9	5	1
Currálinho	6	5,9	3	3
Anajás	3	2,9	1	2
Ananindeua	2	2,0	1	1
Barcarena	2	2,0	1	1
Bragança	2	2,0	1	1
Muaná	2	2,0	1	1
Altamira	1	1,0	1	0
Augusto Correa	1	1,0	1	0
Cachoeira do Arari	1	1,0	1	0
Castanhal	1	1,0	1	0
Limoeiro do Ajuru	1	1,0	0	1
Oeiras do Pará	1	1,0	0	1
Ponta de Pedra	1	1,0	0	1
São João de Pirabas	1	1,0	0	1
<b>Total</b>	<b>102</b>	<b>100</b>	<b>56 (55%)</b>	<b>46(45%)</b>

A faixa etária dos pacientes variou entre 18 a 77 anos, com maior proporção de casos entre 31 e 50 anos (39,2%). Quanto ao perfil de moradia, os pacientes foram procedentes predominantemente da área rural com 57% e as condições de moradia foram de casas construídas de madeira e telha. Na área urbana (43%) o predomínio do tipo de moradia foi de alvenaria (Tabela 4).

**Tabela 4 – Características epidemiológicas dos pacientes referenciados, atendidos no HUIBB, no período de 2013 (outubro/2013) a 2016 (fevereiro/2016) do Estado do Pará.**

CARACTERÍSTICAS	N	%
<b>Idade (anos)</b>		
18 - 30	33	32,4
31 - 50	40	39,2
51- 60	13	12,7
> 60	16	15,7
<b>Gênero</b>		
Masculino	56	55
Feminino	46	45
<b>Modo de Transmissão</b>		
Oral	102	100
<b>Diagnóstico laboratorial</b>		
Parasitológico	102	100
Parasita + sorologia reagente IgM	60	58
<b>Conhece o triatomíneo</b>		
Sim	76	74
Não	27	26
<b>Tipo de moradia</b>		
Alvenaria	48	47
Madeira e telha	47	46
Madeira e palha	3	3
Madeira/ alvenaria e telha	2	2
Taipa	2	2
<b>Área Rural/Urbana</b>		
Rural	58	57
Urbana	44	43

#### **4.2.1 Hábitos alimentares de pacientes referenciados, atendidos no HUIBB, no período de 2013 (outubro/2013) a 2016 (fevereiro/2016).**

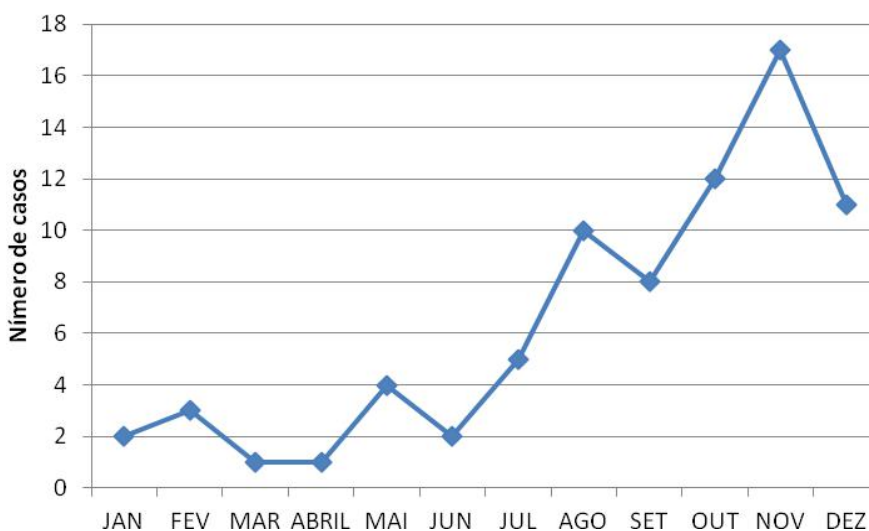
Cerca de 98% dos pacientes relataram consumo de açaí (almoço e/ou jantar); 66% também apreciam a bacaba; 62% disseram que já se alimentaram de algum tipo de carne silvestre e 1% corresponde a um caso pelo inquérito epidemiológico que foi associado ao fruto da melancia (Tabela 5).

**Tabela 5 - Distribuição dos casos estudados de doença de Chagas aguda, segundo hábito alimentar de pacientes atendidos no HUIBB, no período de 2013 a 2016 (outubro/13 a fevereiro/2016).**

Hábito alimentar	N	%
Açaí	100	98
Bacaba	66	64,7
Carne de caça	63	61,8
Melancia	1	1,0

#### **4.2.2 Distribuição mensal da doença em pacientes atendidos no HUIBB, , no período de 2013 (outubro/2013) a 2016 (fevereiro/2016).**

A distribuição mensal dos casos estudados de DCA atendidos no HUIBB, considerado o estudo anual completo de 2014 a 2015 demonstra que o número de adoecimento foi predominantemente a partir junho até dezembro (Figura 15).



**Figura 15- Distribuição mensal dos casos de doença de Chagas aguda de pacientes atendidos no HUIBB, no período de 2014 a 2015.**

#### **4.2.3 Distribuição dos casos de doença de Chagas aguda de acordo com o tempo de infecção e tempo de tratamento com Benzonidazol dos pacientes atendidos no HUIBB, no período de 2013 (outubro/13) a 2016 (fevereiro/2016).**

O tempo decorrido entre o início dos sintomas da doença até o diagnóstico foi de 15 a 21 dias (31,4 %) na maioria dos pacientes e com 21,6% o período de 8 a 14 dias, informação obtida

no momento do atendimento do paciente. Os períodos de 22 a 28 dias, acima de 28 e de 0 a 7 dias apresentaram 18,6%, 17,6% e 10,8%, respectivamente (Tabela 6).

**Tabela 6 – Distribuição dos casos de doença de Chagas aguda de acordo com o tempo de infecção dos pacientes referenciados, atendidos no HUIBB, no período de 2013 (outubro/13) a 2016 (fevereiro/2016) do Estado do Pará.**

<b>Tempo decorrido do início dos sintomas ao tratamento*</b>	<b>Número de indivíduos</b>	<b>%</b>
0 – 7 dias	11	10,8
8 – 14 dias	22	21,6
15 – 21 dias	32	31,4
22 a 28 dias	19	18,6
Acima de 28 dias	18	17,6
<b>Total</b>	<b>102</b>	<b>100,0</b>

\* relativo à data provável do início dos sintomas informada pelo paciente em relação à data do início do tratamento

Em relação ao tempo de tratamento dos pacientes, verificou-se que 41,2% estavam em até sete dias de tratamento com Bz e 37,3% sem tratamento no momento da coleta (Tabela 7).

**Tabela 7 – Distribuição dos casos de doença de Chagas aguda de pacientes atendidos no HUIBB por via oral de acordo com o tempo de tratamento com Benzonidazol, no período de 2013 (outubro/2013) a 2016 (fevereiro/2016).**

<b>Tempo de tratamento</b>	<b>Número de indivíduos</b>	<b>%</b>
Sem tratamento	38	37,3
Até 7 dias	42	41,2
8 a 14 dias	19	18,6
15 a 30 dias	3	2,9
<b>Total</b>	<b>102</b>	<b>100,0</b>

#### **4.2.4 Distribuição dos casos de doença de Chagas aguda de acordo com sinais e sintomas dos pacientes atendidos no HUIBB, no período de 2013 (outubro/13) a 2016 (fevereiro/2016).**

Os principais sinais e sintomas observados foram: febre (98%), astenia (83,3%), edema de face/membros (80,4%), cefaleia (74,5) e mialgia (72,5). Dor abdominal, dispneia, taquicardia, exantema, hepatomegalia, manifestações hemorrágicas e icterícia também foram observadas, porém em percentuais mais baixos. Não foi relatada a presença de sinais de porta

de entrada (Tabela 8). O comprometimento cardíaco foi evidenciado pela história clínica registrada em prontuário, a partir das análises dos eletrocardiogramas (ECG) em 84,3% dos pacientes com presença de alterações difusas e inespecíficas da repolarização ventricular (ADRV).

**Tabela 8 - Principais sinais e sintomas apresentados pelos pacientes com doença de Chagas aguda, atendidos no HUIBB, no período de 2013 (outubro/2013) a 2016 (fevereiro/2016) do Estado do Pará.**

<b>Sinais e Sintomas</b>	<b>Número de indivíduos</b>	<b>%</b>
Febre	100	98
Astenia	85	83,3
Edema de face/membros	82	80,4
Cefaleia	76	74,5
Mialgia	74	72,5
Dor abdominal	42	41,2
Dispneia	38	37,3
Taquicardia/arritmias	25	24,5
Tosse	8	7,8
Exantema	6	5,9
Hepatomegalia	2	2,0
Manifestações hemorrágicas	2	2,0
Icterícia	1	1,0
Chagoma de inoculação	-	-

A tabela 9 apresenta as prevalências de sintomas clínicos nos pacientes estudados e em outros estudos publicados realizados em 2008 na mesma região e em 1982 em Bambuí e em 2016 no Amazonas. Verifica-se que alguns sintomas são comuns aos diferentes estudos.



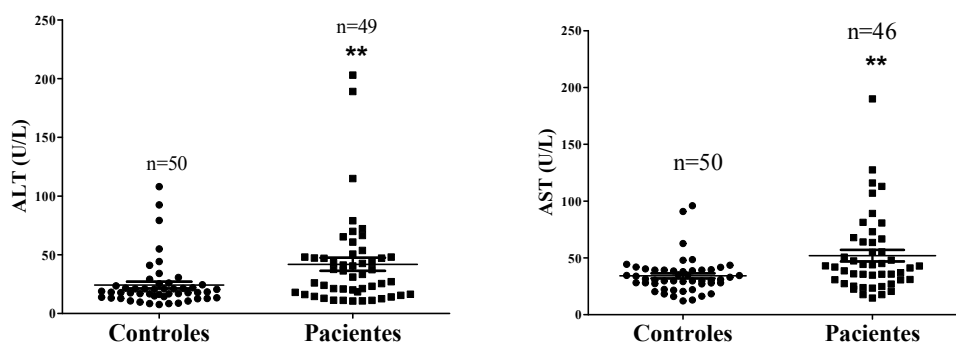
**Tabela 9 - Comparação dos sintomas clínicos de estudos na fase aguda da doença de Chagas: presente estudo (pacientes atendidos no HUIBB, no período de outubro/2013 a fevereiro/2016); 02 estudos na Amazônia por via oral e 01 em Bambuí por via vetorial.**

Sintomas	Presente estudo, Via oral (%)	Dias, Via Vetorial (%)	Pinto, Via oral (%)	Sedlacek, Via oral (%)
Febre	98	100	98,8	75
Astenia	83,3	30	40,6	8
Cefaleia	74,5	30	93,5%	58
Mialgia	72,5	30	87	25
Edema de face /membros	80,4	74	71,1	ND
Acometimento Cardíaco	84,3	40,6	10,3	0
Dispneia	37,3	22,3	61,9	ND
Taquicardia/arritmias	24,5	85	5,8	ND
Tosse	7,8	30	24,5	ND
Hepatomegalia	2,0	93,0	24,5	ND
Manifestações hemorrágicas	2,0	2	2	ND
Exantema	5,9	ND	28,8	8
Icterícia	1,0	ND	2,5	ND
Chagoma de inoculação	0	67,4	0	ND
Linfadenopatia	ND	89,8	0	ND
Aumento do coração	0	59,8	0	0
Hipotensão arterial	0	30	0	0
Tireoide levemente aumentada	ND	7,1	ND	ND
Palidez	1	ND	74,8	ND
Disfagia	ND	5,6	ND	ND
Nodulações eritematosas em membros inferiores	ND	ND	14,5	ND
Adenomegalia	ND	ND	13,8	ND
Diarréia	ND	30	7,3	ND
Coma e/ou confusão mental, ou convulsões	ND	20	10	ND
Esplenomegalia	0	64	10,4	ND
Dor abdominal	41,2	ND	50	8
Tonturas	ND	6,4	ND	17
Calafrios	0	15	0	17
Dispepsia	ND	ND	ND	8

#### **4.3 Dosagem de Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST)**

As aminotransferases (ALT/AST) foram avaliadas utilizando plasma de 49 amostras para ALT de pacientes (25 homens e 24 mulheres); 46 amostras de pacientes para AST (22 homens e 24 mulheres) e 50 amostras controles (25 homens e 25 mulheres), com pareamento entre sexo e idade entre dois os grupos com média de idade de 35,8 a 38,8.

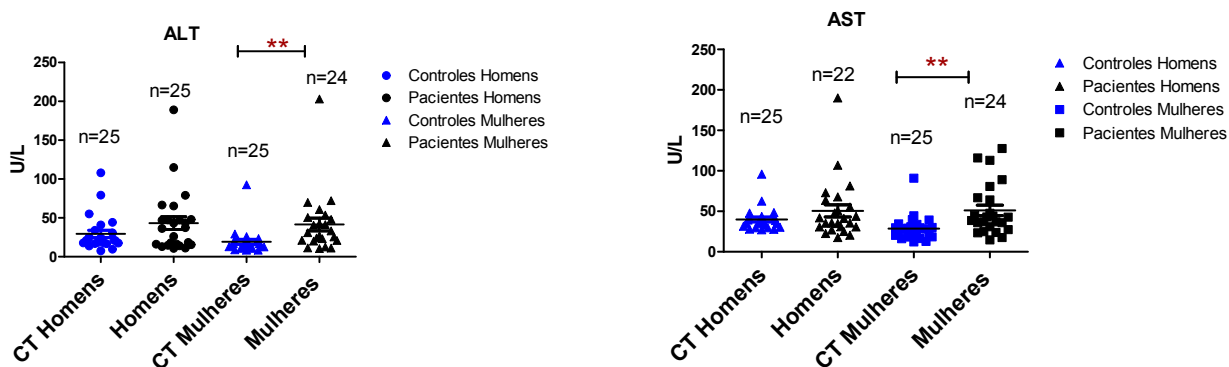
Quando analisamos os valores de ALT e AST observamos um significativo aumento nos pacientes com DCA comparando-se aos controles, o que pode estar relacionado a sinais de acometimento hepático nestes pacientes.



**Figura 16- Quantificação de ALT/AST séricos em pacientes e controles.** As concentrações plasmáticas de ALT/AST de controles (50) e pacientes com média de idade de 35,8 a 38,8, infectados (ALT – 49 pacientes/ AST-46 pacientes) por via oral foram quantificadas por REFLOTRON Plus. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste two way anova, “GraphPad Prism 5”. \*\*, p=0,01.

#### 4.3.1 Dosagem de Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST) por sexo

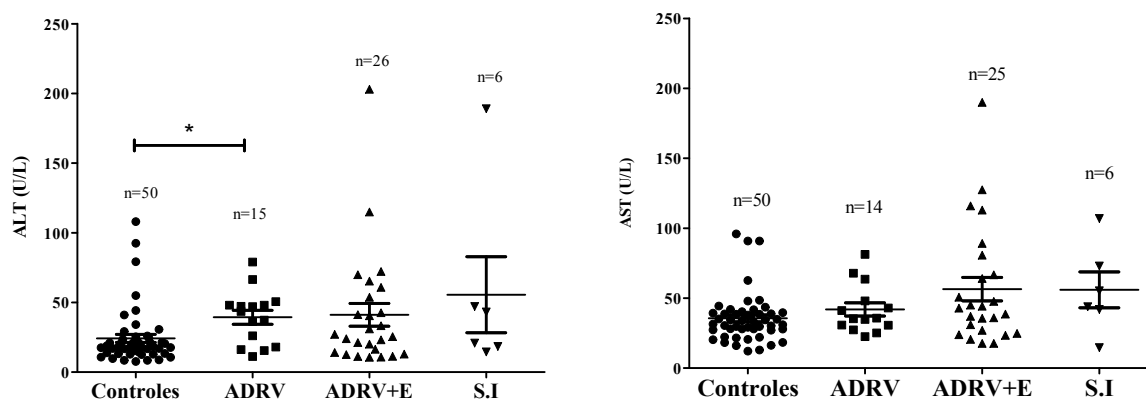
Ao avaliarmos as aminotransferases por sexo observamos aumento no nível sérico de ALT e AST nas pacientes mulheres com DCA em relação aos controles.



**Figura 17- Quantificação de ALT/AST por sexo em pacientes e controles.** As concentrações plasmáticas de ALT/AST de controles e pacientes infectados por via oral foram quantificadas por REFLOTRON Plus. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste two way anova, “GraphPad Prism 5”. \*\*\*, p=0,001, \*\*, p=0,01.

#### 4.3.2 Dosagem de Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST) por ADRV e sintomas

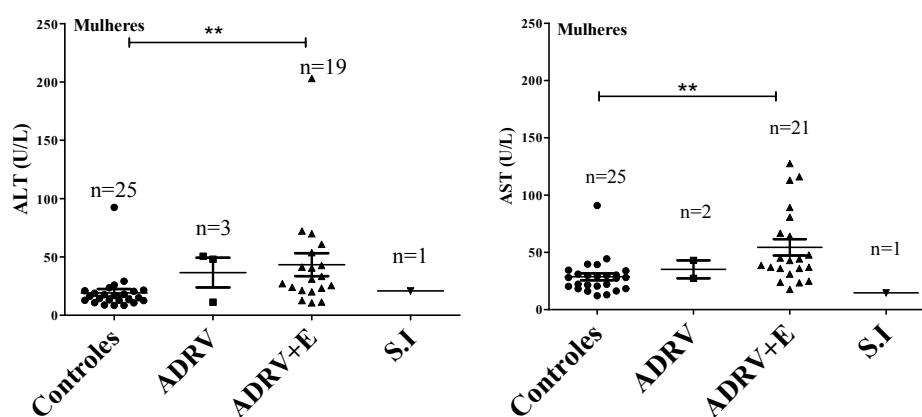
Ao avaliar as aminotransferases com sintomas e ADRV de pacientes com DCA e controles foi observado aumento do nível sérico de ALT nos pacientes com alteração eletrocardiográfica (ADRV) quando comparados aos controles, sem alteração em relação a pacientes com ADRV e edema face/membros (E) ou sintomas inespecíficos (Figura18).

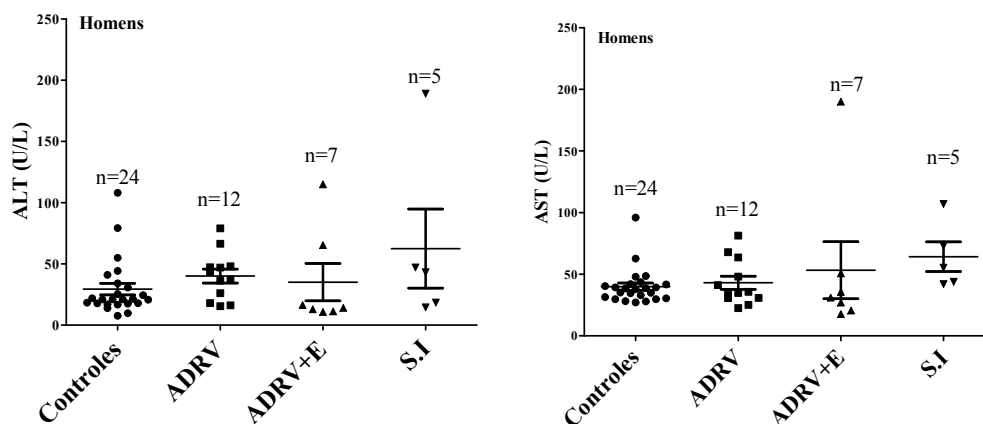


**Figura 18- Quantificação de ALT/AST por ADRV e sintomas em pacientes e controles.** As concentrações plasmáticas de ALT/AST de controles e pacientes infectados por via oral foram quantificadas por REFLOTRON Plus. ADRV: Alteração difusa da repolarização ventricular. E: Edema de face/membros. S.I: sintomas inespecíficos. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (pós teste de Dunn), “GraphPad Prism 5”.\*,p=0,05.S.I: sintomas inespecíficos

### 4.3.3 Dosagem de Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST) por ADRV e sintomas por sexo

A dosagem do nível sérico de ALT/AST está aumentada nas mulheres com alteração eletrocardiográfica (ADRV) e edema face/membros (E) quando comparados aos controles. Esse resultado sugere acometimento hepático nas mulheres com esse quadro clínico. Fato este, não evidenciado nos homens (Figura 19).

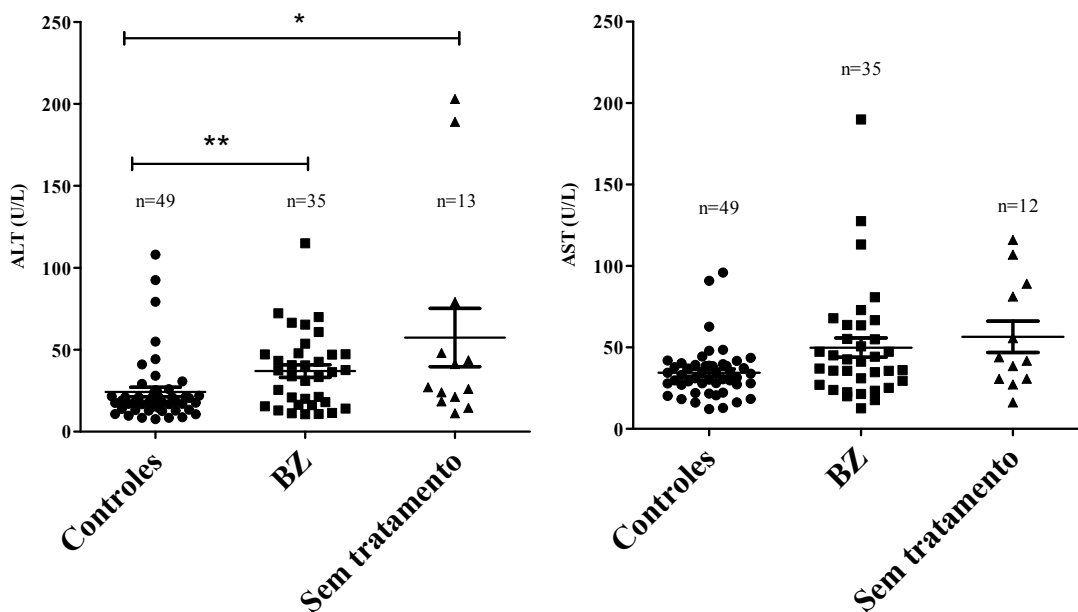




**Figura 19 - Quantificação de ALT/AST por ADRV e sintomas em pacientes com DCA e controles por sexo.** As concentrações plasmáticas de ALT/AST de controles e pacientes infectados por via oral foram quantificadas por REFLOTRON Plus. ADRV: Alteração difusa da repolarização ventricular. E: Edema de face/membros. S.I: sintomas inespecíficos. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (pós teste de Dunn), “GraphPad Prism 5”. S.I:sintomas inespecíficos.

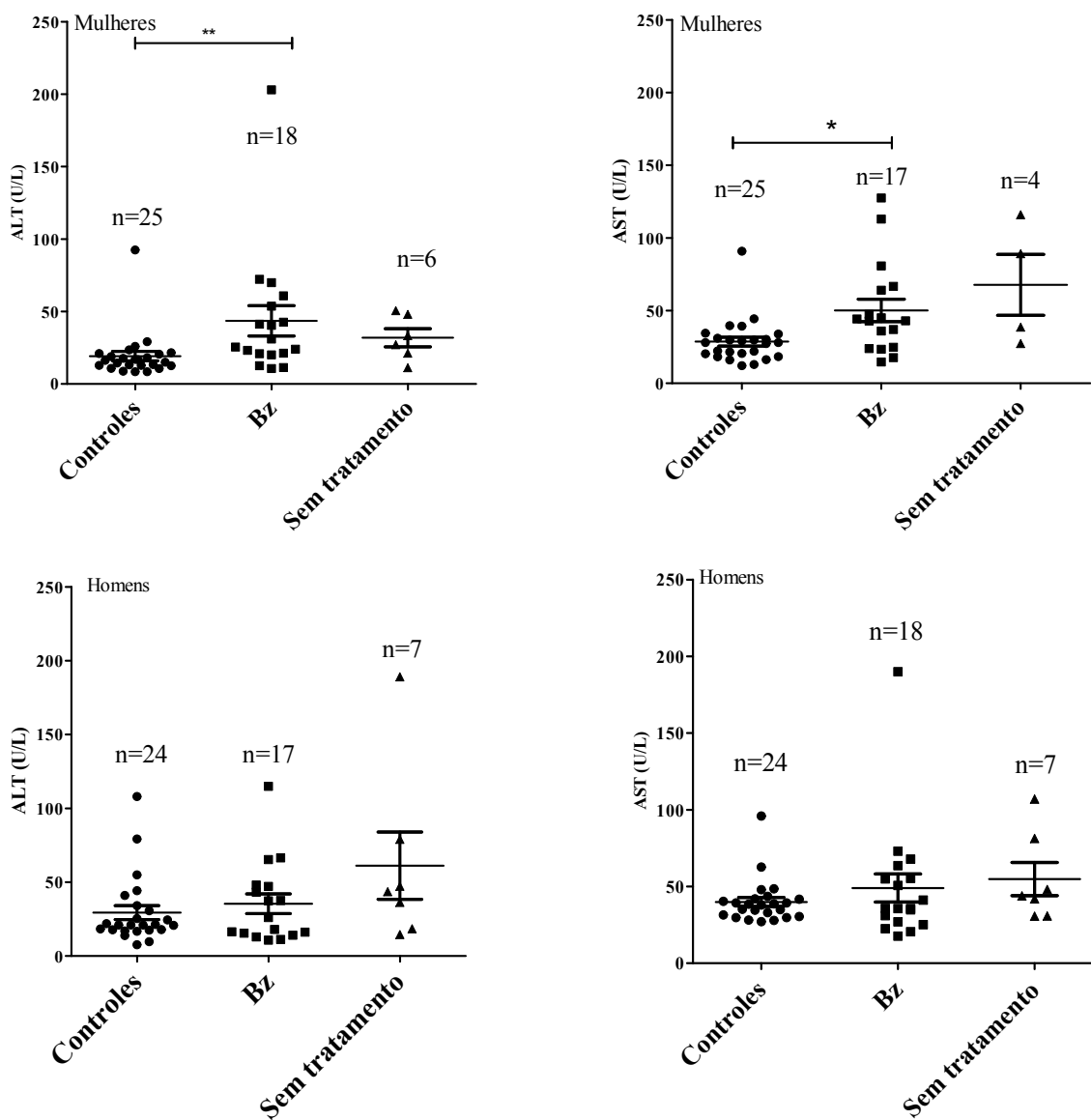
#### 4.3.4 Dosagem de Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST) por tratamento

Avaliamos se o tratamento com Benzonidazol (Bz - 5 a 7 mg por Kg de peso, administrado em duas ou três doses diárias, via oral, durante 30 a 60 dias, ou por 90 dias, conforme critério médico) interferiu nos níveis séricos de ALT e AST. Foi observado que os níveis de ALT estão significativamente mais elevados tanto nos pacientes com tempo médio de tratamento com Bz de 2 a 7 dias quanto no grupo de pacientes sem tratamento, quando comparados ao grupo controle. Para uma melhor correlação sobre os possíveis efeitos hepatotóxicos do Bz isoladamente seria necessário um grupo de pacientes em maior tempo de tratamento com Bz e controles (negativo para DCA) também com mesmo tempo de tratamento com BZ, o que não foi possível. Não se observou alteração entre os grupos dos pacientes com DCA em tratamento com Bz e sem tratamento (Figura 20).



**Figura 20- Quantificação de ALT/AST e o tratamento (Bz) em pacientes com DCA e controles.** As concentrações plasmáticas de ALT/AST de controles e pacientes infectados por via oral foram quantificadas por REFLOTRON Plus. Bz: Tratados com Benzonidazol (5 a 7 mg / Kg de peso). Pacientes com tempo médio de tratamento de 2 a 7 dias. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste two way anova, “GraphPad Prism 5”; \*,  $p=0,05$ ; \*\*,  $p=0,01$ . Dosagem de Alanina Aminotransferase (ALT) e Aspartato Aminotransferase (AST) por tratamento e sexo.

Nas mulheres com tempo médio de tratamento com Bz de 2 a 7 dias foi evidenciada alteração dos níveis de ALT/AST quando comparadas ao grupo controle, o que não reflete potencial efeito hepatotóxico da droga, devido ser pouco tempo de tratamento para essa avaliação. Nos homens não houve aumento significativo entre os grupos (Figura 21).



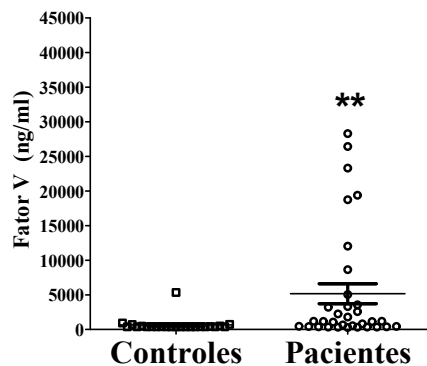
**Figura21-** Quantificação de ALT/AST e o tratamento (Bz) em pacientes por sexo com DCA e controles. As concentrações plasmáticas de ALT/AST de controles e pacientes infectados por via oral foram quantificadas por REFLOTRON Plus. Bz: tratados com Benzimidazol (5 a 7 mg / Kg de peso). Pacientes com tempo médio de tratamento de 2 a 7 dias. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste two way anova, “GraphPad Prism 5”.

#### 4.4 Dosagem dos fatores de coagulação

Os fatores de coagulação V, VII, VIII e Proteína C Ativada (APC) foram avaliados utilizando plasma de 33 amostras de pacientes (17 homens e 16 mulheres) e 30 amostras controles (14 homens e 16 mulheres), com média de idade de 38,5.

#### 4.4.1 Dosagem de Fator V

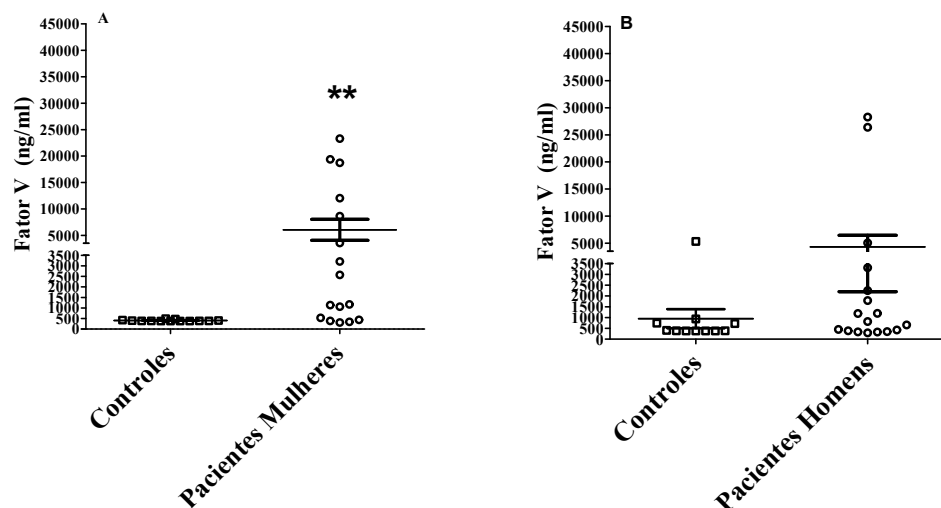
Observou-se aumento significativo dos níveis plasmáticos do fator V da via comum da cascata de coagulação nos pacientes quando comparados aos controles. Esse achado pode representar maior risco de trombose nos pacientes (Redondo *et al.*, 1999). Os valores de referência utilizados para análise variam de 4 a 10.000 ng/ml no plasma (Tracy *et al.*, 1982) (Figura 22).



**Figura 22- Expressão de Fator V em amostras de pacientes e controles.** As concentrações plasmáticas de FV de controles e pacientes infectados por via oral foram quantificadas por ELISA. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Mann-Whitney, “GraphPad Prism 5”. \*\*, p=0,01.

##### 4.4.1.1 Dosagem de Fator V por sexo

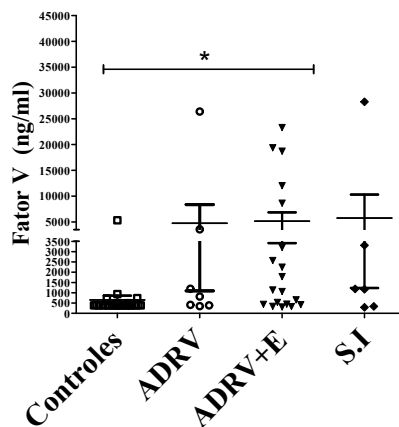
O resultado demonstra que o fator V da cascata de coagulação apresenta níveis aumentados nas pacientes mulheres com DCA quando comparados aos controles. Fato este que não foi observado nos homens. Este aumento pode estar relacionado aos resultados dos níveis plasmáticos de ALT/AST sugestivos de acometimento hepático, presente nas mulheres, visto que o fígado é o órgão de produção desses fatores (Figura 23).



**Figura 23 (A e B) - Expressão de Fator V em amostras de pacientes e controles por sexo.** As concentrações plasmáticas de FV de controles e pacientes infectados por via oral foram quantificadas por ELISA. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Mann-Whitney, “GraphPad Prism 5”. \*\*, p=0,01.

#### 4.4.1.2 Dosagem de Fator V por ADRV e sintomas

O resultado demonstra que o fator V da cascata de coagulação quando correlacionado aos sintomas dos pacientes apresentam diferença significativa nos pacientes com ADRV e edema de face/membro (Figura 24).

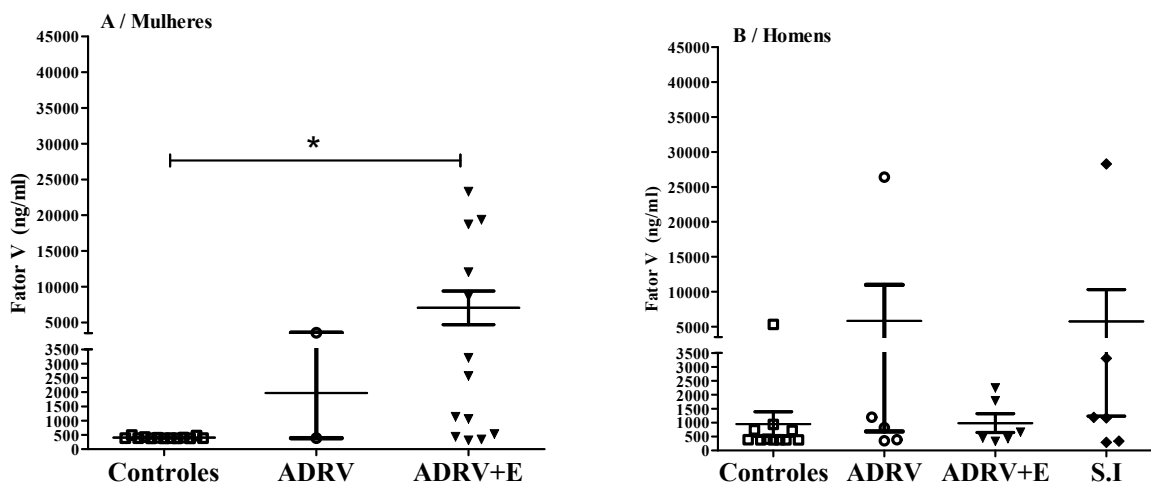


**Figura 24- Expressão de Fator V por sintomas e ADRV em amostras de pacientes e controles.** As concentrações plasmáticas de FV de controles e pacientes infectados por via oral foram quantificadas por ELISA. ADRV: Alteração difusa da repolarização ventricular. E: Edema de face/membros. S.I: sintomas inespecíficos. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (pós teste de Dunn) “GraphPad Prism 5”. \*, p=0,05.

#### 4.4.1.3 Dosagem de Fator V por ADRV e sintomas de acordo com o sexo

Ao correlacionar os níveis de fator V com ADRV e os sintomas de pacientes por sexo, observamos que as mulheres com ADRV e edema de face/membros estão mais acometidas pelos níveis aumentados desse fator (Figura 25).

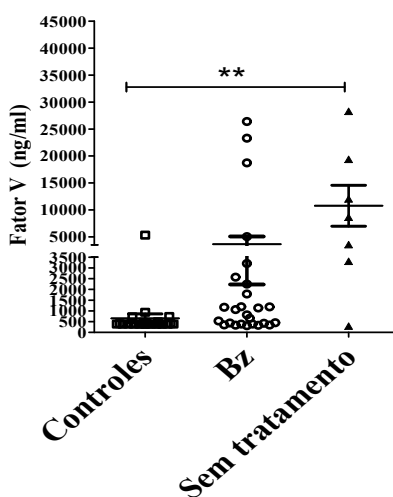




**Figura 25 (A E B) - Expressão de Fator V de acordo com os sintomas e ADRV em amostras de pacientes por sexo e controles.** As concentrações plasmáticas de FV de controles e de pacientes infectados por via oral de acordo com os sintomas foram quantificadas por ELISA. ADRV: Alteração difusa da repolarização ventricular. E: Edema de face/membros. S.I: sintomas inespecíficos. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (pós teste de Dunn) “GraphPad Prism 5”.\*, p=0,05.

#### 4.4.1.4 Dosagem de Fator V por tratamento

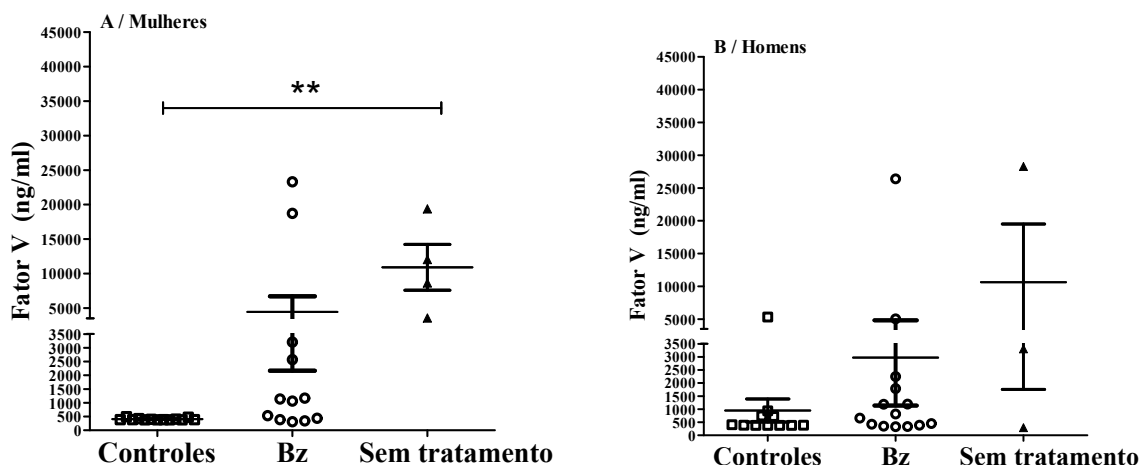
Avaliamos se o tratamento com Benzonidazol (Bz - 5 a 7 mg por Kg de peso, administrado em duas ou três doses diárias, via oral, durante 30 a 60 dias, ou por 90 dias, conforme critério médico) interferiu nos níveis séricos de fator V. Foi observado que os níveis séricos de fator V foram significativamente aumentados nos pacientes sem tratamento com Bz quando comparados aos controles (Figura 26).



**Figura 26- Expressão de Fator V nas amostras de pacientes em tratamento e sem tratamento e controles.** As concentrações plasmáticas de FV de controles e pacientes infectados por via oral tratados e não tratados foram quantificadas por ELISA. Bz: tratado com Benzonidazol (5 a 7 mg / Kg de peso). Pacientes com tempo médio de tratamento de 2 a 7 dias. Valores de referência: 4 a 10.000 ng/ml no plasma (-----). As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (pós teste de Dunn), “GraphPad Prism 5”. \*\*, p=0,01.

#### 4.4.1.5 Dosagem de Fator V por tratamento e sexo

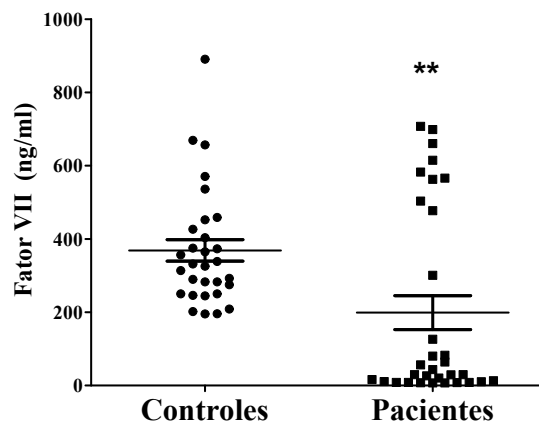
Ao avaliarmos o tratamento com Benzonidazol e os níveis séricos de fator V por sexo, observamos que somente as mulheres sem tratamento com Bz, foram as que tiveram aumento significativo dos níveis de FV quando comparado aos controles (Figura 27).



**Figura 27 (A E B) - Expressão de Fator V de acordo com o tratamento em amostras de pacientes por sexo e controles.** As concentrações plasmáticas de FV de controles e de pacientes infectados por via oral de acordo com os sintomas foram quantificadas por ELISA. Pacientes com tempo médio de tratamento de 2 a 7 dias. Bz: tratado com Benzonidazol (5 a 7 mg / Kg de peso). Valores de referência: 4 a10.000 ng/ml no plasma (----). As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (pós teste de Dunn) “GraphPad Prism 5”.\*, p=0,05.

#### DOSAGEM DE FATOR VII

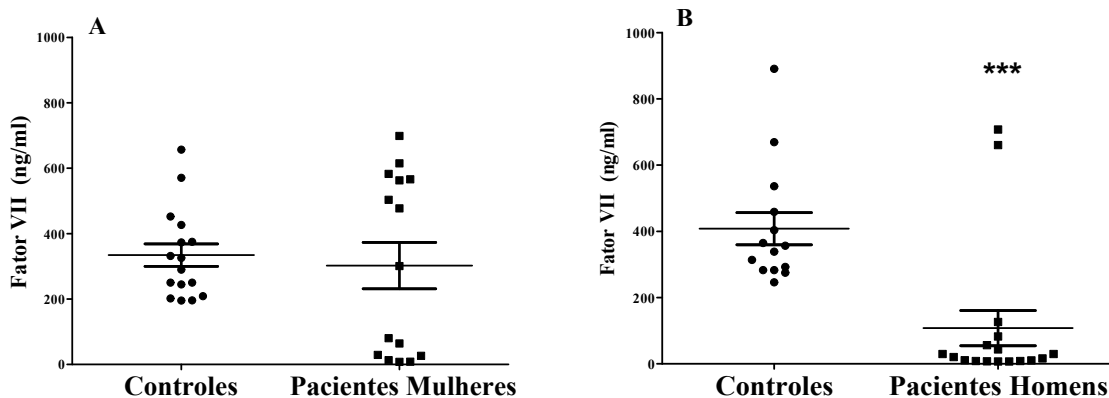
O resultado demonstra que o fator VII da cascata de coagulação apresenta níveis reduzidos nos pacientes com DCA em relação aos controles. Os valores de referência utilizados são de 500 ng/ml no plasma (Shapiro *et al.*, 1998) (Figura 28).



**Figura 28- Expressão de Fator VII em amostras de pacientes e controles.** As concentrações plasmáticas de FVII de controles e pacientes infectados por via oral foram quantificadas por ELISA. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Mann-Whitney, “GraphPad Prism 5”. \*\*, p=0,01.

#### 4.4.1.6 Dosagem de Fator VII por sexo

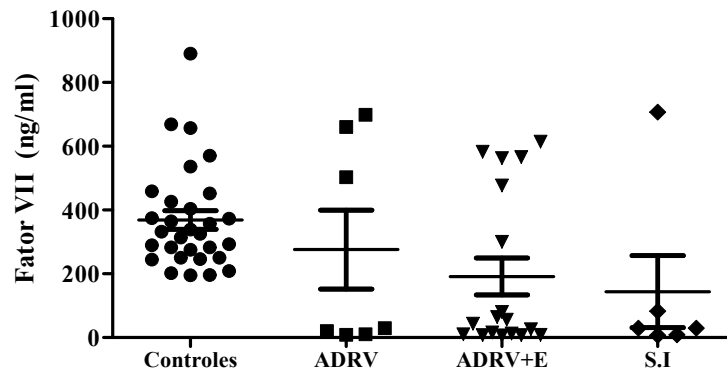
O resultado demonstra diminuição dos níveis do fator VII nos homens com DCA quando comparados aos controles. Fato este que não foi observado nas mulheres. Níveis reduzidos de FVII podem estar relacionados a eventos trombóticos e/ou desordens hemorrágicas (Avila-Aguero *et al.*, 2004) (Figura 29).



**Figura 29 (A e B) - Expressão de Fator VII em amostras de pacientes por sexo e controles.** As concentrações plasmáticas de FVII de controles e pacientes infectados por via oral foram quantificadas por ELISA. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Mann-Whitney, “GraphPad Prism 5”. \*\*\*, p=0,001.

#### 4.4.1.7 Dosagem de Fator VII por ADRV e sintomas

Ao correlacionar os níveis de fator VII com ADRV e os sintomas dos pacientes não se observaram diferenças estatísticas entre os valores (Figura 30).

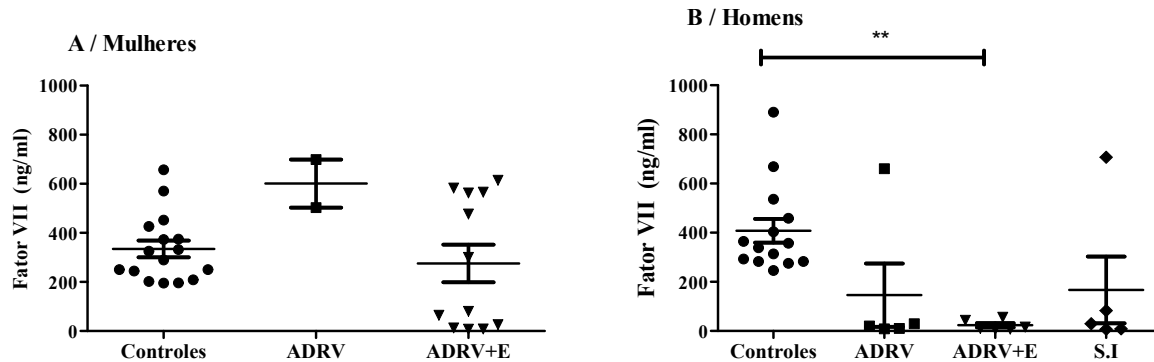


**Figura 30- Expressão de Fator VII de acordo com os sintomas em amostras de pacientes e controles.** As concentrações plasmáticas de FVII de controles e sintomas dos pacientes infectados por via oral foram quantificadas por ELISA. ADRV: Alteração difusa da repolarização ventricular. E: Edema face/membros. S.I: sintomas

inespecíficos. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (pós teste de Dunn), “GraphPad Prism 5”.

#### 4.4.1.8 Dosagem de Fator VII por ADRV, sintomas e sexo

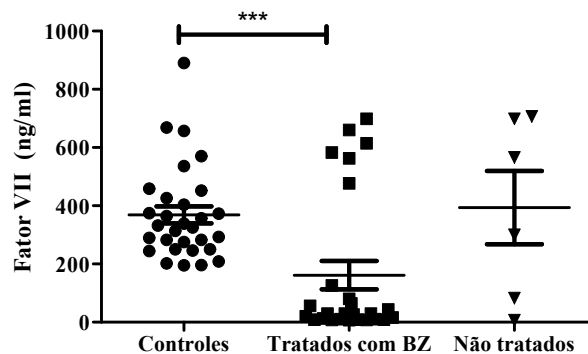
Ao correlacionar a quantificação de fator VII por ADRV, com os sintomas dos pacientes por sexo observamos que os níveis de FVII nos homens com alteração difusa da repolarização ventricular e sintomas: edema de face/membros são mais baixos em relação aos controles (Figura 31).



**Figura 31 (A e B) - Expressão de Fator VII de acordo com os sintomas em amostras de pacientes por sexo e controles.** As concentrações plasmáticas de FVII de controles e de pacientes infectados por via oral de acordo com os sintomas foram quantificadas por ELISA. ADRV: Alteração difusa da repolarização ventricular. E: Edema de face/membros. S.I: sintomas inespecíficos. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (pós teste de Dunn) “GraphPad Prism 5”. \*\*, p=0,01.

#### 4.4.1.9 Dosagem de Fator VII por Tratamento

Avaliamos se o tratamento com Benzonidazol (Bz - 5 a 7 mg por Kg de peso, administrado em duas ou três doses diárias, via oral, durante 30 a 60 dias, ou por 90 dias, conforme critério médico) interferiu os níveis séricos de FVII. Foi observado níveis de FVII significativamente reduzidos nos pacientes em tratamento com Bz quando comparados aos controles (Figura 32).

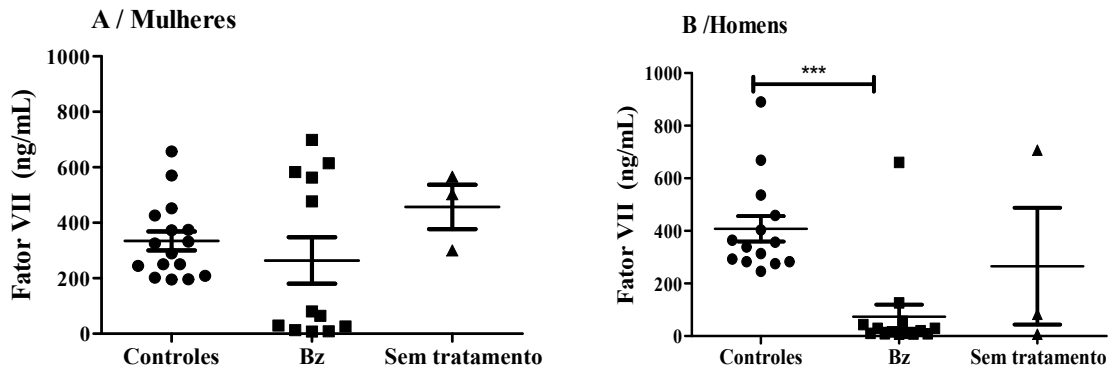


**Figura 32- Expressão de Fator VII nas amostras de pacientes em tratamento e sem tratamento e controles.** As concentrações plasmáticas de FV de controles e pacientes infectados por via oral tratados e não tratados foram

quantificadas por ELISA. Bz: Benzonidazol (5 a 7 mg / Kg de peso). Pacientes com tempo médio de tratamento de 2 a 7 dias. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (pós teste de Dunn) “GraphPad Prism 5”. \*\*\*, p=0,001.

#### 4.4.1.10 Dosagem de Fator VII por Tratamento e sexo

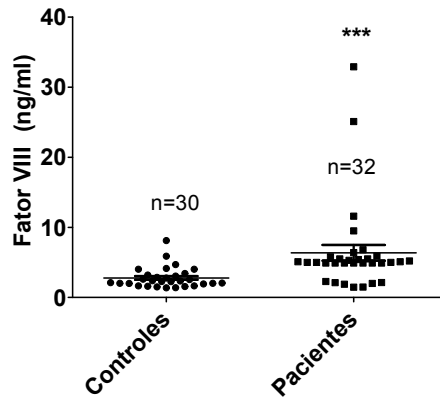
Ao avaliar a quantificação do FVII e o tratamento com Benzonidazol por sexo dos pacientes, observou-se que os níveis de FVII foram significativamente reduzidos nos homens em tratamento com Bz quando comparados aos controles (Figura 33).



**Figura 33 (A E B) - Expressão de Fator VII de acordo com o tratamento em amostras de pacientes por sexo e controles.** As concentrações plasmáticas de FVII de controles e de pacientes infectados por via oral de acordo com os sintomas foram quantificadas por ELISA. Pacientes com tempo médio de tratamento de 2 a 7 dias. Bz: tratados com Benzonidazol (5 a 7 mg / Kg de peso). As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (pós teste de Dunn) “GraphPad Prism 5”. \*\*\*, p=0,001.

#### 4.4.2 Dosagem de Fator VIII

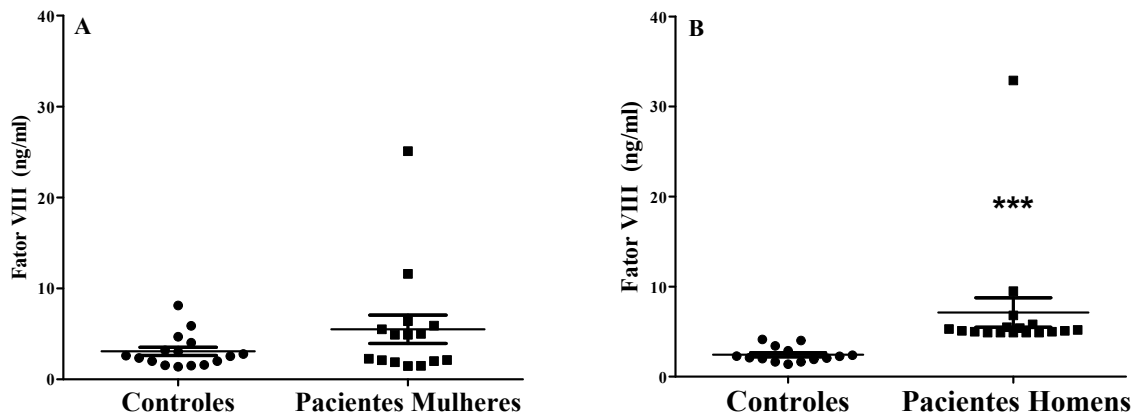
O resultado demonstra que o fator VIII da via intrínseca da cascata de coagulação apresenta níveis significativamente mais elevados nos pacientes quando comparados aos controles. Os valores de referência variam 100 a 200 ng/ml no plasma (Connelly *et al.*, 1996). Níveis elevados de FVIII aumenta o risco de eventos tromboticos venosos e arteriais nesses pacientes (Baker *et al.*, 2013) (Figura 34).



**Figura 34-** Expressão de Fator VIII em amostras de pacientes e controles. As concentrações plasmáticas de FVII de controles e pacientes infectados por via oral foram quantificadas por ELISA. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Mann-Whitney, “GraphPad Prism 5”. \*\*\*,  $p=0,001$ .

#### 4.4.2.1 Dosagem de Fator VIII por sexo

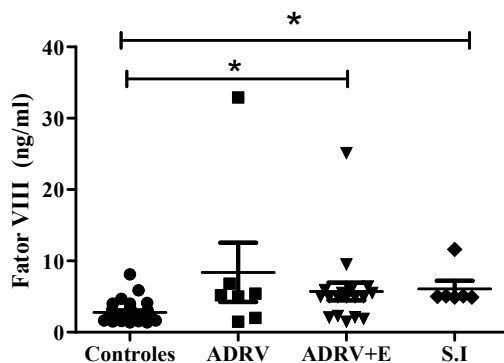
O resultado demonstra que o fator VIII da cascata de coagulação apresenta níveis significativamente mais elevados nos pacientes do sexo masculino quando comparados aos controles. Fato este que não foi observado nas mulheres (Figura 35).



**Figura 35 (A e B) - Expressão de Fator VIII em amostras de pacientes por sexo e controles.** As concentrações plasmáticas de FVIII de controles e pacientes infectados por via oral foram quantificadas por ELISA. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Mann-Whitney, “GraphPad Prism 5”. \*\*\*,  $p=0,001$ .

#### 4.4.2.2 Dosagem de Fator VIII por ADRV e sintomas

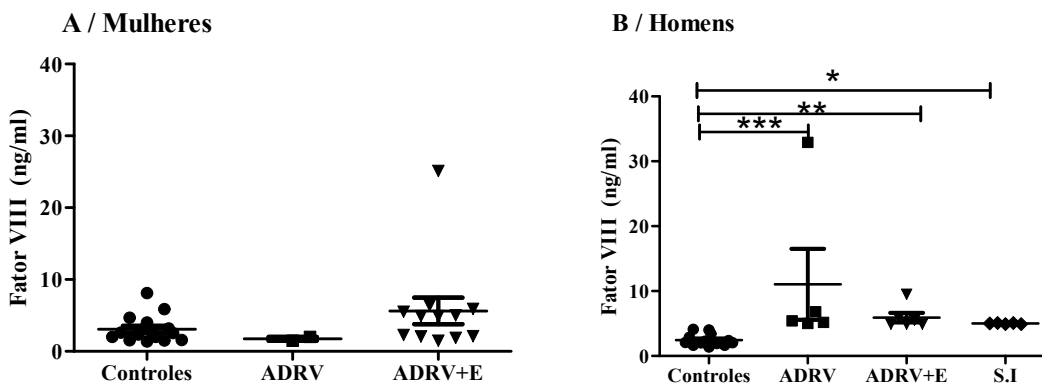
Ao correlacionar os níveis de fator VIII com os sintomas dos pacientes há diferença significativa nos níveis desse fator nos pacientes com alteração difusa da repolarização ventricular e sintomas: edema de face/membros e sintomas inespecíficos (Figura 36).



**Figura 36- Expressão de Fator VIII de acordo com o ADRV e sintomas em amostras de pacientes e controles.** As concentrações plasmáticas de FVIII de controles e sintomas dos pacientes infectados por via oral foram quantificadas por ELISA. ADRV: Alteração difusa da repolarização ventricular. E: Edema de face/membros. S.I: Sintomas inespecíficos. S.I: sintomas inespecíficos. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (teste Q de Dunn), “GraphPad Prism 5”. \*, p=0,05.

#### 4.4.2.3 Dosagem de Fator VIII por ADRV sintomas e sexo

Ao correlacionar os níveis de fator VIII com os sintomas dos pacientes por sexo observamos que os homens com alteração difusa da repolarização ventricular e sintomas: edema de face/membros e sintomas inespecíficos apresentam aumento do nível sérico de FVIII em relação aos controles (Figura 37).

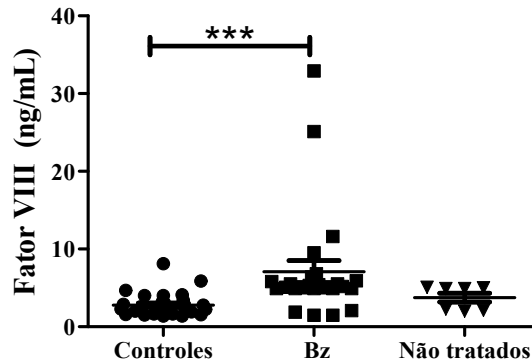


**Figura 37 (A E B) - Expressão de Fator VIII de acordo com ADRV e sintomas em amostras de pacientes por sexo e controles.** As concentrações plasmáticas de FVIII de controles e de pacientes infectados por via oral de acordo com os sintomas foram quantificadas por ELISA. ADRV: Alteração difusa da repolarização ventricular. E: Edema de face/membros. S.I: Sintomas inespecíficos. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (pós teste de Dunn) “GraphPad Prism 5”. \*, p=0,05; \*\*, p=0,01; \*\*\*, p=0,001.

#### 4.4.2.4 Dosagem de Fator VIII por tratamento

Avaliamos se o tratamento com Benzimidazol (Bz - 5 a 7 mg por Kg de peso, administrado em duas ou três doses diárias, via oral, durante 30 a 60 dias, ou por 90 dias, conforme critério médico) interferiu nos níveis séricos de fator VIII. Foi observado que os níveis

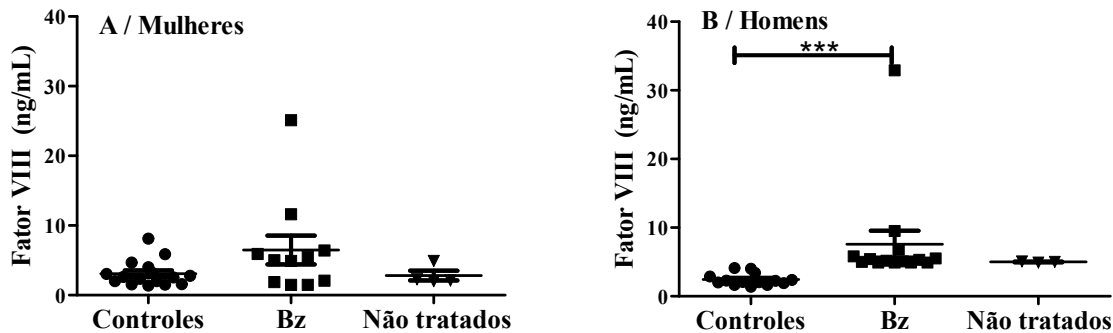
de FVIII foram significativamente aumentados nos pacientes em tratamento com Bz quando comparados aos controles (Figura 38).



**Figura 38- Expressão de Fator VIII nas amostras de pacientes em tratamento e sem tratamento e controles.** As concentrações plasmáticas de FVIII de controles e pacientes infectados por via oral tratados e não tratados foram quantificadas por ELISA. Bz: tratados com Benzonidazol (5 a 7 mg / Kg de peso). As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (pós teste de Dunn), “GraphPad Prism 5”; \*\*\*, p=0,001.

#### 4.4.2.5 Dosagem de Fator VIII por tratamento e sexo

Ao avaliarmos o tratamento com Benzonidazol e os níveis séricos de fator VIII por sexo, observamos que os níveis de FVIII foram significativamente aumentados nos homens em tratamento com Bz quando comparados aos controles (Figura 39).

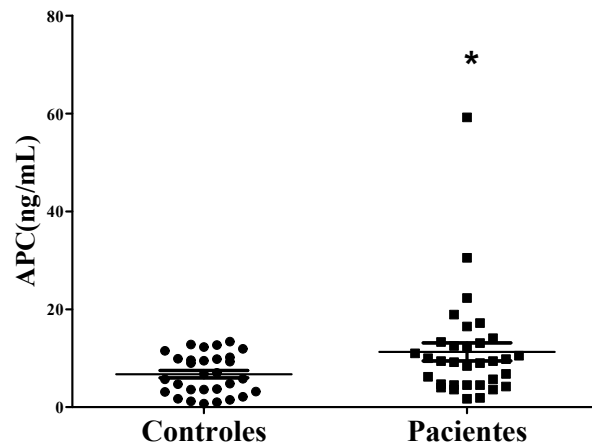


**Figura 39 (A E B) - Expressão de Fator VIII de acordo com o tratamento em amostras de pacientes por sexo e controles.** As concentrações plasmáticas de FVIII de controles e de pacientes infectados por via oral de acordo com os sintomas foram quantificadas por ELISA. Pacientes com tempo médio de tratamento de 2 a 7 dias. Bz: tratados com Benzonidazol (5 a 7 mg / Kg de peso). As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (pós teste de Dunn) “GraphPad Prism 5”. \*\*\*, p=0,001.

#### 4.4.3 Dosagem de Proteína C Ativada

O resultado demonstra que a proteína C ativada (APC) apresenta níveis significativamente mais elevados nos pacientes quando comparados aos controles. Valores de referência: 5 ng/ml (Greisler,1994) (Figura 40).

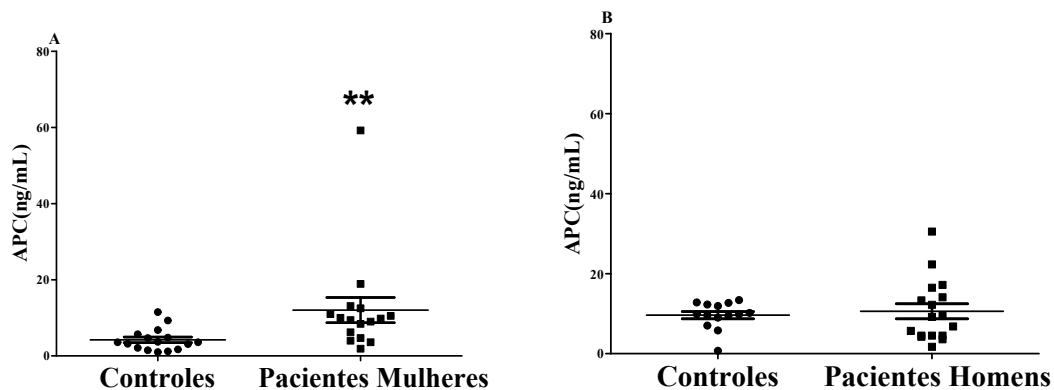




**Figura 40- Expressão de APC em amostras de pacientes e controles.** As concentrações plasmáticas de APC de controles e pacientes infectados por via oral foram quantificadas por ELISA. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Mann-Whitney, “GraphPad Prism 5”. \*, p=0,05.

### 3.1.1 Dosagem de Proteína C Ativada por sexo

O resultado demonstra que a APC apresenta níveis significativamente mais elevados nas mulheres quando comparado aos controles. Fato este que não foi observado nos homens. A APC atua como anticoagulante natural na regulação da cascata da coagulação (Levi *et al.*, 2004) (Figura 41).



**Figura 41 (A e B) - Expressão de APC em amostras de pacientes por sexo e controles.** As concentrações plasmáticas de APC de controles e pacientes infectados por via oral foram quantificadas por ELISA. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Mann-Whitney, “GraphPad Prism 5”. \*\*, p=0,01.

### 4.4.4 Dosagem de Proteína C Ativada por ADRV e sintomas

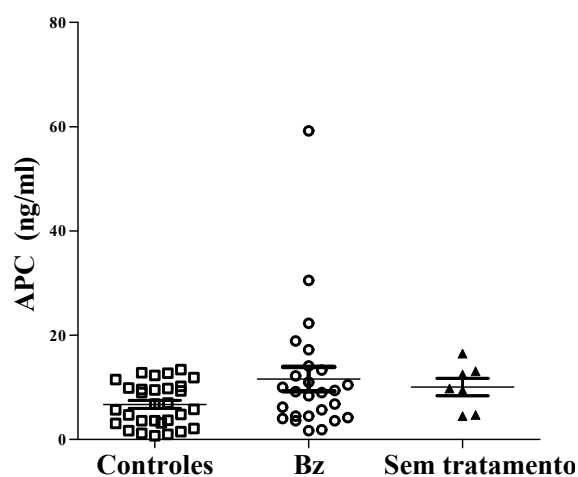
Ao correlacionar os níveis de APC com a alteração difusa da repolarização ventricular e sintomas: edema de face/membros e sintomas inespecíficos dos pacientes não observamos diferenças significativas em relação aos controles (Figura 42).



face/membros. S.I : sintomas inespecíficos. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (pós teste de Dunn) “GraphPad Prism 5”. \*\*, p=0,01.

### 3.1.1.2 Dosagem de Proteína C Ativada por tratamento

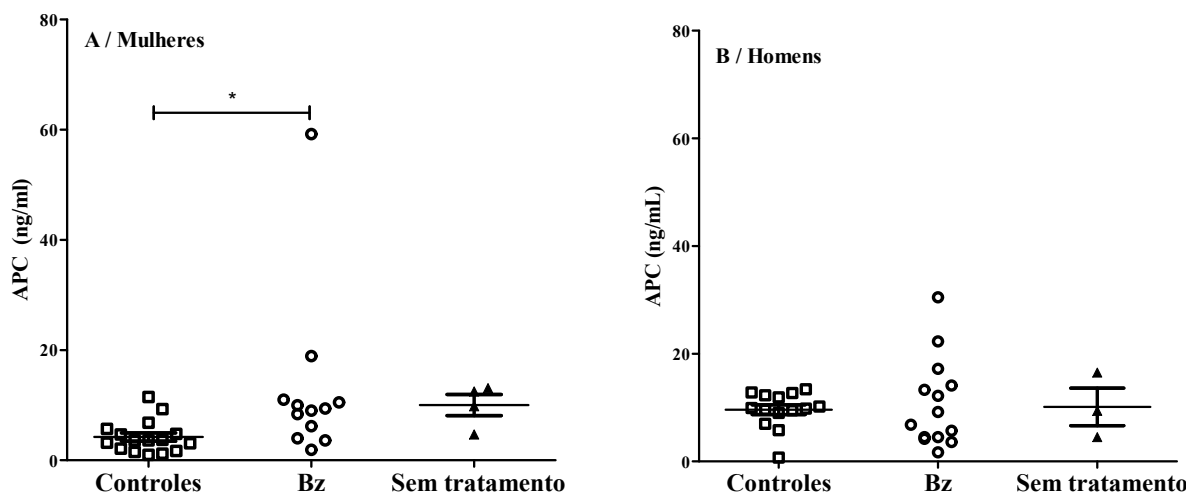
Avaliamos se o tratamento com Benzonidazol (Bz - 5 a 7 mg por Kg de peso, administrado em duas ou três doses diárias, via oral, durante 30 a 60 dias, ou por 90 dias, conforme critério médico) interferiu nos níveis séricos de APC. Foi observado que os níveis de APC não apresentaram diferenças significativas entre os grupos (Figura 44).



**Figura 44- Expressão de APC nas amostras de pacientes em tratamento, sem tratamento e controles.** As concentrações plasmáticas de APC de controles e pacientes infectados por via oral tratados e não tratados foram quantificadas por ELISA. Bz: tratados com Benzonidazol (5 a 7 mg / Kg de peso). Pacientes com tempo médio de tratamento de 2 a 7 dias. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (pós teste de Dunn), “GraphPad Prism 5”.

### 3.1.1.3 Dosagem de Proteína C Ativada por tratamento e sexo

Com relação ao tratamento com Benzonidazol e os níveis séricos de APC, observamos que os níveis de APC foram significativamente aumentados nas mulheres em tratamento com Bz quando comparados aos controles (Figura 45).



**Figura 45 (A e B) - Expressão de APC de acordo com o tratamento em amostras de pacientes por sexo e controles.** As concentrações plasmáticas de APC de controles e de pacientes infectados por via oral de acordo com os sintomas foram quantificadas por ELISA. Pacientes com tempo médio de tratamento de 2 a 7 dias. Bz: Benzonidazol (5 a 7 mg / Kg de peso). As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Kruskal-Wallis (pós teste de Dunn), “GraphPad Prism 5”. \*, p=0,05.

## 5. DISCUSSÃO

No primeiro surto da Amazônia, ocorrido em Belém e descrito por Shaw e colaboradores (1969), acometendo quatro pessoas de uma mesma família e domicílio, nas investigações realizadas sugeriu-se a transmissão por alimento contaminado com fezes de triatomíneos silvestres (Shaw *et al.*, 1969). Surtos por infecção oral da doença de Chagas têm sido descritos nos últimos anos, no Brasil e em outros países da América Latina, como Colômbia, Guiana Francesa, Bolívia, Argentina e Equador (da Silva *et al.*, 1968, Sanchez e Ramirez, 2013, Toso *et al.*, 2011).

O padrão de evolução da DCA com seu mecanismo de resposta que leva às distintas manifestações e a morbimortalidade da doença não está totalmente definido. Acredita-se que alguns fatores podem estar envolvidos, como diferenças genéticas do parasito e do hospedeiro, características das diferentes cepas de *T. cruzi*, o tamanho do inoculo e a porta de entrada (Barreto-de-Albuquerque *et al.*, 2015; dos Santos, 2017). Atualmente, a transmissão por via oral é a principal via de transmissão no Brasil, sendo responsável por aproximadamente 70% dos casos agudos da doença de Chagas (Brasil, 2015). No Estado do Pará se concentra o maior percentual de ocorrência (75%) (Brasil 2015).

Diante da análise dos dados registrados no SINAN Estadual, observa-se que a DCA vem ocorrendo regularmente no Estado do Pará, há mais de 10 anos, com 16.807 notificações da doença, no período de 2000 a 2016. Dessas notificações 2030 casos foram confirmados, sendo que o ano com menor número de casos confirmados foi em 2005 com somente cinco casos (0,2% do total) e o ano com maior número de casos confirmados foi 2016 com 327 casos (16,1% do total). Essa análise dimensionada pelo SINAN nos mostra um quadro de endemicidade da doença no estado ao longo dos anos. O perfil epidemiológico apresenta um cenário com a ocorrência da maioria dos casos sugestivos de transmissão oral, uma vez que ocorre na forma de surto ou na ausência de triatomíneo na residência. No período de estudo, a maior concentração dos casos agudos de DCA foram registrados na região metropolitana de Belém, Marajó e Nordeste do Estado. Essa ocorrência pode estar relacionada ao consumo de frutos de palmeira, especialmente açaí pela população local. Segundo o IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) a produção de açaí no Estado do Pará vem aumentando ao longo nos anos, sendo o maior produtor, com 13.000 produtores, responsável por 54% da produção nacional, chegando à produção de cerca de 800 mil toneladas por ano (Tavares e Homma 2015, MAPA 2017). Os municípios da mesorregião do Nordeste Paraense, especialmente Abaetetuba, Igarapé Miri, Cametá, Moju e Barcarena e do Marajó (Portel, Ponta de Pedras e Anajás) se destacam nessa produção no Pará, fornecendo a fruta para consumo local, região metropolitana e para a distribuição, após pasteurização da polpa, a outros estados e para exportação. Em Belém, o consumo diário de forma artesanal está estimado em torno de 200.000 litros/dia no período de safra, sendo o segundo alimento mais consumido nessa capital. O processamento do açaí no Pará é feito de forma artesanal (batedores), com extração da polpa do fruto com auxílio de máquina batedeira ou despoldadeira (Rogez, 2000; Santana *et al.*, 2008, 2012, MAPA 2017). No atendimento ambulatorial de doença de Chagas no HUIBB, demonstramos que no grupo de 102 pacientes com DCA atendidos no HUIBB no período estudado, Abaetetuba (26,5%) foi o município com maior número de casos. Algumas hipóteses podem estar relacionadas como, ser um dos municípios de maior produção de açaí, com predomínio de moradias construídas com madeira e telha em área rural, localizadas próximo à mata em áreas de várzea, regiões próximas de rios (ilhas). Outros fatores podem estar associados como, o consumo de carne de caça de animais silvestres (pacas, tatus e gambás), prática constatada principalmente em populações rurais da região (dos Santos 2013).

De acordo com o Boletim epidemiológico divulgado pelo Ministério da saúde (2015), no período de 2000 a 2013 foram confirmados 812 casos por transmissão oral da doença de Chagas no Estado do Pará. Esse valor parece estar subestimado ou sugere uma inconsistência de informações, pois nos registros do SINAN estadual, neste mesmo período foram confirmados 851 casos por via oral no Pará. É interessante ressaltar que segundo o SINAN Estadual os registros de infecção oral só ocorrem a partir de 2007 no Pará. Enquanto que, nos registros computados por SINAN/Brasília, no período de 1996 a 1999 (período não disponibilizado pelo SINAN estadual) foram confirmados 75 casos de infecção oral, e de 2000 a 2001 (período disponibilizado pelo SINAN Estadual, sem registro de casos por via oral) foram registrados 50 casos confirmados de infecção por via oral. Essa divergência de registro entre o SINAN Estadual e o SINAN/Brasília, pode indicar uma subnotificação da doença por esse sistema. Hipóteses levantadas para essa diferença podem estar relacionadas a fatores como a falta de experiência e capacitação dos técnicos responsáveis pelo abastecimento do banco de dados, erros de preenchimento na confirmação dos casos e falhas no envio das informações (Laguardia *et al.*, 2004). Ressaltamos que as informações registradas no SINAN devem orientar e estabelecer prioridades das ações de controle da DCA no país (Brasil 2007). Essa análise aponta para a necessidade de uma avaliação sistemática da qualidade da informação coletada e digitada desde o primeiro nível hierárquico de entrada de dados no sistema até sua chegada ao nível federal.

Em relação ao perfil dos pacientes, quanto à idade e gênero dos indivíduos os adultos do sexo masculino foram mais acometidos. Essa incidência em faixas etárias adulta vem sendo observado em estudos anteriores na Amazônia (Pinto *et al.*, 2008; Valente 2011) e pode ser um achado eventual no caso de transmissão oral, já que envolve o consumo alimentar cotidiano sem distinção de gênero e faixa etária. Essa realidade é diferente em relatos da doença de Chagas aguda por via vetorial em área endêmica, com registros da doença muito frequentemente em crianças, pela estreita relação com a atividade vetorial de facilidade de sucção encontrada pelos insetos transmissores na pele mais delicada e sensível ao repasto (Dias 1982; Laranja *et al.*, 1951). Nos relatos de Bambuí (Minas Gerais), por exemplo, em 100 casos agudos registrados foram encontrados: 43 casos em menores de cinco anos, 34 em crianças de seis a dez anos e 18 em pessoas entre 11 e 20 anos. Em maiores de 21 anos, apenas cinco ocorrências foram registradas (Laranja *et al.*, 1951). Nos últimos dez anos avaliados pelas fichas do SINAN Estadual a faixa etária de 0-17anos representou apenas 19%, enquanto que faixa de 18-40 anos representou 69%

do número de casos. Na análise de pacientes atendidos no HUIBB, a faixa de 18 a 50 anos foi a mais acometida com 71,6%. O sexo mais acometido também foi o masculino com 55%.

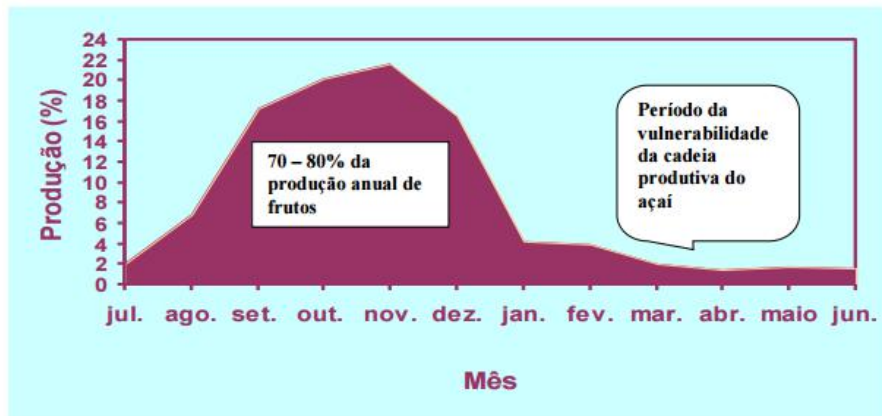
No período de estudo do SINAN, a forma de transmissão mais prevalente foi decorrente de transmissão oral (74,3%). Esses registros de infecção oral só ocorrem a partir de 2007, o que sugere uma subnotificação no sistema. Detectamos que essa informação não é similar aos registros do MS, que apresenta registros de casos por infecção oral desde 1996 no Estado do Pará, contabilizando de 1996 a 2001 um total de 91 casos, sem registro de casos oral somente no ano de 1997. Dessa forma, salientamos o quanto é fundamental a boa comunicação entre as três esferas de hierarquia para uma integração nos registros sobre a situação epidemiológica da DCA. O nível municipal, onde os eventos acontecem e os dados são coletados, deve aprimorar os dados, processar (digitar), e encaminhar, posteriormente, ao nível estadual que, por sua vez, deverá os encaminhar para o nível federal, para comporem o quadro geral de informações no território brasileiro (Brasil 2008; Coeli *et al.*, 2009). Os estudos com base de dados do SINAN são importantes para que os gestores dos sistemas tomem conhecimento dos resultados alcançados, que podem sugerir onde devem ser priorizados os esforços para o aprimoramento da qualidade dos dados e para destacar as melhorias alcançadas com os esforços realizados (Pérez *et al.*, 2006; Brasil 2007; Lima *et al.*, 2009). Nos pacientes atendidos no HUIBB a via de transmissão oral foi associada a 100% dos casos, com envolvimento de alimento contaminado por *T. cruzi*, apresentando vínculo multifamiliar, relação espaço-temporal de proximidade e com relato que compartilharam de um mesmo alimento em comum.

Na investigação do inquérito epidemiológico sobre o consumo alimentar desses pacientes atendidos no HUIBB, foi observado principalmente o envolvimento do açaí e bacaba, como alimentos presentes na dieta. O consumo do açaí de forma artesanal foi relatado em 98% (pacientes responderam consumir açaí na sua rotina diária no almoço e/ou jantar) nos dezenove municípios participantes do estudo, e em 64,7% dos pacientes do estudo relataram que também consomem a bacaba (Tabela 5). A contaminação do fruto do açaí e da bacaba suspeita-se acontecer no momento em que ocorre o despulpamento em máquina (dispositivo de processamento de alimentos), sendo triturado com as fezes do vetor ou com o próprio triatomíneo infectado pelo *T. cruzi* (Valente *et al.*, 2008; dos Santos, 2013; Sangenis *et al.*, 2016). Dentre outros alimentos como provável fonte de infecção relatado, procedentes principalmente da região do município de Abaetetuba e da mesorregião do Marajó, envolvendo fatores culturais e de

paladar da região (apreciado principalmente pelas comunidades rurais), está o consumo de carne de animais silvestres (carne de caça), como capivara, paca, tatu (*Dasyopus novemcinctus* – tatu galinha) e uma espécie de gambá comum na região, a mucura (*Didelphis marsupialis*) (Mascarenhas *et al.*, 2001).

Ao analisarmos a distribuição dos casos no período estudado tanto referente ao SINAN Estadual quanto aos pacientes atendidos no HUIBB, foi predominantemente nos meses mais quentes na região, de julho a dezembro, caracterizando o padrão sazonal da doença. A explicação para esta incidência pode ter relação com a maior atividade vetorial durante esses meses mais quentes, já estudados em áreas onde há insetos domiciliados. Estudos observaram que no interior da floresta há uma maior produtividade de triatomíneos, com aumento da atividade de voo vetorial nos meses mais quentes e mais secos, no segundo semestre do ano, sendo os gêneros mais frequentes: *Panstrongylus* e *Rhodnius* (Castro *et al.*, 2010). Apesar de a transmissão estar ocorrendo mais frequentemente por via oral, é preciso que haja a presença vetorial ou de um mamífero infectado muito próxima do homem, para que a transmissão aconteça (Laranja *et al.*, 1956; Dias, 1982); também pode estar relacionado com o período de maior produção do fruto da palmeira do açaí (*Euterpe oleracea*), que se concentra no segundo semestre do ano, com maiores produções nos meses de setembro, outubro, novembro e dezembro (Figura 47). O Estado do Pará apresenta uma cadeia produtiva de açaí com aproximadamente 300 mil pessoas envolvidas, chegando a serem comercializados diariamente em Belém, no período da safra do fruto, 471.212 litros de açaí, em cerca de 3.000 pontos de vendas (Rogez, 2000; Santana *et al.*, 2008, 2012). Essa distribuição temporal observada corrobora com resultados já apresentados por Pinto e colaboradores (2008) e Santos (2013). Esse padrão de sazonalidade pode estar passando por alterações, pois no ano de 2016 se observou uma característica nova com relação à sazonalidade da DCA no estado, com aumento discreto no primeiro semestre do ano (janeiro e fevereiro), com tendência ascendente e outro aumento de maior amplitude a partir do mês de julho, com picos nos meses de agosto e outubro, segundo registros do SINAN Estadual.





**Figura 47- Distribuição da produção de frutos do açazeiro no Estado do Pará. Fonte: Secretaria de Estado da Agricultura (SAGRI), 2015.**

Ao avaliarmos a domiciliação dos vetores nos registros do SINAN estadual observamos que o maior percentual de casos confirmados é sem a presença de vestígios de triatomíneos intradomiciliares, mostrando que não há domiciliação dos triatomíneos, podendo ser encontrado esporadicamente em domicílios. De forma que, segundo registro do SINAN, no período estudado (2000-2016) não foi registrado presença de ninfas de triatomíneos nos domicílios. As espécies que estão relacionadas à transmissão da doença de Chagas, em zonas rurais e peri-urbanas da Amazônia, são os triatomíneos *R. robustus*, *R. pictipes* e *P. geniculatus*. Devido algumas condições favoráveis existentes nas palmeiras locais e um ecossistema diversificado, com diversas fontes alimentares, pode levar os triatomíneos a se manterem em seus ecótopos. Estudos demonstram que o desmatamento altera os padrões climáticos da região, fazendo com que a transmissão de doenças transmitidas por vetores se associe com as mudanças da cobertura vegetal (Dias, 2011). De 2010 até 2014 aproximadamente 28.892 km<sup>2</sup> foram desmatados na Amazônia Legal. Neste mesmo período, o estado do Pará foi o estado com o maior índice de desmatamento no Brasil com cerca de 10 km<sup>2</sup> (Brasil 2016). De forma que, a domiciliação dos vetores da doença de Chagas depende fundamentalmente da ação do homem sobre o ambiente natural, pois devido à falta de alimento nesse ambiente natural causada pelo desmatamento de florestas primárias, aumenta o risco de invasão, colonização e de transmissão doméstica nos domicílios por triatomíneos, associado às características de serem atraídos pela luz, emissão de gás carbônico, radiação e odores humanos e assim adentram nos domicílios (Póvoa *et al.*, 1984; Valente *et al.*, 1999; Castro *et al.*, 2010; Aguiar *et al.*, 2013).

Observou-se nos registros do SINAN Estadual, ao analisar o percentual de notificação versus confirmação que os municípios com maior número de casos notificados apresentam um percentual baixo de confirmação em relação à notificação (Tabela 2). Essa diferença significativa entre os notificados e confirmados sugerem algumas hipóteses, como: maior atuação do programa de doença de Chagas estadual desde a sua implantação, através de campanhas de divulgação, capacitação de batedores pela vigilância sanitária que tem alertado para os riscos da contaminação oral por meio do açaí, sugerindo uma maior procura da população com relação à investigação da doença. A outra hipótese é a falta de permanência de profissionais treinados nos municípios que pode está dificultando a identificação do parasito no diagnóstico laboratorial. |

Quanto às condições de moradia de pacientes atendidos no HUIBB, houve predomínio de moradias construídas em alvenaria e madeira e telha. Essa realidade é diferente da descrição feita da doença de Chagas aguda na sua descoberta, em área endêmica que era constituída, essencialmente, por moradores de áreas rurais, submetidos a condições precárias de higiene e moradia e que os triatomíneos contaminados eram encontrados em lugares escuros em casas de taipa (construções de pau-a-pique barreadas), capim ou palha (Laranja *et al.*, 1951).

Com relação ao tempo decorrido entre os primeiros sintomas e a data de início do tratamento de pacientes atendidos no HUIBB, observamos que na maioria dos casos não ocorre o diagnóstico precoce. Segundo relato de alguns pacientes, a maior suspeita quando chegavam para atendimento com histórico de febre era dengue. Também houve relato de supeita de doença renal devido o quadro de febre, edema de face e membros inferiores. Relatos que revelam que os profissionais da área de saúde precisam ter o conhecimento da realidade epidemiológica no Estado e sejam capacitados, para ficarem atentos na investigação dos pacientes com sintomas da doença, principalmente nos municípios que ocorrem o maior número de casos. Nesse contexto, o diagnóstico tardio pode aumentar o risco de morbimortalidade dos pacientes principalmente pelo comprometimento cardíaco (miocardite chagásica aguda) (Pinto *et al.*, 2008; Souza e Povia 2016).

De acordo com o tempo de tratamento de pacientes atendidos no HUIBB, 37,3% estavam sem tratamento e 41,2% dos pacientes estavam em até sete dias de tratamento. O tratamento com Bz atua na formação de radicais nitroaniônicos que são responsáveis pela atividade anti- *T. cruzi* por formarem ligações covalentes com DNA, RNA e proteínas do parasito. Nesse sentido, reduz os níveis de parasitemia e protegem contra as alterações cardíacas (Andrade *et al.*, 2013).

Marcondes e colaboradores, (2000) demonstraram em modelo animal que as alterações medulares, como trombocitopenia, leucopenia foram normalizadas com a precocidade do tratamento. Pedrosa e colaboradores, (2001) demonstraram que hepatócitos de ratos tratados com Bz, sofrem um estresse oxidativo, proporcional ao tempo do tratamento.

A análise das manifestações clínicas encontradas corrobora com outros trabalhos realizados na mesma região e em outras regiões em estudos com DCA. Nos registros do SINAN os sinais de porta de entrada da via vetorial (sinal de Romanã e o chagoma de inoculação) que resulta da reação focal do organismo às primeiras fases da invasão e multiplicação do flagelado (Amato Neto *et al.*, 1997; Rassi *et al.*, 2000), esteve presente somente o chagoma de inoculação em apenas 1-2% dos registros. O sinal de Romanã não esteve presente nos registros. Na Amazônia os sinais sugestivos de porta de entrada são considerados de ocorrência rara e de forma relevante, pois os indivíduos que manifestam esse sinal não pertencem a surtos (Pinto *et al.*, 2008). Na descrição clínica da doença de Chagas na fase aguda entre 1940 e 1982, em Bambuí, foram relatados alguns sintomas semelhantes. Na fase aguda em infecção sob a forma de surto no Pará apresentou como sinal mais frequente a febre. O edema de face e membros inferiores foi um dos sinais clínicos que mais chamou atenção, estando associado à infecção por via oral (Dias 1982, Pinto *et al.*, 2008, Shikanai-Yasuda e Carvalho 2012, de Noya 2015, Souza e Povia 2016). De acordo com a avaliação eletrocardiográfica de pacientes atendidos no HUIBB baseada nos registros em prontuário, em 84,3% foi observada a presença de alterações difusas da repolarização ventricular (ADRV). Este achado já foi evidenciado em outros estudos como, em 233 casos de DCA oriundos do Pará, Amapá e Maranhão na fase aguda da doença de Chagas e na avaliação de 161 pacientes consecutivos em atendimento ambulatorial com DCA (Pinto *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2016). A alteração eletrocardiográfica ADRV apesar de ser inespecífica, tem sido evidente nos pacientes na fase aguda da doença de Chagas, representando uma alteração na contratilidade, com envolvimento do sistema de condução cardíaco. As manifestações clínicas graves durante a DCA são principalmente em consequência do comprometimento cardíaco (Rassi *et al.*, 2000; Pinto *et al.*, 2010; Souza e Povia, 2016). Nesse sentido, destaca-se na abordagem de caso em área endêmica apresentando febre a necessidade de realização do eletrocardiograma no acompanhamento clínico, podendo auxiliar na detecção precoce da doença de Chagas aguda. A tabela comparando a ocorrência de sinais e sintomas em estudos na fase aguda da doença de Chagas na Amazônia e em Bambuí (Tabela 9) demonstrou similaridade em algumas manifestações clínicas nos diferentes estudos. Os estudos realizados na Amazônia foram

associados à DCA por transmissão oral, enquanto que o estudo de Bambuí esteve associado à transmissão vetorial, sendo observado somente nesses pacientes os sinais de porta de entrada (67,4%). Febre, astenia, cefaleia e mialgia estão entre os principais sinais e sintomas apresentados pelos pacientes de uma forma geral (Dias 1982; Pinto *et al.*, 2008; Sedlacek *et al.*, 2016). É importante chamar a atenção para presença de edema de face/membros que foi um sintoma relatado bem característico de fase aguda. No estudo em Bambuí (Dias 1982) a ocorrência de edema generalizado foi de 62,9% dos casos não fatais e 85% dos que vieram a falecer na fase aguda da doença de Chagas. As manifestações hemorrágicas (epistaxe, hemorragias digestivas) também foram evidenciadas tanto nos estudos da Amazônia por via oral como em Bambuí por via vetorial. Segundo o último consenso em doença de Chagas (2015), tem sido registrado em casos graves, manifestações hemorrágicas digestivas associadas à transmissão oral (Dias *et al.*, 2016). No surto de 24 casos agudos ocorrido em Santa Catarina, em fevereiro de 2005, dois pacientes também apresentaram hemorragia digestiva seguida de óbito, semelhante ao ocorrido na Amazônia (SVS, 2005). Em recente (fevereiro de 2015) surto por ingestão de alimentos contaminados na Venezuela, entre os sintomas, relatou-se a ocorrência de edema de face, trombocitopenia e taquicardia (Noya *et al.*, 2017). Outros sintomas como taquicardia/arritmia, e hepatomegalia também foram evidentes nos estudos principalmente nos pacientes em Bambuí, acompanhado de dispneia e tosse (Dias 1982; Pinto *et al.*, 2008). Linfadenopatia (89,8%), cardiomegalia, hipotensão arterial, disfagia e alterações da tireoide foram sintomas observados somente nos pacientes em Bambuí (Dias 1982). No primeiro surto relatado de doença de Chagas de provável transmissão oral, em Teutônia (RS), linfadenopatia também foi observado em 50% dos casos, sendo discutível se esse sintoma está relacionado ao parasita, à via de transmissão ou a outros fatores como reação adversa ao Benzonidazol (reações de hipersensibilidade) (Brasil 2005). É importante destacar que no estudo em Bambuí em 1982, foram relatados 69 casos (22,8%) sem porta de entrada. Desses casos verificou-se que houve uma significativa predominância de casos fatais (42,3% de óbitos), não sendo encontrada referência específica na literatura para tal fato (Dias, 1982). A necropsia de casos agudos da doença de Chagas evidenciou encefalite chagásica aguda, com presença de parasitos, infiltrados inflamatórios e focos hemorrágicos ao nível do sistema nervoso central (Dias, 1982; Crowell 1923).

A análise no SINAN Estadual em relação ao número de óbitos permitiu identificar um total de 48 óbitos no período estudado, com taxa de letalidade de 2%, o que corrobora com a letalidade de 2.13% estimada para a Região Amazônica, decorrente de surtos orais (Valente

2011). Chama a atenção que 53,3% dos óbitos foram associados a transmissão por via de infecção oral no SINAN, inclusive o pico que ocorreu em 2016. Um dos prováveis motivos pode ser atribuído ao diagnóstico tardio da infecção e ao comprometimento cardíaco, entre eles miocardite chagásica aguda. Nesse sentido, o diagnóstico precoce e o pronto tratamento podem alterar o curso clínico dessa doença (Pinto *et al.*, 2008, Dias *et al.*, 2016; Souza e Povoá 2016).

No presente estudo demonstramos que está havendo aumento do número de casos ao longo dos anos, mesmo com a grande diferença entre os casos notificados e os casos confirmados de ACD. Nesse sentido, torna-se um desafio para saúde pública, sendo imprescindível agilidade no diagnóstico precoce de DCA, com notificação do caso e a realização de inquérito epidemiológico que possibilitem estabelecer os reais fatores de risco. É fundamental, que os profissionais de saúde entendam que a ausência de registros referentes aos exames laboratoriais específicos para DCA e o preenchimento inadequado da ficha de notificação e investigação compromete o encerramento dos casos. A obtenção de dados com qualidade é condição essencial para que o sistema de saúde detecte falhas e formule propostas de intervenção de efetivo controle do agravo. É relevante identificar as ferramentas adequadas para garantir que as informações utilizadas pelos gestores possibilitem a definição de políticas públicas e planejamento de ações de maneira que os dados do SINAN forneçam informações próximas à realidade vivida pela população, como instrumento de apoio ao planejamento das ações de controle.

Baseado no aumento do número de casos, mostrados ao longo dos 16 anos, que pode ser devido ao crescimento populacional ou outro fator de risco atribuído ao consumo de alimentos contaminados com formas tripomastigotas metacíclicas de *T. cruzi*, sugerimos que medidas de prevenção e controle já estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Vigilância Sanitária Estadual sejam intensificadas de forma urgente, principalmente nos municípios que vem notificando todos os anos casos de DCA. Segundo Decreto N° 326, 20/01/2012 que estabelece os procedimentos de boas práticas para a manipulação do açaí e as recomendações da Secretaria de Vigilância em Saúde para a prevenção, controle e manejo clínico dos casos de contaminação por via oral, uma das estratégias eficazes é a do “branqueamento” do açaí que consiste no choque térmico (Fellows 2006). Sob esse enfoque, ressaltamos dentre as diversas medidas de prevenção e controle para intensificação imediata no Estado do Pará: as boas práticas agrícolas pelos extrativistas e produtores, para proteger o açaí da contaminação durante a produção primária; o “branqueamento” dos frutos como prática rotineira de controle de qualidade

do açaí consumido de forma artesanal pela população no Pará, uma vez que o industrializado tem a polpa pasteurizada (ANVISA 2008). Além da intensificação do diagnóstico clínico diferencial com outras patologias regionais, evitando o grande número de notificações sem confirmação diagnóstica.

No presente trabalho, avaliamos mediante dosagens laboratoriais de pacientes atendidos no HUIBB, no período de outubro/2013 a fevereiro/2016, sobretudo o acometimento hepático e distúrbios da coagulação na DCA no contexto da via oral. Dentre as enzimas hepáticas avaliadas, observamos que os valores de ALT e AST estão significativamente mais elevados nos pacientes com DCA por via oral em relação aos controles (Figura 16). De forma que, acometimento no tecido hepático, pode estar ocorrendo relacionado à parasitemia. Esses resultados corroboram o estudo em modelo animal que mostram lesões hepáticas mais graves nos animais infectados por via oral, acompanhadas por maiores níveis séricos de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) (Barreto-de-Albuquerque *et al.*, 2015). O aumento do nível sérico de AST ocorre em injúria aguda cardíaca como infarto agudo do miocárdio, não sendo considerada uma enzima hepato-específica (Stryer, 2004). Enquanto que, ALT tem maiores concentrações no citoplasma dos hepatócitos. Na hepatite viral aguda, os níveis de ALT são geralmente superiores aos AST, de forma que, o aumento nos níveis séricos de ALT é, portanto, mais específico para lesão hepática (Rej 1989; Giannini *et al.*, 2005). Os resultados observados neste trabalho sugerem que a infecção pelo *T. cruzi* favorece a lesão hepática, se comparado aos controles.

Os resultados de ALT e AST no presente estudo, em relação ao sexo mostraram que as mulheres são mais acometidas, com níveis mais elevados das aminotransferases quando comparados aos controles (Figura 17). Estudos em experimento animal também demonstram que as concentrações do receptor de estrogênio no fígado diferem entre os sexos, e o estrogênio parece ativar através das endotoxinas as células de Kupffer do fígado, podendo contribuir com o fato das mulheres estarem mais propensas a apresentar hepatotoxicidade induzida por drogas (medicamentos, álcool, toxinas) (Thurman, 1998; Colantoni *et al.*, 2002; Guy e Peters, 2013).

Ao correlacionarmos os níveis de ALT/AST com a presença de ADRV e sintomas (Figura 18) evidenciamos que os pacientes com ADRV apresentam níveis mais elevados de ALT. Nas mulheres a presença de ADRV e edema estão associados a níveis aumentados de ALT/AST em relação ao grupo controle (Figura 19), que podem estar relacionados aos mecanismos inflamatórios e a gravidade da doença nesses pacientes. O edema é considerado uma

manifestação clínica de gravidade relacionado à patologia frequentemente cardíaca, renal ou hepática. Em estudo em modelo experimental de indução endovenosa de sepse foi observado aumento acentuado das dosagens das aminotransferases nos grupos inoculados em relação ao grupo controle associado a maior gravidade, com morte em sete dias e alterações histopatológicas de congestão, hemorragia, edema e necrose no fígado (Lima *et al.*, 2011).

Os pacientes em tratamento com Bz e não tratados apresentam valores estatisticamente elevados dos níveis séricos de ALT em relação aos controles (Figura 20), o que pode ser em decorrência da parasitemia pelo *T. cruzi* (Barreto-de-Albuquerque *et al.*, 2015), assim como do efeito hepatotóxico do Bz (Pedrosa *et al.*, 2001). Contudo, ao correlacionar ALT/AST com o sexo e o tratamento (Figura 21), verificamos que somente os pacientes do sexo feminino em tratamento com Bz apresentam valores significativamente mais elevados de ALT/AST em relação aos controles, o que pode estar relacionado à hepatotoxicidade que este fármaco induz, tal como demonstrado por Pedrosa e colaboradores (2001) em estudo experimental com animais tratados com Bz.

As alterações da função hepática já são relatadas, mesmo no quadro não complicado de doenças como, na dengue, malária, leishmaniose, com resultados semelhantes relacionados à infecção pelos patógenos (Alexandre *et al.*, 2010; Mendonça *et al.*, 2013; Souza *et al.*, 2004), assim como ao tratamento a patologia (Nguyen *et al.*, 1997; Samanta e Sharma, 2015; Pastorino *et al.*, 2002).

Neste trabalho, também avaliamos os fatores de coagulação de pacientes no contexto da DCA por via oral atendidos no HUIBB (Outubro/2013 a fevereiro/2016). O desequilíbrio entre os fatores pró e antitrombóticos sintetizados pelo fígado, podem ocasionar nos pacientes sangramentos graves ou mesmo complicações trombóticas (Hollestelle *et al.*, 2004; Tripodi e Mannucci, 2011)

O fator V fisiologicamente é ativado pela trombina originando o fator V ativado (FVa). O FVa atua como co-fator do fator Xa, formando o complexo responsável pela ativação de protrombina, contribuindo para formação do coágulo de fibrina (Bozzini, 2004; Guyton e Hall, 2017). Redondo e colaboradores (1999) em estudo com 200 pacientes pós-infarto do miocárdio e 100 controles demonstraram que altos níveis plasmáticos do fator V e do fator VII estão associados de forma independente a maior risco de infarto do miocárdio, evidenciando uma

correlação entre esses fatores e a doença coronariana. Tripodi (2003) em seu estudo não evidenciou correlação entre níveis elevados de FV como fator de risco para tromboembolismo venoso. Tapson (2005) observou potencial mecanismo pró-coagulante em pacientes com elevados níveis de FV associado ao tabagismo. De forma que, as consequências do aumento de FV não estão bem esclarecidas. No presente estudo foi observado aumento do nível sérico de FV nas mulheres (Figura 23) em relação aos controles.

As mulheres com ADRV e edema (Figura 25) apresentaram níveis elevados de FV em relação aos controles, apesar do acometimento hepático já mostrado nos resultados de aminotransferases. Uma explicação para esse fato é que o fator V, além da sua produção no fígado também é liberado pelos grânulos alfa das plaquetas em resposta a ativação plaquetária, sendo liberado parcialmente ativado no local da lesão. Essa ativação das plaquetas pode ocorrer pela interação do patógeno às plaquetas circulantes. Essa interação já foi encontrada na hepatite aguda ou crônica com ação do vírus nas plaquetas, podendo ocasionar um quadro grave de trombocitopenia (Lisman e Leebeek, 2007). O fator V também apresenta maior meia vida (12-36 horas) em relação aos outros fatores (FVII 4-6h e FVIII 12h) (Joist e George, 2001; Lisman e Leebeek, 2007). Dessa forma, na DCA por via oral pode estar acontecendo um processo semelhante, nas pacientes com ADRV e edema.

Quando avaliamos o FV frente ao tratamento, observamos que as mulheres com DCA sem tratamento com Bz apresentaram níveis elevados de FV em relação aos controles (figura 28), sugerindo que esse resultado seja relacionado à infecção pelo *T. cruzi*.

Fisiologicamente o fator VII é fundamental no início do processo da coagulação pela via extrínseca (Bozzini, 2004; Guyton e Hall, 2017). O FT forma um complexo com FVII (FT/FVIIa), desencadeando a coagulação sanguínea convertendo o fator X para sua forma ativa (fator Xa). Os níveis séricos de FVII nos pacientes estão significativamente mais baixos quando comparados aos respectivos controles (Figura 28), principalmente nos homens com ADRV e edema (Figura 29). Níveis reduzidos de FVII podem estar relacionados a eventos trombóticos e/ou desordens hemorrágicas (Avila-Aguero *et al.*, 2004). Estudos demonstram que em doenças como sepse, ebola, dengue, HIV, há aumento da expressão da proteína pró-coagulante FT por monócitos, macrófagos e conseqüentemente maior consumo do FVII nesses pacientes (Levi *et al.*, 2004; Kurane, 2007; Thomas e Augustin, 2009; Levi e van, 2010; de Azeredo *et al.*, 2010; Baker *et al.*, 2013). Em estudo com pacientes com câncer de pulmão foi mostrado maior risco de trombose,



com expressão aumentada de FT, associado à citocinas pró-inflamatórias, ativação da cascata da coagulação, progressão tumoral, complicações pró-trombóticas, resultando em um mau prognóstico (de Meis *et al.*, 2009). Nas neoplasias, as células malignas, as citocinas pró-inflamatórias em resposta imunológica antitumoral, estimulam células endoteliais e células circulantes (monócitos) a expressarem o FT, assim como as microvesículas circulantes liberadas pelo tumor também expressam FT, que podem levar à ativação da cascata de coagulação sanguínea (FT/FVII), com conseqüente formação de trombos (trombose) no interior dos vasos sanguíneos e/ou desordens hemorrágicas (Zwicker, Furie e Furie 2007; de Meis *et al.*, 2010).

Quanto à quantificação do FVII em relação ao tratamento observamos níveis reduzidos nos homens em tratamento com Bz (Figura 33) em relação aos controles, podendo ser explicado por algum efeito do Benzonidazol. Bustamante e colaboradores (2008) demonstraram que na fase crônica da doença de Chagas o tratamento com benzonidazol pode afetar a regulação imunológica do hospedeiro com aumento das citocinas pró-inflamatórias, aumentando a expressão de FT, que forma o complexo FV/FVII.

Fisiologicamente o fator VIIIa forma um complexo com o fator IXa que ativa o fator X da via comum da cascata da coagulação (Bozzini, 2004; Guyton e Hall, 2017). Nossos resultados mostram níveis elevados de fator VIII nos homens com ADRV e sintomas quando comparados aos controles (Figuras 35 e 37), sugerindo que estes pacientes apresentam maior risco de formação de trombos. Fato este não observado nas mulheres, o que pode estar relacionado ao acometimento hepático. Tripodi (2003) em seu estudo evidenciou correlação entre níveis elevados de FVIII como fator de risco para tromboembolismo venoso. Na infecção pelo HIV, em estudo com pacientes, foi observado que a replicação do HIV aumenta o potencial de coagulação, com aumento da expressão de fator VIII e diminuição dos níveis dos reguladores naturais da coagulação, como por exemplo, da proteína C ativada (APC). Esse aumento da ativação da cascata da coagulação aumenta o risco de eventos trombóticos venosos e arteriais nesses pacientes (Baker *et al.*, 2013). Em pacientes com dengue com ou sem sangramento, já foi mostrado níveis elevados de FVIII, associado a agregação plaquetária (de Azeredo *et al.*, 2015; Brummel-Ziedins e Wolberg, 2014). Quando avaliamos o fator VIII frente ao tratamento com Bz foi observado elevados níveis nos homens em tratamento com Bz (Figura 39), que pode estar relacionado a efeitos durante o tratamento com Benzonidazol (Pinazo *et al.*, 2010).

A proteína C é ativada pela trombina (trombomodulina - trombina) associada ao cofator (proteína S), gerando a proteína C ativada (APC), que tem propriedades anticoagulantes, catalisando a degradação dos fatores Va e VIIIa, apresentando um papel essencial na regulação da cascata da coagulação (Bozzini, 2004; Guyton e Hall, 2017). No presente estudo, observamos que os nossos resultados mostram níveis de APC mais elevados nas mulheres quando comparados aos controles (Figura 41). Desta forma, sugere-se que o aumento de APC esteja ocorrendo como resposta fisiológica no sentido de regular o processo da coagulação na doença, especialmente nas mulheres, nas quais o acometimento hepático está presente, com base na elevação verificada nas aminotransferases. Na dengue foi demonstrado que o aumento da ativação da proteína C possa contribuir para amenizar as complicações hemorrágicas (Lin *et al.*, 2011).

Evidenciamos que nas mulheres com presença de ADRV e edema os níveis de APC estão mais elevados em relação aos controles (Figura 43). Esse achado pode estar relacionado ao que já foi verificado em doenças inflamatórias como a sepse, na qual a APC foi associada ao aumento de células T reguladoras e à produção de IL-10, tendo ação antiinflamatória e moduladora da cascata da coagulação (Levi e Van, 2010).

Ao avaliar os níveis de APC frente ao tratamento, foi observado que as mulheres em tratamento com Bz apresentam níveis mais elevados da APC em relação aos controles (Figura 45). Este resultado pode estar relacionado à atividade tripanossomicida do Benzonidazol (Bustamante *et al.*, 2008).

A hemostasia depende do equilíbrio entre os processos de coagulação e fibrinólise. Desordens na coagulação com ativação excessiva de fatores da coagulação e fibrinolíticos pode levar a uma complicação hemostática que é a coagulação intravascular disseminada (CID). Essa desordem resulta de interações entre as vias da coagulação e o processo inflamatório. Os mecanismos responsáveis pela hiperatividade dos fatores da coagulação até ao seu esgotamento, atividade descontrolada da trombina, destruição das plaquetas e ativação da fibrinólise, que desencadeiam a CID são: o aumento da expressão de FT, a lesão generalizada do endotélio, o aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias e o aumento dos níveis dos fatores de coagulação (Rusell, 2006; Rahman *et al.*, 2011). Estudos descrevem a ocorrência de CID em doenças com processos inflamatórios agudo, com aumento de citocinas pró-inflamatórias como, na sepse (uma das infecções que mais ocorre CID), no ebola, na febre hemorrágica da dengue, em

patologias oncológicas, doenças com comprometimento hepático grave (cirrose, hepatites). Os achados laboratoriais da CID podem ser extremamente variáveis, complexos e de difícil interpretação (Mike e Siddhartha, 2003; Levi *et al.*, 2004; Rusell, 2006). Nossos resultados na DCA por via oral sugerem desordens no perfil da coagulação, com alterações nos níveis dos fatores de coagulação.

## 6. CONCLUSÕES

No presente estudo salientamos o aumento do número de casos da DCA no Estado no Pará, no período de 2000 a 2016. Nas análises laboratoriais, observamos quadro sugestivo de acometimento hepático e de distúrbios da hemostasia associados à DCA.

- A doença de Chagas aguda se mostra presente no período de 2000 a 2016 nos registros do SINAN Estadual, com aumento progressivo nos casos, principalmente associados à transmissão oral. Nesse sentido, salientamos que campanhas de prevenção devem ser intensificadas no Estado do Pará.

No estudo com pacientes no contexto da DCA por via oral atendidos no HUIBB (Outubro/2013 a fevereiro/2016) demonstramos:

- Níveis elevados das aminotransferases nos pacientes, particularmente nas mulheres, podem estar correlacionados ao acometimento hepático.
- Níveis elevados de fatores V, VIII e baixos níveis do fator VII que pode levar a desordens na hemostasia nos pacientes com DCA por via oral, sugerindo a participação destes fatores de coagulação na patogênese da doença de Chagas aguda.
- Níveis da APC mais elevados nos pacientes com DCA, quando comparado aos controles, pode representar uma necessidade maior na regulação do processo hemostático.
- Não encontramos na literatura outros estudos que avaliassem o perfil da coagulação de pacientes com DCA. É importante ressaltar para a necessidade de investigação de manifestações hemorrágicas de qualquer natureza (digestiva, urinária, nasal, gengival, genital, conjuntival, petéquias, hematomas) enfatizando sua importância nos pacientes com DCA.

## **7. PERSPECTIVAS**

Estudar mediadores inflamatórios em pacientes infectados por DCA, pois há evidências de correlação entre o processo inflamatório e o processo da coagulação.

Analisar a expressão do FT e ensaios de tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcialmente ativada (TTPa) para avaliar possíveis desordens na coagulação.

## 8. Referências Bibliográficas.

- Abad-Franch F, Ferraz G, Campos C, Palomeque FS, Grijalva MJ, Aguilar HM, Miles MA. Modeling disease vector occurrence when detection is imperfect: infestation of Amazonian palm trees by triatomine bugs at three spatial scales. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2010;2,4(3):e620.
- Aguiar F, Menezes V, Rogez H. Spontaneous postharvest fermentation of açai (*Euterpe oleracea*) fruit. *Post. Biol.and Tec.* 2013; 86:294-299.
- Alarcón de Noya B, Diaz-Bello Z, Colmenares C, Ruiz-Guevara R, Mauriello L, Zavala-Jaspe R, Suarez JS, Abate T, Naranjo L, Paiva M, Rivas L, Castro J, Márques J, Mendonza I, Acquatella H, Torres J, Noya O. Large Urban Outbreak of Orally Acquired Acute Chagas Disease at a School in Caracas, Venezuela. *Journal of Infect. Dis.* 2010;201(9):1308–1315
- Alexandre MA, Ferreira CO, Siqueira AM, Magalhães BL, Mourão MP, Lacerda MVG, Alecrim MGC. Severe *Plasmodium vivax* malaria, Brazilian Amazon. *Emerg Infect Dis.* 16(10): 1611-1614, 2010.
- Amato Neto V, Shikanai Yasuda MA, Amato VS. Doença de Chagas Aguda. In: Dias JCP e Coura JR; ed. *Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas. Uma abordagem prática para o clínico geral.* Fundação Oswaldo Cruz. 1997: 485.
- Andrade MC, Oliveira Mde F, Nagao-Dias AT, Coêlho IC, Cândido Dda S, Freitas EC, Coelho HL, Bezerra FS. Clinical and serological evolution in chronic Chagas disease patients in a 4- year pharmacotherapy follow-up: a preliminary study. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2013; 46(6):776-8.
- Andrade Z. Immunopathology of Chags disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1999;94 (Suppl I): 71-80.
- Avila-Aguero ML, Avila-Aguero CR, Um SL, Soriano-Fallas A, Canas-Coto A, Yan SB. Systemic host inflammatory and coagulation response in the Dengue vírus primo-infection. *Cytokine.* 2004.;27(6):173-9.
- Baker JV, Brummel-Ziedins K, Neuhaus J, Duprez D, Cummins N, Dalmau D, DeHovitz J, Lehmann C, Sullivan A, Woolley I, Kuller L, Neaton JD, Tracy RP. HIV Replication Alters the

Composition of Extrinsic Pathway Coagulation Factors and Increases Thrombin Generation. *J Am Heart Assoc.* 2013;2(4): e000264.

Bandyopadhyay S, Lum LC, Kroeger A. Classifying dengue: a review of the difficulties in using the WHO case classification for dengue haemorrhagic fever. *Trop Med Int Health.* 2006;11(8):1238-55.

Barreto-de-Albuquerque J, Silva-dos-Santos D, Pérez AR, Berbert LR, de Santana-van Vliet E, Farias-de-Oliveira DA, *et al.*,. *Trypanosoma cruzi* Infection through the Oral Route Promotes a Severe Infection in Mice: New Disease Form from an Old Infection? *PLoS Negl Trop Dis.* 2015;9(6):e0003849.

Bastos CJC, Aras R, Mota G, Reis F, Dias JP, Jesus RS, Freire MS, Araújo EG, Prazeres J, Grassi MFR. Clinical outcomes of thirteen patients with acute Chagas disease acquired through oral transmission from two urban outbreaks in Northeast Brazil. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010;4:e711.

Beltrao H deBM, Cerroni M. de P, Roberto D, de Freitas C, Pinto AY dasN, Valente V daC, Valente SA, Costa E deG, Sobel J. Investigation of two outbreaks of suspected oral transmission of acute Chagas disease in the Amazon region, Para State, Brazil, in 2007. *Trop Doct.* 2009; 39: 231-232.

Benchimol Barbosa PR. The oral transmission of Chagas disease: an acute form of infection responsible for regional outbreaks. *Int J Cardiol.* 2006;112:132-133.

Bern C. Chagas' Disease. *N Engl J Med.* 2015; 373(5):456-66.

Bern C, Kjos S, Yabsley MJ, Montgomery SP. *Trypanosoma cruzi* and Chagas' Disease in the United States. *Clin Microbiol Rev.* 2011; 24(4):655-81.

Bern C, Montgomery SP. An estimate of the burden of Chagas disease in the United States. *Clin Infect Dis.* 2009;49(5):e52-4.

Bozzini CE, Molinas F. Hemostasia. In: Houssay A.B., Cirgolani H.E. *Fisiologia Humana de Houssay*, 7 ed. Artmed, Porto Alegre. 2004.

Brasil - Guia de vigilância epidemiológica. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília: MS/SVS; 2017;3(1ªed.):816pp

Brasil - Guia de vigilância epidemiológica. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília: MS/SVS; 2016;1(1ªed.):773pp

Brasil. Boletim epidemiológico. Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde. 2015; 46: 1-9.

Brasil. Ministério da Saúde (Org). Doença de Chagas Aguda: Notificações registradas no Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan Net. Disponível em:<<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/>>. Acesso em: 22/02/2017.

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria n.º 1.882, de 18 de dezembro de 1997. Estabelece o piso de atenção básica PAB e sua composição. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 22 dez. 1997. 2016. Seção 1. p. 11.

Brasil. Ministério da Saúde. Roteiro para uso do SinanNet, análise da qualidade da base de dados e cálculo de indicadores epidemiológicos e operacionais – Caderno geral. Brasília, DF. 2008.

Brasil. Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan: normas e rotinas 2ed., Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Ministério da Saúde, Brasília, Brasil, 2007;68 pp.

Brener Z. Life cycle of *Trypanosoma cruzi*. Rev Inst Med Trop. 1971; 13: 171-178.

Brummel-Ziedins KE, Wolberg AS. Global assays of hemostasis Curr Opin Hematol. 2014;21(5):395-403.

Bustamante JM, Bixby LM, Tarleton RL. Drug-induced cure drives conversion to a stable and protective CD8+ T central memory response in chronic Chagas disease. Nat Med. 2008; 14(5), 542–550.

Camandaroba ELP, Pinheiro Lima CM, Andrade SG. Oral transmission of Chagas disease: importance of *Trypanosoma cruzi* biodeme in the intragastric experimental infection. Rev Inst Med Trop. 2002; 44(2):97-103.



Camargo ME, Silva GR, Castilho EA, Silveira AC. Inquérito sorológico da prevalência da infecção chagásica no Brasil, 1975-1980. *Rev Inst Med Trop.* 1984;26: 192-204.

Caradonna K, Pereiraperrin M. Preferential brain homing following intranasal administration of *Trypanosoma cruzi*. *Infect Immun.* 2009; 77(4): 1349-56.

Cardoso JA, Brener Z. Hematological changes in mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1980; 75(3-4):97-104.

Carlos MML, Freitas PDFS. Study of blood coagulation cascade and the reference values. *Acta Veterinaria Brasília.* 2007; 1(2):49-55.

Castro MC, Barrett TV, Santos WS, Abad-Franch F, Rafael JA. Attraction of Chagas disease vectors (Triatominae) to artificial light sources in the canopy of primary Amazon rainforest. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2010;105(8): 1061-4.

Cavalcanti LP deG, Rolim DB, Neto R daJP, Vilar DCLF, Nogueira JOL, Pompeu MM de L, Teixeira MJ, de Souza AQ. Microepidemia de Doença de Chagas Aguda por Transmissão Oral no Ceará. *Cad. Saúde Colet.* 2009;17 (4): 911 – 921.

Cesarman-Maus G, Hajjar KA. Molecular mechanisms of fibrinolysis. *Br J Haematol.* 2005;129(3):307-321.

Cevallos AM, Hernandez R. Chagas' disease: pregnancy and congenital transmission. *Biomed Res Int.* 2014; 2014:401864.

Chagas, C. Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi*. n. gen., sp., agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1909;1:150-218.

Chen LC, Shyu HW, Lin HM, Lei HY, Lin YS, Liu HS, Yeh TM: Dengue virus induces thrombomodulin expression in human endothelial cells and monocytes in vitro. *J Infect* 2009, 58(5):368-374.

Coeli, Cláudia Medina *et al.* Sistemas de Informação em Saúde. In: Medronho, Roberto de Andrade *et al.* *Epidemiologia.* 2ª Ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2009.

- Colantoni A, Emanuele MA, Kovacs EJ, Villa E, Van Thiel DH. Hepatic estrogen receptors and alcohol intake. *Mol Cell Endocrinol.* 2002;193(1-2):101–104.
- Collins MH, Craft JM, Bustamante JM, Tarleton RL. Oral Exposure to *Trypanosoma cruzi* Elicits a Systemic CD8+ T Cell Response and Protection against Heterotopic Challenge. *Infect Immun.* 2011; 79(8):3397-3406.
- Consenso Brasileiro em Doença de Chagas / Brazilian Consensus on Chagas disease. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2015;38(3):7-29.
- Contijo ED, De Andrade GMQ, Santos SE, Galvão LMC, Moreira EF, Pinto FS, Dias JCP, Januário JN. Triagem neonatal da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* em Minas Gerais, Brasil: transmissão congênita e mapeamento das áreas endêmicas. *Epidemiologia Serv. Saúde.* 2009;18(3): 243-254.
- Contran RS, Mitchel RN. Distúrbios hemodinâmicos, trombose e choque. In: Cotran R.S., Kumar V. e Collins T. *Robbins: Patologia Estrutural e Funcional*, 6 ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2000.
- Coura JR, Dias JC. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease: 100 years after its discovery. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009; 104 Suppl 1:31-40.
- Coura JR, Junqueira AC. Surveillance, health promotion and control of Chagas disease in the Amazon Region--Medical attention in the Brazilian Amazon Region: a proposal. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2015; 110(7): 825-30.
- Coura JR, Vinas PA. Chagas disease: a new worldwide challenge. *Nature.* 2010; 465(7301):S6-7.
- Coura JR, Castro SL. A critical review on Chagas disease chemotherapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2002;97(1):3-24.
- Coura JR, Junqueira AC, Fernandes O, Valente SAS, Miles MA. Emergin Chagas disease in Amazonian Brazil. *Trends Parasitol.* 2002a. 18: 171-176.
- Coura JR. Chagas disease: what is know and what is needed A background article. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007;102:113-122.

Coura JR. The main sceneries of Chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions - A comprehensive review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2015;110(3):277- 82.

Coura JR. Chagas Disease: What is known and what is needed - A background article. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007;102(Suppl.1):113-122.

Coura JR, Junqueira AC, Boia MN, Fernandes O, Bonfante C, Campos JE, Santos L, Devera R. Chagas disease in the Brazilian Amazon: IV. a new cross-sectional study. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2002b 4(3):59-65.

Coura JR, Junqueira AC, Carvalho-Moreira CJ, Borges-Pereira J, Albajar Viñas P. Uma visão sistêmica da endemia chagásica. In: Silveira AC, *La Enfermedad de Chagas a la puerta delos 100 años de uma endemia americana ancestral*. Organización Panamericana de la Salud y Fundación Mundo Sano, Washington DC y República Argentina. Publicación Monográfica 2007;7, p. 25-35.

Coura JR. Síntese histórica e evolução dos conhecimentos sobre a doença de Chagas. In: Dias JCP, Coura JR. *Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas: Uma Abordagem Prática para o Clínico Geral*. FIOCRUZ. 1997; cap. 27, 469-486.

Coura JR. Tripanosomose, Doença de Chagas. Cienc. Cult. 2003;55 (1): 30-33.

Covarrubias C, Cortedaz M, Ferreira D, Yoshida N. Interaction with host factors exacerbates *Trypanosoma cruzi* cell invasion capacity upon oral infection. Int J Parasitol. 2007;37:1609-1616.

Crespo FG, Quispe RR, Couto RDL, Galliez RM, Aguiar FM, Quiroga MM, Mascheretti M, Boulos M. Surto de doença de Chagas aguda em Mojuí dos Campos, Pará: manifestações clínicas e laboratoriais. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Apresentado no Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2007;40:28.

Croft SL, Barret MP, Urbina JA. Chemotherapy of trypanosomiasis and leishmaniasis. Trends Parasitol. 2005; 21(11):508-12.

Crowell BC. The Acute Form of American Trypanosomiasis: Notes on Its Pathology, with Autopsy Report and Observations on Trypanosomiasis Cruzi in Animals. Am J Trop Med Hyg. 1923;1-3(5): ) 1476-1645.

Da Silva NN, Clausell DT, Nólíbos H, de Mello AL, Ossanai J, Rapone T, Snell T. Epidemic outbreak of Chagas disease probably due to oral contamination. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*.1968;1095:265-76.

Davie EW, Fujikawa K, Kisiel W. The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. *Biochemistry*. 1991; 30(43): 10363-70.

de Azeredo EL, Monteiro RQ, de-Oliveira Pinto LM. Thrombocytopenia in Dengue: Interrelationship between Virus and the Imbalance between Coagulation and Fibrinolysis and Inflammatory Mediators. *Mediators Inflamm*. 2015; 2015:1-16(313842).

de Meis E, Lima LG, Monteiro RQ, Carneiro-Lobo TC. Distúrbios da coagulação sanguínea no câncer. Em: *Bases moleculares em clínica médica*. 1ª ed. Rio de Janeiro: Atheneu. 2010;1:541-553.

de Meis J, Barreto de Albuquerque J, Silva Dos Santos D, Farias-de-Oliveira DA, Berbert LR, Cotta-de-Almeida V, Savino W. *Trypanosoma cruzi* Entrance through Systemic or Mucosal Infection Sites Differentially Modulates Regional Immune Response Following Acute Infection in Mice. *Front Immunol*. 2013; 4:216.

de Meis J, Morrot A, Farias-de-Oliveira DA, Villa-Verde DM, Savino W. Differential regional immune response in Chagas disease. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;3(7):e417.

de Meis E, Pinheiro VR, Zamboni MM, Guedes MT, Castilho IA, Martinez MM, Leda MS, Silveira NP, Rumjanek VM, Levy RA. Clotting, immune system, and venous thrombosis in lung adenocarcinoma patients: a prospective study. *Cancer Investig*. 2009; 27:989–997.

de Noya BA, Noya Gonzáles O, Robertson LJ. *Trypanosoma cruzi* as a foodborne pathogen: Springer 2015:92

de Souza W, de Carvalho TM, Barrias ES. Review on *Trypanosoma cruzi*: Host Cell Interaction. *Int J Cell Biol*. 2010;2010:e18.

Dias JC. Notes about of *Trypanosoma cruzi* and yours bio-ecology characteristics with agents of the transmission by meals. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2006; 39(4):370-5.

Dias JC, Amato Neto V, Luna E J. Alternative transmission mechanisms of *Trypanosoma cruzi* in Brazil and proposals for their prevention. Rev Soc Bras Med Trop. 2011; 44(3): 375-9.

Dias JCP, Brener Z, Andrade ZA, Barral-Neto M. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas: Epidemiologia. Guanabara Koogan. 2000; 48-74.

Dias JCP, Ramos Jr. AN, Gontijo ED, Luquetti A, Shikanai-Yasuda MA, Coura JR. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2016. Epidemiol. Serv. Saúde. 2016; 25:7-86.

Dias JP, Bastos C, Araujo E, Mascarenhas AV, Martins Netto E. Acute Chagas disease outbreak associated with oral transmission. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2008;41: 296-300.

Dias JCP, COURA JR. Clínica e terapêutica da doença de Chagas; uma abordagem prática para o clínico geral. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. 1997.

Dias JCP. Doença de Chagas. In: Cimerman B, Cimerman S. Parasitologia humana e seus fundamentos gerais. 2. ed. São Paulo: Atheneu. 2002:81-111.

Dias JCP. Doença de Chagas em Bambuí, Minas Gerais, Brasil. Estudo clínicoepidemiológico a partir da fase aguda, entre 1940 e 1982. Tese. Belo Horizonte, UFMG. 1982:376 .

DNDi. Mapa cortesia do “Second WHO Report on Neglected Tropical Diseases, 2013”. Disponível em: <http://www.dndi.org/diseases/projects/chagas/chagas-disease-background/>. [acesso em 12 maio 2017].

dos-Santos DS, Barreto-de-Albuquerque J, Guerra B, Moreira OC, Berbert LR, Tavares Ramos M, Mascarenhas BAS, Britto C, Morrot A, Serra Villa-Verde DM, Garzoni LR, Savino W, Cotta-de-Almeida V, de Meis J. Unraveling Chagas disease transmission through the oral route: Gateways to *Trypanosoma cruzi* infection and target tissues. PLoS Negl Trop Dis 2017;1–26.

Dos santos SO. Eco-epidemiologia da doença de chagas aguda em área amazônica. Município de Abaetetuba, Estado do Pará, Brasil, 2008 – 2009/ Eco-epidemiology of acute chagas disease in amazon area. Municipality Abaetetuba, Pará State, Brazil, 2008-2009 Tese [Doutorado em Ciências Biológicas] - Universidade Federal de Ouro. 2013

Duz AL, Vieira PM, Roatt BM, Aguiar-Soares RD, Cardoso JM, Oliveira FC, Reis LE, Tafuri WL, Veloso VM, Reis AB, Carneiro CM. The TcI and TcII *Trypanosoma cruzi* experimental infections induce distinct immune responses and cardiac fibrosis in dogs. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2014;109(8): 1005-13.

Fellows, P.J. Tecnologia do Processamento de Alimentos: princípios e prática- 2 ed. – Porto Alegre: Artemed, 2006.

Fernandes CD, Tiecher FM, Balbinot MM, Liarte DB, Scholl D, Steindel M, Romanha A. Efficacy of benznidazol treatment for asymptomatic chagasic patients from state of Rio Grande do Sul evaluated during a three years follow-up. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104(1):27- 32.

Fiestas Solorzano V, Sihuinchá Maldonado M, Donaires Toscano F, Durand Velazco S, Garcia MM, Mamani E. Características clínicas de pacientes internados en el Hospital de Apoyo de Iquitos "Cesar Garayar Garcia" durante La epidemia de dengue, enero-febrero de 2011. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2011;28(1): 78-82.

Foley JH, Conway EM. Cross Talk Pathways Between Coagulation and Inflammation. Circ Res. 2016;29-118(9):1392-408.

Francisco G, Hernández C, Simó R. Serum markers of vascular inflammation in dyslipidemia. Clin Chim Acta. 2006; 369:1-16.

Garcia GA, Arnaiz MR, Laucella SA, Esteva MI, Ainciart N, Riarte A, Garavaglia PA, Fichera LE, Ruiz AM. Immunological and pathological responses in BALB/c mice induced by genetic administration of Tc 13 Tul antigen of *Trypanosoma cruzi*. Parasitology. 2006;132: 855-866.

Garcia S, Ramos CO, Senra JF, Vilas-Boas F, Rodrigues MM, Campos-de-Carvalho AC, Ribeiro-Dos-Santos R, Soares MB. Treatment with Benznidazole during the Chronic Phase of Experimental Chagas ' Disease Decreases Cardiac Alterations. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49(4):1521-1528.

Garcia-Navarro C.E.K. Manual de Hematologia. Veterinária, Varela, São Paulo.2005. 2 ed.

Gaunt M, Miles M. The ecotopes and evolution of triatomine bugs (Triatominae) and their associated trypanosomes. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2000;95(4):557-565.

Geisbert TW, Hensley LE, Jahrling PB, Larsen T, Geisbert JB, Paragas J, . Treatment of Ebola virus infection with a recombinant inhibitor of factor VIIa/tissue factor: a study in rhesus monkeys. *Lancet*. 2003;362(9400): 1953-8.

Giannini EG, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ*. 2005;172(3):367-379. doi:10.1503/cmaj.1040752.

Goeijenbier M, van Wissen M, van de Weg C, Jong E, Gerdes VE, Meijers JC. Review: Viral Infections and Mechanisms of Thrombosis and Bleeding. *J Med Virol*. 2012;84:1680–1696.

Greisler HP. Test procedures for the blood compatibility of biomaterials. *J Vasc Surg*, 1994;20(5): 850.

Gupta NK, Bansal SB, Jain UC, Sahare K. Study of thrombocytopenia in patients of malaria. *Tropic Parasitol*. 2013;3(1):58-61.

Guy J, Peters MG. Liver Disease in Women: The Influence of Gender on Epidemiology, Natural History, and Patient Outcomes. *Gastrointest Endosc*. 2013;9(10):633-639.

Guyton A.C. e Hall J.E. *Tratado de Fisiologia Médica*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2017;13 ed

Herrera RN, Díaz de Amaya EI, Pérez Aguilar RC, Joo Turoni C, Marañón R, Berman SG, Luciardi HL, Coviello A, Peral de Bruno M. Inflammatory and prothrombotic activation with conserved endothelial function in patients with chronic, asymptomatic Chagas disease. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2011;17(5):502-7.

Higuchi M, Benvenuti LA, Martins Reis M, Metzger M. Pathophysiology of the heart in Chagas' disease: current status and new developments. *Cardiovasc. Res*. 2003.; 60: 96–107.

Higuchi ML. Human chronic chagasic cardiopathy: participation of parasites antigens, subsets of lymphocytes, cytokines and microvascular abnormalities. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1999.; 94 (Suppl I): 263-7.

Hoft DF, Farrar PL, Kratz-Owens K, Shaffer D. Gastric invasion by *Trypanosoma cruzi* and induction of protective mucosal immune responses. *Infect Immun*. 1996;64(9):3800-10.

Hollestelle MJ, Geertzen HG, Straatsburg IH, van Gulik TM, van Mourik JA: Factor VIII expression in liver disease. *Thromb Haemost* 2004; 91: 267-75.

Joist JH, George JN. Hemostatic abnormalities in liver and renal disease. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Clowes AE, George JN (eds): *Hemostasis and Thrombosis*. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins, 2001. pp 955-973.

Junqueira AC; Albajar R, Coura JR. Doença de Chagas na Amazônia Brasileira. In Coura JR, *Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias*. Guanabara- Koogan, Rio de Janeiro. 2005;1:595-601,.

Kurane I. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2007;30(5-6):329-40.

Laguardia J, Domingues CMA, Carvalho C, Lauerman CR, Macário E, Glatt R. Sistema de Informação de Agravos de Notificação - SINAN: desafios no desenvolvimento de um sistema de informação em saúde. *Epidemiol Serv Saude*. 2004;13:135-147

Laranja FS, Dias E, Nobrega G. Clínica y terapéutica de la enfermedad de Chagas. *Prensa Med Argent* 1951; 38(9):465-484.

Laranja FS, Dias E, Nobrega G, Miranda A. Chagas disease; a clinical, epidemiologic, and pathologic study. *Circulation* 1956; 14(6): 1035-1060.

Lee BY, Bacon KM, Bottazzi ME, Hotez P. J. Global economic burden of Chagas disease: a computational simulation model. *Lancet Infect Dis*. 2013;13(4):342-8.

Lehninger AL. *Princípios de bioquímica*, 6 ed. São Paulo, Sarvier, 2014.

Levi M, van der Poll T. Inflammation and coagulation. *Critical care medicine*. 2010; 38(2 Suppl):S26-34.

Levi M, van der Poll T. Two-way interactions between inflammation and coagulation. *Trends Cardiovasc Med*. 2005; 15 (7): 254-9.

Levi M. The coagulant response in sepsis and inflammation. *Hamostaseologie*. 2010 Jan;30(1):10-2, 4-6.



Levi M, van der Poll T, Buller HR. Bidirectional Relation Between Inflammation and Coagulation. *Circulation*. 2004; 109:2698–2704.

Lima CR de A, Schramm JM deA, Coeli CM, da Silva MEM. Revisão das dimensões de qualidade dos dados e métodos aplicados na avaliação dos sistemas de informação em saúde. *Cad Saúde Pública*, Rio de Janeiro. 2009;25(10):2095-2109.

Lima JBdeA, Skare TL, Malafaia O, Ribas-Filho JM, Michaelis T, Ribas FM, Macedo RdeAC. Síndrome de disfunção de múltiplos órgãos induzida por sepse: estudo experimental em ratos. *ABCD, arq. bras. cir. dig.* 2011; 24(2):95-102.

Lin SW, Chuang YC, Lin YS, Lei HY, Liu HS, Yeh TM. Dengue virus nonstructural protein NS1 binds to prothrombin/thrombin and inhibits prothrombin activation. *J Infect*. 2011;64(3):325-334.

Lisman T, Leebeek FW. Hemostatic alterations in liver disease: a review on pathophysiology, clinical consequences, and treatment. *Dig Surg*. 2007; 24(4): 250-8. Epub 2007 Jul 27.

Lwaleed BA, Bass PS. Tissue factor pathway inhibitor: structure, biology and involvement in disease. *J Pathol*. 2006; 208(3): 327-39.

Macedo V, Silveira CA. Perspectivas da Terapêutica Específica na doença de Chagas. Experiências na forma indeterminada. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 1987; 20 (supl II): 24-26.

Marcili A, Valente VC, Valente SA, Junqueira AC, DaSilva FM, Pinto AYN, Naiff RD, Campaner M, Coura JR, Camargo EP, Milles MA, Teixeira MMG. *Trypanosoma cruzi* in Brazilian Amazonia: Lineages TCI and TCIIa in wild primates, *Rhodnius* spp. and in humans with Chagas disease associated with oral transmission. *Int J Parasitol*. 2009;39: 615-623.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Produção de açaí deve ter mais assistência técnica e investimentos. 2017. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/producao-de-acai-deve-ter-mais-assistencia-tecnica-e-investimentos>. Acesso em 12 de maio de 2017.

Marcondes MC, Borelli P, Yoshida N, Russo M. Acute *Trypanosoma cruzi* infection is associated with anemia, thrombocytopenia, leukopenia and bone marrow hypoplasia: reversal by nifurtimox treatment. *Microbes Infect.* 2000 2:347-352, 2000.

Marin-Neto JA, Rassi AJr, Avezum AJr, Mattos AC, Rassi A, Morillo CA, Sosa-Estani S, Yusuf S. The BenefiT trial: testing the hypothesis that trypanocidal therapy is beneficial for patients with chronic Chagas heart disease. *Mems Inst Oswaldo Cruz.* 2009; 104: 319-24.

Marques J, Mendoza I, Noya B, Acquatella H, Palacios I, Marques-Mejias M. ECG manifestations of the biggest outbreak of Chagas disease due to oral infection in Latin- America. *Arq Bras Cardiol.* 2013;101(3):249-54.

Martins LP. Incidência de transmissão do *Trypanosoma cruzi* através da amamentação durante a doença de Chagas experimental aguda. *Braz. J. Infect. Dis.* 2011; 15(2):116-118.

Mascarenhas BM, Gallati U, Guimarães DG, Pimentel D, Brígida MS, Guimarães DD. Diagnóstico ambiental rápido – Inventário Faunístico. *Museu Paraense Emílio Goeldi*, 2001:21.

Mascarenhas BM. Triatomíneos da Amazônia: Sobre o Habitat e Algumas Considerações Comportamentais de *Rhodnius Brethesi* Matta, 1919 (*Hemiptera: Reduviidae: Triatominae*) na Região do Medio Rio Negro, Amazonas. *Boi. Mus. Para. Emílio Goeldi.* 1991; 1(2): 91-104

Melo LMMP, Souza GEC, Valim LR, Moreira LFP, Damico EA, Rocha TRF, Barreto ACP, Strumz CMC, Bocchi EA, Ramires JAF. Study of pro-thrombotic and pro-inflammatory factors in Chagas cardiomyopathy. *Arq Bras Cardiol.* 2010; 95(5):655-62.

Mendonça VR, Queiroz AT, Lopes FM, Andrade BB, Barral-Netto M. Networking the host immune response in *Plasmodium vivax* malaria. *Malar J.* 2013;12(69): 1-11,

Messenger LA, Miles MA, Bern C. Between a bug and a hard place: *Trypanosoma cruzi* genetic diversity and the clinical outcomes of Chagas disease. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2015;13(8):995-1029.

Mike B, Siddhartha M. Ebola Hemorrhagic Fever and Septic Shock. *J Infect Dis* 2003; 188 (11): 1613-1617.

- Miles MA, Arias JR, de Souza AA. Chagas' disease in the Amazon basin: V. Periurban palms as habitats of *Rhodnius robustus* and *Rhodnius pictipes*—Triatomine vectors of Chagas' disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1983;78(4):391–8.
- Miles MA, Llewellyn MS, Lewis MD, Yeo M, Baleela MR, Fitzpatrick S, Gaunt MW, Mauricio IL. The molecular epidemiology and phylogeography of *Trypanosoma cruzi* and parallel research on *Leishmania*: looking back and to the future. *Parasitology*. 2009; 136:1509–1528.
- Miles MA, Souza AA, Póvoa MM. Chagas' disease in the Amazon Basin. III. Ecotopes of ten triatomine species (Hemiptera, Reduviidae) from the vicinity of Belém, Pará State, Brazil. *J Med Entomol*. 1981;18:266-278.
- Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2014.
- Moncayo A, Ortiz Yanine MI. An update on Chagas disease (human American trypanosomiasis). *Ann Trop Med Parasitol*. 2006;100: 663-677.
- Moraes-Souza H, Ferreira-Silva MM. Control of transfusional transmission. *Rev Soc Bras. Med Trop*. 2011; 44 Suppl 2:64-7.
- Edwards MS, Stimpert K, Montgomery SP. Addressing the Challenges of Chagas Disease: An Emerging Health Concern in the United States. *Infectious Diseases in Clinical Practice*. 2017;25:118-125.
- Moncayo A, Ortiz Yanine MI. An update on Chagas disease (human American trypanosomiasis). *Ann Trop Med Parasitol*. 2006;100: 663-677.
- Nascimento EJ, Hottz ED, Garcia-Bates TM, Bozza F, Marques ET Jr, Barratt-Boyes SM. Emerging concepts in dengue pathogenesis: interplay between plasmablasts, platelets, and complement in triggering vasculopathy. *Crit Rev Immunol*. 2014;34(3):227-40.
- Neuschwander-Tetri BA, Ünalp A, Creer MH. The upper limits of normal for serum ALT levels reported by clinical laboratories depend on local reference populations. *Archives of internal medicine*. 2004;168(6):663-666.

Nguyen TL, Nguyen TH, Tieu NT. The impact of dengue haemorrhagic fever on liver function. *Res Virol.* 1997; 148(4): 273-7.

Nóbrega AA, Garcia MH, Tatto E, Obara MT, Costa E, Sobel J. Oral transmission of Chagas disease by consumption of acai palm fruit, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2009; 15: 653-655.

Norman FF, Lopez-Velez R. Chagas disease and breast-feeding. *Emerg Infect Dis.* 2013; 19(10): 1561-6.

Noya BA, Pérez-Chacón G, Díaz-Bello Z, Dickson S, Muñoz-Calderón A, Hernandez C, Pérez Y, Mauriello L, Moronta E. Description of an oral Chagas disease outbreak in Venezuela, including a vertically transmitted case. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2017; 112(8): 569-571.

Olson ST, Bjork I. Regulation of thrombin activity by antithrombin and heparin. *Semin Thromb Hemost.* 1994; 20(4): 373-409; pp 159-217.

OMS. Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates *Weekly epidemiological record.* 2015; 90:33-44.

OMS. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases: first WHO report on neglected tropical diseases. 2010.

Ott I. Inhibitors of the initiation of coagulation. *Br J Clin Pharmacol.* 2011; 72(4): 547-52.

Parada H, Carrasco HA, Anez N, Fuenmayor C, Inglessis I. Cardiac involvement is a constant finding in acute Chagas' disease: a clinical, parasitological and histopathological study. *Int J Cardiol.* 1997; 60(1):49-54.

Parker ER, Sethi A. Chagas disease: coming to a place near you. *Dermatol Clin.* 2011; 29(1):53-62.

Pastorino AC, Jacob MA, Oselka G, Carneiro-Sampaio MMS. Visceral leishmaniasis: clinical and laboratorial aspects. *J Pediatr (Rio J).* 2002; 78:120-7.

Pedrosa RC<sup>1</sup>, De Bem AF, Locatelli C, Pedrosa RC, Geremias R, Wilhelm Filho D. Time-dependent oxidative stress caused by benznidazole. *Redox Rep.* 2001; 6(4):265-270.

Pérez AR, Bertoya AA, Revelli S, García F. A high corticosterone/DHEA-s ratio in young rats infected with *Trypanosoma cruzi* is associated with increased susceptibility. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2011;106(4):416-23.

Pérez AR, Silva-Barbosa SD, Berbert LR, Revelli S, Beloscar J, Savino W, Bottasso O. Immunoendocrine alterations in patients with progressive form of chronic Chagas Disease. *Brain Behav Immun*. 2011; 235(1-2):84-90.

Pérez-Gutiérrez E, Agrelo RS, Figueroa R. Technical Recommendation on Chagas' disease Epidemiology and Prevention, Focussing its Transmission as a Disease Transmitted by Food. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2006; 39(5):512-514.

Pinazo MJ, Muñoz J, Posada E, López-Chejade P, Gállego M, Ayala E, del Cacho E, Soy D, Gascon J. Tolerance of benznidazole in treatment of Chagas' disease in adults. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010; 54(11):4896-4899.

Pinazo MJ, Posada Ede J, Izquierdo L, Tassies D, Marques AF, de Lazzari E, Aldasoro E, Muñoz J, Abras A, Tebar S, Gallego M, de Almeida IC, Reverter JC, Gascon J. Altered Hypercoagulability Factors in Patients with Chronic Chagas Disease: Potential Biomarkers of Therapeutic Response. Correa-Oliveira R, ed. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2016;10(1): e0004269.

Pinto AYN, Ferreira SMAG, Valente SAdS, Valente VdaC, Ferreira Jr. AG. Alterações eletrocardiográficas durante e após tratamento com benznidazol em fase aguda de doença de Chagas autóctone da Amazônia brasileira. *Rev Pan-Amaz Saude*. 2010; 1(2):67-76.

Pinto AYN, Valente SAS, Lopes R, Silva O, Castro T, Valente VC. Ocorrência de Tripanosomíase aguda familiar no município de Igarapé-Miri, Pará: gravidade de apresentação clínica em idosos. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003; 36 (supl 1):381

Pinto AY, Valente SA, Valente VC. Emerging acute Chagas disease in Amazonian Brazil: case reports with serious cardiac involvement. *Braz J Infect Dis*. 2004;8:454-460.

Pinto AYN, Harada GS, Valente VC, Abud JE, Gomes FD, Souza GC, Valente SAS. Cardiac attacks in patients with acute Chagas disease in a family micro-outbreak, in Abaetetuba, Brazilian Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2001; 34(5): 413-419,.

Pinto AYN, Valente SAS, Valente VC, Ferreira Jr AG, Coura JR. Fase aguda da doença de Chagas na Amazônia brasileira: estudo de 233 casos do Pará, Amapá e Maranhão observados entre 1988 e 2005. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008;41:602-614.

Povoa TF, Alves AM, Oliveira CA, Nuovo GJ, Chagas VL, Paes MV. The pathology of severe dengue in multiple organs of human fatal cases: histopathology, ultrastructure and virus replication. *PLoS One.* 2014; 9(4):e83386.

Póvoa M, Naiff RD, Naiff AMF, Biancard CB, Miles MA. Chagas' disease in the Amazon Basin IV. Host records of *Trypanosoma cruzi* zymodemes in the States of Amazonas and Rondonia, Brazil. *Ann Trop Med Parasitol.* 1984;78(5): 479-487.

Rahman S, Cichon M, Hoppensteadt D, Cunanan J, Jeske W, Thethi I. Upregulation of microparticles in DIC and its impact on inflammatory processes. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2011.;17(6):E202–4.

Rassi A, Rassi Jr A, Rassi GG. Fase aguda. In: Brener Z, Andrade Z, Barral-Netto M (orgs) *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas* 2a. edição. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2000: 431.

Rassi AJR, Rassi A, Marcondes de Rezende J. American trypanosomiasis (Chagas disease). *Infect Dis Clin North Am.* 2012; 26(2):275-91

Rassi AJR, Rassi A, Marin-Neto J. A. Chagas disease. *Lancet.* 2010;375(9723):388-402.

Rassi A, Neto VA, Rassi GG, Amato VS, Júnior AR, Luquetti AO, Rassi SG. Busca retrospectiva da transmissão maternal da infecção chagásica em pacientes na fase crônica. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2004;36(6): 485 – 489.

Redondo M, Watzke HH, Stucki B, Sulzer I, Demarmels Biasiutti F, Binder BR, Furlan M, Lämmle B, Wuillemin WA. Coagulation factors II, V, VII, and X, prothrombin gene 20210G A transition, and factor V Leiden in coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:1020–1025.

Rej R. Aminotransferases in disease. *Clin Lab Med.* 1989;9(4):667-87.

Requena-Méndez A, Aldasoro E, Lazzari E, Sicuri E, Brown M, Moore DA, *et al.*. Prevalence of Chagas disease in Latin-American migrants living in Europe: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015 Feb;9(2):e0003540.

Rey L. Bases da Parasitologia Médica. ed., editor: Guanabara Koogan. 2002.

Rezende, J. M. O aparelho digestivo na doença de Chagas: aspectos clínicos. In: Dias JCP, Coura JR. Clínica e terapêutica da doença de chagas: uma abordagem prática para o clínico geral. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1997.

Riarte A, Luna C, Sabatiello R, Sinagra A, Schiavelli R, De Rissio A, Maiolo E, Garcia MM, Jacob N, Pattin M, Lauricella M, Segura EL, Vázquez M. Chagas' disease in patients with kidney transplants: 7 years of experience 1989-1996. *Clin Infect Dis*. 1999;29(3):561-7.

Ricardo-Silva AH, Lopes CM, Ramos LB, Marques WA, Mello CB, Duarte R. Correlation between populations of *Rhodnius* and presence of palm trees as risk factors for the emergence of Chagas disease in Amazon region, Brazil. *Acta Trop*. 2012;123:217–23.

Rogez, H. Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação. Belém: EDUFPA, 2000.

Rueda K, Trujillo JE, Carranza JC, Vallejo GA. Oral transmission of *Trypanosoma cruzi* : a new epidemiological scenario for Chagas' disease in Colombia and other South American countries. *Biomedica*. 2014;34(4):631-41.

Russell JA. Management of sepsis. *N Engl J Med*. 2006 Oct 19;355(16):1699-713

Sagri. 2015. Secretaria de Estado de Agricultura do Pará. Dados Agropecuários: Extrativismos e silvicultura. Disponível em: [sedap.gov.br/pagina\\_extrativismo\\_silvicultura](http://sedap.gov.br/pagina_extrativismo_silvicultura). Acesso em: 09 de agosto de 2015.

Samanta J, Sharma V. Dengue and its effects on liver. *WJCC*. 2015; 3(2):125-131.

Sanchez LV, Ramirez JD. Congenital and oral transmission of American trypanosomiasis: an overview of physiopathogenic aspects. *Parasitology*. 2013; 140(2):147-59

Sangenis LHC, Nielebock MAP, Santos CdaS, da Silva MCC, Bento GMR. Transmissão da doença de Chagas por consumo de carne de caça: revisão sistemática. Rev. bras. epidemiol. 2016; 19(4): 803-811.

Santana ACde, Carvalho DF, Mendes FAT. Análise sistêmica da fruticultura paraense: organização, mercado e competitividade empresarial. Belém: Banco da Amazônia, 2008. 255 p.: II

Schmunis GA, Yadon ZE. Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. Acta Trop. 2010;115(1-2):14-21.

Secretaria de Vigilância em Saúde. Doença de Chagas aguda relacionada à ingestão de caldo de cana em Santa Catarina, Brasil, 2005. Disponível em <<http://portal.saude.gov.br/portal/svs/visualizandotexto.cfm?idtx=21270>> Acesso em: 25 de maio 2006

Sedlacek EC, Antunes AF, Pereira BVM, Barbosa MG, Guerra JAO, Costa KN, Silva PRL, Ferreira JMBB. Alterações ao doppler tecidual em pacientes com a forma aguda da doença de Chagas. In: 6 Congresso do Departamento de Imagem Cardiovascular da SBC, Belo Horizonte. Arq Bras Cardiol. 2016;29:10-10.

Seneviratne SL, Malavige GN, de Silva HJ. 2006. Pathogenesis of liver involvement during dengue viral infections. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2006; 100(7): 608-14.

Shapiro AD, Gilchrist GS, Hoots WK, Cooper HA, Gastineau DA. Prospective, Randomised Trial of Two Doses of rFVIIa (NovoSeven) in Haemophilia Patients with Inhibitors Undergoing Surgery. Thromb Haemost. 1998; 80: 773-778.

Shaw J, Lainson R, Fraiha H. Considerações sobre a epidemiologia dos primeiros casos autóctones de doença de Chagas registrados em Belém, Pará, Brasil. Rev Saúde Públ. 1969;3: 153-157.

Sheba KM, Forsyth CJ, Soverow J, Hernandez S, Sanchez D, Montgomery SP, Traina M. Prevalence of Chagas Disease in the Latin American-born Population of Los Angeles. Clin Infect Dis. 2017; 64:1182-1188.



- Shikanai-Yasuda MA, Marcondes CB, Guedes LA, Siqueira GS, Barone AA, Dias JC. Possible oral transmission of acute Chagas' disease in Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1991;33(5):351-7.
- Shikanai-Yasuda MA, Carvalho NB. Oral transmission of Chagas disease. *Clin Infect Dis*. 2012;54:845–52.
- Silva-Filho JD, Costa AC, Freitas EC, Viana CEM, Lima MA, Andrade MC, Pereira LdosS, Fidalgo ASOdeBV, Oliviera MdeF. Hematological and biochemical profile of patients with Chagas disease attended by a pharmaceutical care servisse in the state of Ceará. *J. Health Biol Sci*. 2017; 5(2):130-136
- Silva NN, Clausel DT, Nolibus H, Mello AL Ossanai J, Rapone T, Snell T. Surto epidêmico de doença de Chagas com provável contaminação oral. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1968; 10:265-276.
- Silveira CAN, Castillo E, Castro C. Avaliação do tratamento específico para o *Trypanosoma cruzi* em crianças, na evolução da fase indeterminada. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*. 2000;33(2):191-196.
- Solorzano V.E.F. Estudos dos mediadores inflamatórios e de coagulação na epidemia 2013 pelo DENV-4/ evaluation of inflammatory and coagulation mediators in 2013 dengue virus type 4 outbreak [Dissertação]: Rio de Janeiro; Instituto Oswaldo Cruz. 2014
- Sosa Estani S e Segura E L. Treatment of *Trypanosoma cruzi* Infection in the Undetermined Phase. Experience and Current Guidelines of Treatment in Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1999; 94(Suppl. I): 363-365.
- Sosothikul D, Seksarn P, Pongsewalak S, Thisyakorn U, Lusher J. 2007. Activation of endothelial cells, coagulation and fibrinolysis in children with Dengue vírus infection. *Thrombosis and haemostasis*. 2007;97(4):627-34.
- Souza D.S.M., de Almeida A. J. B., Costa F. A., Elenild de Goes Costa E. G., Figueiredo M.T.S., Póvoa R. M. S. Electrocardiograms in the acute phase of Chagas Disease through oral transmission. *Rev Bras Cardiol*. 2013;26(2):127-30.

Souza DM e Povia RMS. Aspectos epidemiológicos e clínicos da doença de chagas aguda no Brasil e na América Latina. Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo. 2016; 26(4):222-229.

Souza LJ, Alves JG, Nogueira RM, Gicoyate Neto C, Bastos DA, Siqueira EW, Souto Filho JT, Cezario TA, Soares CE, Carneiro RC. Aminotransferase Changes and Acute Hepatitis in Patients With Dengue Fever: Analysis of 1,585 Cases. The Brazilian Journal of Infection Diseases. 2004;8: 156-163,.

Staquicini D. I., Martins R. M., Macedo S., Sasso G. R., Atayde V. D., Juliano M. A., *et al.*, Role of GP82 in the selective binding to gastric mucin during oral infection with *Trypanosoma cruzi* . PLoS Negl Trop Dis. 2010;4(3): e613.

Steverding, D.. The history of Chagas disease. Parasit Vectors. 2014;7:317.

Stryer L (2004). Biochemistry. New York: W. H. Freeman and Company.

Tapson VF. The role of smoking in coagulation and thromboembolism in chronic obstructive pulmonary disease. Proc Am Thorac Soc. 2005;2(1):71-7. Review. PubMed PMID: 16113472.

Tavares, G dos S., Homma, A.K.O. (2015). Comercialização do açaí no estado do Pará: alguns comentários. Revista Observatorio de la Economía Latinoamericana. 2015. 1-12. En línea: <http://www.eumed.net/cursecon/ecolat/br/15/acai-para.html>.

Teixeira, A.R.L., Monteiro, P.S., Rebelo, J.M., Argañaraz, E.R., Vieira, D., Lauria-Pires, L., Nascimento, R., Vexenat, C.A., Silva, A.R., Ault, S.K., Costa, J.M. Emerging Chagas Disease: Trophic network and cycle of transmission of *Trypanosoma cruzi* from palm trees in the Amazon. The Emerging Infections Diseases. 2001;7(1): 100-112.

Thomas, M, Augustin, HG. The role of the Angiopoietins in vascular morphogenesis. Angiogenesis. 2009;12(2):125-37.

Thurman RG. Alcoholic liver injury involves activation of Kupffer cells by endotoxin. Am J Physiol. 1998;275(4 pt 1):G605–G611.

Tietz, *Fundamentos de Química Clínica*, 6 ed., Elsevier, 2008.

Toso M. A., Vial U. F., Galanti N. [Oral transmission of Chagas' disease]. Rev Med Chil. 2011; 139(2): 258-66.

Tracy PB, Eide LL, Bowie EJ, Mann KG. Radioimmunoassay of factor V in human plasma and platelets. Blood. 1982; 60(1): 59-63.

Trinchieri, G. 2004. Cytokines and cytokines receptors. Immunological Reviews, v.202, p.5-7.

Tripodi A, Mannucci PM: The coagulopathy of chronic liver disease. N Eng J Med 2011; 365: 147- 56.

Tripodi A. Levels of coagulation factors and venous thromboembolism. Haematologica. 2003 Jun;88(6):705-11. Review. PubMed PMID: 12801848.

Trung DT, Thao le TT, Hien TT, Hung NT, Vinh NN, Hien PT, *et al.*. Liver involvement associated with dengue infection in adults in Vietnam. Am J Trop Med Hyg. 2010.;83(4):774-80.

Valente SAS, Valente VC, César MJB e Santos MP. Registro de 15 casos autóctones de doença de Chagas no Estado do Amapá com evidências de transmissão oral. [Resumo apresentado ao XXXIII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 1997 .

Valente SAS, Valente VC, Fraiha Neto H. Considerations on the epidemiology of Chagas disease in the Brazilian Amazon. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999;94 (Suppl. 1): 395-398.

Valente, S A S ; Valente, V. C. ; Pinto, Ana Yece da Neves ; Cesar, M. J. B.; Marivaldo P. Santos ; Cuervo, P. ; Fernandes, O.. Epidemiologia Molecular e Clínica de um surto de 17 casos de doença de Chagas aguda em Mazagao, Estado do Amapá. In: 44 Congressos da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Porto Alegre. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Uberaba. 2008;41:226-226.

Valente, S. A. S., Valente, V. C., Pinto, A. Y. N., César, M.J.B., Santos, M.P., Miranda, C.O.S., Cuervo, P., Fernandes, O., Analysis of an acute Chagas disease outbreak in the Brazilian Amazon: human cases, triatomines, reservoir mammals and parasites. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 2009;103:291-297.

Valente, V. C., Valente, S. A. S., Noireau, F., Carrasco, H. J. Miles, M. A. Chagas Disease in the Amazon Basin: association of *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera: Reduviidae) with domestic pigs. *Journal of Medical Entomology*. 1998; 35: 99-103.

Valente VC. Estudo genotípico de *Trypanosoma cruzi*: epidemiologia e caracterização molecular de isolados do homem, triatomíneos e mamíferos silvestres do Pará, Amapá e Maranhão. Tese [Doutorado em Biologia de Agentes infecciosos e Parasitários]- UFPA. 2011.

Viotti R, Vigliano C, Armenti H, Segura E. Treatment of Chagas' disease with benznidazole: clinical and serologic evolution of patients with long-term follow-up. *Amer. Heart Jour.* 1994; 127:151-162.

Willerson JT, Ridker PM. Inflammation as a cardiovascular risk factor. *Circulation*. 2004;109:2-10.

Wolfe ND, Dunavan CP, Diamond J. Origins of major human infectious diseases. *Nature*. 2007; 447:279–283,

World Health Organization (WHO). Chagas disease (American trypanosomiasis). June 2017. Disponível em: <<http://www.who.int/chagas/en/>>

World Health Organization. Control of Chagas disease: WHO Tech. Rep. Ser. 811. Geneva: Who, 2010.

Yoshida N. *Trypanosoma cruzi* infection by oral route How the interplay between parasite and host components modulates infectivity. *Parasitol Int*. 2008; 57: 105-109.

Yoshida N, Tyler KM, Llewellyn MS. Invasion mechanisms among emerging food-borne protozoan parasites. *Trends Parasitol*. 2011; 27(10): 459-66.

Yoshida N. Molecular mechanisms of *Trypanosoma cruzi* infection by oral route. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104:101-107.

Yoshida N, Favoreto JRS, Ferreira AT, Manque PM. Signal transduction induced in *Trypanosoma cruzi* metacyclic trypomastigotes during the invasion of mammalian cells. *Braz J Med Biol Res.* 2000;33(3):269-278.

Zwicker JJ, Furie BC, Furie B. Cancer-associated thrombosis. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007, 62:126-136.

## 9. Anexos

### ANEXO 1. Ficha de Notificação Individual

República Federativa do Brasil  
Ministério da Saúde

**SINAN**  
SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO

Nº  

#### FICHA DE NOTIFICAÇÃO

<b>Dados Gerais</b>	1 Tipo de Notificação 1 - Negativa 2 - Individual 3 - Surto <input type="checkbox"/>		3 Data da Notificação	
	2 Agravado/doença		4 UF 5 Município de Notificação	
	6 Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora)		7 Data dos Primeiros Sintomas	
<b>Notificação Individual</b>	8 Nome do Paciente		9 Data de Nascimento	
	10 (ou) Idade 1 - Hora 2 - Dia 3 - Mês 4 - Ano		11 Sexo M - Masculino F - Feminino 1 - Ignorado	
	12 Gestante 1-1º Trimestre 2-2º Trimestre 3-3º Trimestre 4-Atividade gestacional ignorada 5-Não se aplica 6-Não se aplica 9-Ignorado		13 Raça/Cor 1-Branca 2-Preta 3-Amarela 4-Parde 5-Indígena 9-Ignorado	
	14 Escolaridade 0-Analfabeto 1-1ª a 4ª série incompleta do EF (antigo primário ou 1º grau) 2-4ª série completa do EF (antigo primário ou 1º grau) 3-5ª a 8ª série incompleta do EF (antigo ginásio ou 1º grau) 4-Escola fundamental completa (antigo ginásio ou 1º grau) 5-Escola média incompleta (antigo colegial ou 2º grau) 6-Escola média completa (antigo colegial ou 2º grau) 7-Educação superior incompleta 8-Educação superior completa 9-Ignorado 10- Não se aplica			
15 Número do Cartão SUS		16 Nome da mãe		
<b>Notificação de Surto</b>	17 Data dos 10 <sup>os</sup> Sintomas do 1º Caso Suspeito		19 Local Inicial de Ocorrência do Surto 1 - Residência 2 - Hospital / Unidade de Saúde 3 - Creche / Escola 4 - Asilo 5 - Outras Instituições (alojamento, trabalho) 6 - Restaurante/ Padaria 7 - Eventos 8 - Casos Dispersos no Bairro 9 - Casos Dispersos Pelo Município 10 - Casos Dispersos em mais de um Município 11 - Outros Especificar	
	18 Nº de Casos Suspeitos/ Expostos			
<b>Dados de Residência</b>	20 UF 21 Município de Residência		22 Distrito	
	23 Bairro		24 Logradouro (rua, avenida,...)	
	25 Número 26 Complemento (apto., casa, ...)		27 Geo campo 1	
	28 Geo campo 2		29 Ponto de Referência	
	30 CEP		31 (DDD) Telefone	
	32 Zona 1 - Urbana 2 - Rural 3 - Periurbana 9 - Ignorado		33 País (se residente fora do Brasil)	
<b>Notificante</b>	Município/Unidade de Saúde			
	Nome		Função	Assinatura

Notificação Sinan NET SVS 30/10/2007

**DADOS COMPLEMENTARES**  
(ANOTAR TODOS OS DADOS DISPONÍVEIS NO MOMENTO DA NOTIFICAÇÃO )

Notificação Individual	01 Data da coleta da 1ª amostra da sorologia	02 Data da coleta da 1ª amostra de outra amostra	03 Especificar tipo de exame :		
	04 Óbito ? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado	<input type="checkbox"/>	05 Contato com caso semelhante ? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado		
	06 Presença de exantema ? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado	<input type="checkbox"/>	07 Data do início do exatema	08 Presença de petéquias ou sufusões hemorrágicas ? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado	
	09 Foi realizado líquor ? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado	<input type="checkbox"/>	10 Resultado da bacterioscopia :		
	11 O paciente tomou vacina contra agravo notificado neste impresso ? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado	<input type="checkbox"/>	12 Data da última dose tomada	13 Ocorreu hospitalização ? 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado	14 Data da hospitalização
	15 UF	16 Município do hospital	Código (IBGE)	17 Nome do hospital	Código
	18 Hipóteses diagnósticas no momento da notificação				
	1ª Hipótese Diagnóstica - CID 10: _____				
	2ª Hipótese Diagnóstica - CID 10: _____				
	Localização da Infecção	19 Local provável de infecção (classificação provisória )			
País: _____		UF <input type="text"/>	Município: _____		
Distrito : _____		Bairro: _____			

Dados Complementares/ Notificação

SVS 30/10/2007

## ANEXO 2. Ficha de Investigação Individual

República Federativa do Brasil Ministério da Saúde		SINAN SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO		Nº		
FICHA DE INVESTIGAÇÃO		DOENÇA DE CHAGAS AGUDA				
<p><b>CASO SUSPEITO:</b> - febre prolongada (&gt;7 dias) e quadro clínico sugestivo de DCA, na presença de dados epidemiológicos compatíveis, como: residente ou visitante da área com ocorrência de triatomíneos; ou antecedente recente de transfusão sanguínea ou transplante de órgão; ou ingestão de alimento suspeito de contaminação pelo T.cruzi; ou recém nascido de mãe infectada.</p> <p><b>CASO CONFIRMADO:</b> a- Critério laboratorial: paciente com exame parasitológico direto positivo com ou sem sintomas OU sorologia positiva com anticorpos anti T. cruzi classe IgM no sangue periférico OU sorologia positiva com anticorpos da classe IgG, com alteração na concentração de pelo menos três títulos em um intervalo mínimo de 21 dias em amostras tiradas OU achados necropsícopos positivos. b- Critério clínico-epidemiológico: vínculo epidemiológico com casos confirmados de DCA em surtos da doença.</p>						
Dados Gerais	1	Tipo de Notificação		2 - Individual		
	2	Agravado/enfermidade		Código (CID10)	3	
	DOENÇA DE CHAGAS AGUDA		B.57.1	Data de Notificação		
	4	UF	5	Município de Notificação		
					Código (IBGE)	
Notificação Individual	6	Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora)		Código	7	
					Data dos Primeiros Sintomas	
	8	Nome do Paciente			9	
					Data de Nascimento	
	10	(ou) Idade	11	Sexo	12	
1 - Não 2 - Dia 3 - Mês 4 - Anos		1 - Masculino 2 - Feminino 3 - Ignorado	1 - 1º trimestre 2 - 2º trimestre 3 - 3º trimestre 4 - Não gestacional (gravidez) 5 - Não 6 - Não se aplica		13	
				Região/Cor		
				1 - Amarela 2 - Preta 3 - Branco 4 - Pardo 5 - Indígena 6 - Ignorado		
14	Escolaridade					
1 - Analfabeto 2 - 1ª a 4ª série incompleta do EP (antigo primário ou 1º grau) 3 - 4ª série completa do EP (antigo primário ou 1º grau) 4 - 5ª a 8ª série incompleta do EP (antigo ginásio ou 1º grau) 5 - Ensino fundamental completo (antigo ginásio ou 1º grau) 6 - Ensino médio incompleto (antigo colégio ou 2º grau) 7 - Ensino médio completo (antigo colégio ou 2º grau) 8 - Educação superior incompleta 9 - Educação superior completa 10 - Ignorado 11 - Não se aplica						
15	Número do Cartão SUS		16			
				Nome de mãe		
Dados de Residência	17	UF	18	Município de Residência		
					Código (IBGE)	
					19	
					Distrito	
	20	Bairro		21	Logradouro (rua, avenida, ...)	
					Código	
	22	Número	23	Complemento (apto., casa, ...)		
					24	
				Geo campo 1		
25	Geo campo 2		26	Ponto de Referência		
				27		
				CEP		
28	(DDD) Telefone		29	Zona		
				1 - Urbana 2 - Rural 3 - Periurbana 4 - Ignorado		
				30		
				País (se residente fora do Brasil)		
<b>Dados Complementares do Caso</b>						
Atribuições epidemiológicas	31	Data de Investigação		32	Ocupação	
	33 Deslocamento (viagens para áreas infestadas até 120 dias antes do início dos sintomas)					
	UF			Município		
34	Presença de Vestígios de Triatomídeos Intra-Domicílio		35	Data de encontro dos vestígios		
1 - Sim 2 - Não 3 - Não Realizado 4 - Ignorado						
36	História de Uso de Sangue ou Hemoderivados nos Últimos 120 Dias					
1 - Sim 2 - Não 3 - Ignorado						
37	Existência de Controle Sorológico na Unidade de Hemoterapia		38	Manipulação/Contato de Material com T. cruzi		
1-Sim 2-Não 3-Não se Aplica 4-Ignorado				1 - Sim 2 - Não 3 - Não se Aplica 4 - Ignorado		
39	Menor ou igual a 9 meses de idade: Mãe com infecção Chagásica		40	Possibilidade de transmissão por via oral		
1-Sim 2-Não 3-Não se Aplica 4-Ignorado				1-Sim 2-Não 3-Ignorado		



Dados Clínicos	41	Sinais e Sintomas			1 - Sim	2 - Não	3 - Ignorado			<input type="checkbox"/>	Polideneoplasia		
	<input type="checkbox"/>	Assintomático	<input type="checkbox"/>	Edema de face/membros	<input type="checkbox"/>	Sinais de Meningoencefalite	<input type="checkbox"/>	Sinais de ICC	<input type="checkbox"/>	Outros	Tequicoanda Persistente/Artrites		
Exames Realizados	42	Data de coleta								<input type="checkbox"/>	Exame a Fresco/Gota espessa/Exameço		
	43	Parasitológico Direto			1 - Positivo	2 - Negativo	3 - Não Realizado			<input type="checkbox"/>	Strou/Microhematocrito/QBC		
	44	Data de coleta								<input type="checkbox"/>	Xenodiagnóstico		
	45	Parasitológico Indireto			1 - Positivo	2 - Negativo	3 - Não Realizado			<input type="checkbox"/>	Hemocultivo		
	46	Data de coleta S1											
	47	Data de coleta S2											
	48	Resultado da Sorologia para ELISA			IgM		IgG						
	49	Resultado de Hemaglutinação			IgM		IgG						
	50	Resultado da Imunofluorescência Indireta - IFI			IgM		Titulos		IgG		Titulos		
	51	Data de coleta do Histopatológico											
52	Resultado do Histopatológico (biópsia/necropsia)			1 - Positivo	2 - Negativo	3 - Não Realizado	3 - Ignorado						
Tratamento	53	Tipo de Tratamento			<input type="checkbox"/>	Específico	<input type="checkbox"/>	Sintomático					
	54	Droga Utilizada no Tratamento Específico			1 - Benzidazol	2 - Outro							
Medidas de Controle	55	Medidas Tomadas			1 - Sim	2 - Não	3 - Não se Aplica	3 - Ignorado					
	56	Controle de Triatomídeos											
Contexto	57	Classificação Final			<input type="checkbox"/>	1 - Confirmado	<input type="checkbox"/>	2 - Descartado					
	58	Critério de Confirmação/Descarte			1 - Laboratório	2 - Clínico-Epidemiológico	3 - Clínico						
	59	Evolução do Caso			<input type="checkbox"/>	1 - Vivo	<input type="checkbox"/>	2 - Óbito por D. Chagas Aguda					
	60	Data do Óbito											
	61	Modo Provável de Infecção			1 - Transfusional	2 - Vetorial	3 - Vertical	4 - Acidental	5 - Oral	6 - Outra	3 - Ignorado		
	62	Local Provável de Infecção (no período de 120 dias)			1 - Unidade de Hemoterapia	2 - Domicílio	3 - Laboratório	4 - Outro	3 - Ignorado				
	63	O caso é autóctone do município de residência?			1 - Sim	2 - Não	3 - Indeterminado						
	64	Município			Código (IBGE)								
	65	Distrito											
	66	Doença Relacionada ao Trabalho			1 - Sim	2 - Não	3 - Ignorado						
Observações	67	Bairro											
	68	UF											
	69	País											
	70	Data do Encerramento											
	71	Data do Encerramento											
Investigador	Município/Unidade de Saúde												
	Nome			Função									
	Assinatura												

### ANEXO 3. Ficha clínico-epidemiológica

#### DADOS DEMOGRÁFICOS

Nome \_\_\_\_\_

Sexo: Feminino  Masculino  Cor \_\_\_\_\_

Data de Nascimento \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_ Naturalidade \_\_\_\_\_

Escolaridade \_\_\_\_\_ Profissão \_\_\_\_\_

Endereço Residencial \_\_\_\_\_

Telefone de contato: \_\_\_\_\_

Procedência caso \_\_\_\_\_ Urbano  Epidemia

Provável via de transmissão \_\_\_\_\_

Febre atual \_\_\_\_\_ Queixa principal \_\_\_\_\_

Data de início \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_ Duração da febre: \_\_\_\_\_ (dias)

#### ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

Apresenta caso de Doença de Chagas na família? SIM  NÃO

Em caso positivo, favor especificar o parentesco: \_\_\_\_\_

Conhece o barbeiro? SIM  NÃO

Já encontrou barbeiro em casa? SIM  NÃO

Morte súbita na família? SIM  NÃO

Em caso positivo, favor especificar o parentesco: \_\_\_\_\_

Tipo de residência:  Madeira  Taipa  Alvenaria  Outra \_\_\_\_\_

Mata próxima a sua casa? SIM  NÃO  Tipo \_\_\_\_\_

Consome açaí nas refeições? SIM  NÃO

OBS: \_\_\_\_\_

Consome carne de caça nas refeições? SIM  NÃO

OBS: \_\_\_\_\_

Já realizou transfusão sanguínea? SIM  NÃO

OBS: \_\_\_\_\_

Doou sangue recentemente (até 60 dias)? SIM  NÃO

Presença de Gravidez? SIM  NÃO

**DIAGNÓSTICOS ANTERIORES:**

Apresenta evidências de cardiopatia não chagásica, como: cardiopatia reumática, isquêmica, congênita ou hipertensiva? SIM NÃO

Em caso positivo, especificar: \_\_\_\_\_

Já apresentou diagnóstico positivo para:

	SIM <input type="checkbox"/>	NÃO <input type="checkbox"/>
Malária?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Leishmaniose?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tuberculose?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sífilis?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hepatites B/C?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
HIV?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Febre Amarela?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diabetes?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Doença gastrointestinal?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**ASPECTOS CLÍNICOS**

Febre
Cefaléia
Mialgias
Artralgias
Dispnéia
Palpitações
Dor precordial
Perda dos sentidos
Edema de MMI
Edema de face
Edema generalizado
Nódulos pele
Exantema macular
Exantema puntiforme
Dor abdominal
Diarréia
Tosse

**EXAME FÍSICO**

Palidez
Mucosas hipocoradas
Cianose
Exantema
Icterícia
Adenomegalia
Pressão arterial
Estertores pulmonares
Frequência cardíaca
Sopro sistólico
Sopro diastólico
Hepatomegalia
Esplenomegalia
Dor esofágica
Regurgitação ativa/ pás.
Obstipação 5 a 10d
Obstipação + 10d
Pirose

**EXAMES COMPLEMENTARES Específicos**

Gota espessa
Direto
QBC
ELISA
IFAT IgM
IFAT IgG
Hemograma Completo
TGO (AST)
TGP (ALT)
Uréia
Creatinina
Glicemia
CPK
Sódio/ K

**EXAMES CÁRDIO - RADIOLÓGICOS**

Eletrocardiograma
Normal
Frequência Cardíaca
Taquicardia
Bradicardia
Fibrilação atrial
ES supraventricular
ES ventricular rara
ES ventricular monom.
ES ventricular polim.
ES ventric bigeminismo
Baixa V QRS
Bloqueio AV 1o. g
Bloqueio AV 2o. g
Bloqueio AV 3o. g
Bloqueio RD (BCRD)
Bloqueio RE (BRE)
Bloqueio D Antero superior do RE (BDAS do RE)
ADRV
Sobrecarga atrial D
Sobrecarga atrial E
Sobrecarga Vent E
Sobrecarga Vent D
Zona eletric. inativa
Radiologia
Ecocardiograma
Fração ejeção
Cardiomegalia
Megaesôfago grau I
Megaesôfago grau II
Megacólon
Ultra sonografia
Rx tórax

**EVOLUÇÃO**

---

Obs: \_\_\_\_\_

## ANEXO 4.

### ANEXO I - Termo do Consentimento Livre e Esclarecido

Instituição – Fundação Oswaldo Cruz e Núcleo de Medicina Tropical

Projeto de Pesquisa – “ANÁLISE DA RESPOSTA IMUNE DE PACIENTES AGUDOS INFECTADOS POR VIA ORAL EM UMA REGIÃO ENDEMICAMENTE DOENÇA DE CHAGAS DA AMAZONIA BRASILEIRA (PARÁ)”

Pesquisadores – Valéria Regina Cavalcante dos Santos, José Rodrigues Coura, Wilson Savino, Juliana de Meis, Dilma Souza.

Eu \_\_\_\_\_ fui convidado a participar do projeto De Pesquisa: “Análise da resposta imune de pacientes agudos infectados por via oral em uma região endêmica de doença de chagas da Amazônia brasileira (Pará)”.

#### Informações sobre o estudo

Você está sendo convidado a participar de um estudo clínico sobre os marcadores que podem ser utilizados como critérios de cura ou benefícios em pessoas que possuem doença de Chagas. A sua participação é voluntária, isto é, você só participa se quiser e mesmo se não quiser ou desistir de participar não terá nenhum prejuízo para o seu tratamento. Por favor, dedique um tempo para ler cuidadosamente as informações a seguir sobre a doença de Chagas e também para ouvir as explicações fornecidas pelo pesquisador. Sinta-se livre para perguntar sobre qualquer ponto que não estiver claro ou se quiser receber mais informações. Leve o tempo que for necessário para decidir se deseja ou não participar do estudo.

A doença de Chagas é causada pelas fezes do parasita *Trypanosoma cruzi* conhecido como barbeiro que caindo no sangue afeta os gânglios, o fígado e o baço. Depois se localiza no coração, intestino e esôfago, o que causa problemas como cardite chagásica (aumento do coração), megacólon (aumento do cólon que pode provocar retenção das fezes) e megaesôfago, cujo principal sintoma é a regurgitação dos alimentos ingeridos. Essas lesões são definitivas, irreversíveis. No Brasil, foram registrados casos da infecção transmitida por via oral nas pessoas que tomaram caldo-de-cana ou comeram açaí moído, o provável é que haja uma invasão ativa do parasita diretamente através do aparelho digestivo nesse tipo de transmissão. A transmissão oral do *T. cruzi* por ingestão de polpa de açaí, bacaba, babaçu e cana-de-açúcar se tornou a via mais frequente de infecção no Brasil em vários estados, incluindo o Pará, causando surtos de Chagas agudo com sintomas mais severos, possivelmente pelo elevado número de parasitas que são ingeridos na transmissão.

Para que você possa tomar a decisão de participar ou não deste estudo, é necessário que saiba que nenhum dado pessoal será informado, tal como seu nome e/ou endereço residencial. Se você resolver participar, será solicitado que você assine este formulário de consentimento informado.

Essa pesquisa em qual você foi convidado a participar será desenvolvida por mim, Valéria Regina Cavalcante dos Santos, por ocasião do doutorado que estou desenvolvendo numa instituição de pesquisa do Rio de Janeiro chamada Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), e orientada pelos professores doutores José Rodrigues Coura e Wilson Savino (FIOCRUZ). Em Belém/PA, este estudo está vinculado ao Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB), como instituição co-participante, com a participação da doutora Dilma Souza. Você responderá a 1 questionário, onde as perguntas serão feitas pela pesquisadora, ou seja, você não terá que fazer nada sozinho e doará 1 tubo pequeno de 10 ml de sangue. Os riscos serão diminuídos com a limpeza no local da coleta usando-se álcool e pressionando este local, por alguns minutos, após a coleta. O exame de sangue é bem simples, sendo realizado uma furada no braço uma única vez, e, caso surja alguma dúvida, no máximo uma segunda vez. O sangue será coletado dos pacientes já com diagnóstico positivo para Doença de Chagas por via oral, com requisição de coleta, e no momento da coleta para sorologia e exames de rotina solicitados pelo médico no laboratório do HUIBB. Este sangue será centrifugado no laboratório para separação de plasma e células e congelado em gelo seco, sendo levados para o LACEN/PA - Laboratório Central de Saúde Pública do Pará para análise laboratorial de citocinas e linfócitos que são componentes do sistema de defesa do organismo. Os custos dos procedimentos (material de coleta e o material para separação das células) e os cuidados com as amostras será da FioCruz não onerando o orçamento do HUIBB.

**Desconfortos e riscos e benefícios:** O desconforto e o risco a sua saúde são mínimos, podendo ocorrer pequena formação de coágulo sanguíneo no local da punção. O benefício que este exame trará para você é conhecer a resposta do sistema de defesa do organismo na doença de Chagas de transmissão por via oral e entender melhor os sintomas e auxiliar no tratamento.

**Garantia de esclarecimento, liberdade de recusa e garantia de sigilo:** As informações de tudo o que você nos contar sobre si mesmo serão mantidas em segredo e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Quando formos divulgar os resultados, não identificaremos o nome de nenhum participante. Você receberá uma cópia deste documento assinado para seu arquivo onde consta o telefone/e-mail do pesquisador responsável, podendo tirar as suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento. Sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com os pesquisadores ou com as instituições parceiras.

Se tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB) na Rua dos

Mundurucus, 4487 1º andar - Bairro Guamá, CEP:66073-000 – Belém/PA, Telefone (91) 32016754, E-mail: cepujbb@yahoo.com.br ou com Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - IPEC/FIOCRUZ na Avenida Brasil, 4365 – Maguinhos – CEP: 21040-900 – Rio de Janeiro/RJ, Telefone: (21) 3865-9585 e 3865-9107, E-mail: cep@ipecc.fiocruz.br.

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar voluntariamente deste estudo.

Belém, \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Assinatura do paciente \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Assinatura da pesquisadora \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Testemunha \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Valéria Regina Cavalcante dos Santos. CRF 1534.**

**Telefone: (91) 98411-1978.**

**Email: valregsantos@yahoo.com.br**

ANEXO 5.

Memórias do Instituto Oswaldo Cruz



**Acute Chagas Disease in the State of Pará (Amazon region):  
is it increasing?**

Journal:	Memórias do Instituto Oswaldo Cruz
Manuscript ID	MIOC-2017-0298
Manuscript Type:	Short Communication
Date Submitted by the Author:	25-Jul-2017
Complete List of Authors:	SANTOS, VALÉRIA; Fundação Oswaldo Cruz, Laboratório de Doenças Parasitárias De Mels, Juliana; FIOCRUZ. Savino, Wilson; Fundação Oswaldo Cruz, Laboratory on Thymus Research; Andrade, Jorge ; Pará State Department of Public Health (SESPA) Vieira, José Ricardo; Federal University of Pará, Institute of Biological Sciences Coura, José; IOC-Fiocruz, Lab Doenças Parasitárias Junqueira, Angela Cristina; Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Laboratório de Doenças Parasitárias
Keyword:	Acute Chagas Disease, Oral Transmission, Brazilian Disease Notification Information System, disease surveillance
Theme:	Acute Chagas Disease, Oral Transmission

SCHOLARONE™  
Manuscripts

<https://mc04.manuscriptcentral.com/mioc-eclio>





Chagas disease, caused by the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), is an endemic infection of chronic evolution and remains a serious public health problem in Brazil and throughout Latin America, particularly in the Amazon region. According to the bulletin of the Brazilian Ministry of Health, 1,034 cases of orally transmitted acute Chagas disease (ACD) were registered from 2000 to 2013 (Brasil 2015). These cases and outbreaks of ACD are related to the ingestion of contaminated food (açai, bacaba, consumption of wildlife meat such as capybara, armadillo, opossum by rural populations), revealing a peculiar epidemiological profile that, so far, has not manifested in an expressive form in traditional endemic areas (Pinto et al. 2008, Nóbrega et al. 2009, Passos et al. 2012, Shikanai-Yasuda & Carvalho 2012, Coura 2015; Brasil 2017). Diagnosis of ACD is accomplished by the identification of *T. cruzi* in blood by direct parasitological methods (Yoshida 2009, Junqueira et al. 2015, Dias et al. 2016); Notification (suspected case) and confirmation (diagnostic confirmation) of cases are identified following the compulsory notification protocol of the Brazilian Notifiable Diseases Information System (SINAN) (Brasil 2016, Brasil 2007). Gradually implemented in 1993 by the Brazilian Ministry of Health, SINAN became regulated through the Ministerial Ordinance #073, dated 9 March, 1998. This made notification mandatory for municipalities, states and the Federal District, to regularly report the closure of investigation into suspicious cases of ACD to the national database within the minimum term of 60 days after notification using the SINAN reporting/investigation form. The objective of this system is to collect and process national compulsory notifications of disease, to delineate the history and magnitude of the disease, to facilitate the detection of outbreaks or epidemics, to guide decision making in the three governmental levels and to serve as a tool for developing strategies aiming at guide prevention and control measures (Brasil 2016, Brasil 2007). In the present study we

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

evaluated the occurrence and profile of the notified and confirmed cases of ACD, from 2000 to 2016, in the municipalities of the state of Pará, in the Brazilian Amazon Region. Accordingly, a descriptive study of the ACD cases registered in SINAN during the period of 2000 to 2016 was performed. From 2000 on the system began using SINAN-Windows, but in 2000 and 2001 it was only possible to analyze the notified cases of ACD due to the difficulty in retrieving the files. Currently we have SINAN version 5.0 and the update 5.2 to the entire country (Brasil 2007). From 2000 until 2016, according to SINAN in each State of Brazil (SINAN State), we could find 16,807 notifications (suspected cases) among 130 of 144 municipalities of Pará and 2,030 cases were confirmed as ACD (by laboratory diagnosis) in 81 of these municipalities, with an average of 135 cases per year (standard deviation = 99.8; median = 114 cases) [95% CI = 80.0-190.6]. The year with the fewest confirmed cases was 2005, with five cases (0.2% of the total), and the year with the most confirmed cases was 2016, reaching 327 cases (16.1% of the total). We also calculated the percentage of autochthonous cases notified (suspected ACD) and confirmed (by presence of *T. cruzi* infection) by municipality. The percentage of confirmed cases in relation to those notified was 12.1% (Table 1). In the period 1996-1999, 75 cases were confirmed and from 2000 to 2001 there were 50 confirmed cases, according to information from Brazilian Ministry of Health (MS), but not SINAN database in the state, for a total for the period from 1996 to 2016 of 2,155 confirmed cases of ACD. The municipality of Abaetetuba had the largest number of cases reported (4,205; 25.0% of notifications) followed by Belém (1,713; 10.2%) and Barcarena (1,611; 9.6%) (Table 1). However, the analysis of confirmed cases in relation to those notified by municipalities showed that Barcarena and Abaetetuba had low percentages of confirmation (8.8% and 7.4%, respectively).

1  
2  
3 whereas Bagre, Anajás and Portel had high percentages (83.7%, 54.9% and 44.9%,  
4  
5 respectively).  
6

7  
8 We thus analysed whether or not the numbers of suspected and confirmed cases  
9  
10 of ACD were increasing. For that, we applied the Pearson logistic regression of the  
11  
12 tendency of increase or decrease of cases, considering a 95% level of significance ( $p <$   
13  
14 0.05) and the *software* Bioestat version 5. We found a significant increase in the number  
15  
16 of notified suspected cases ( $p < 0.0001$ ) and confirmed cases ( $p = 0.0001$ ) throughout  
17  
18 the study period. However, the percentage of confirmed cases in relation to those  
19  
20 notified fell significantly during the same period ( $p = 0.012$ ). Hypotheses for the  
21  
22 difference between the notified and confirmed cases include an improved performance  
23  
24 of the State's Chagas disease program since its implementation through publicity  
25  
26 campaigns and training of inspectors for sanitary surveillance, alerting the public to the  
27  
28 risks of oral contamination by açaí and indicated a greater demand by the population  
29  
30 with respect to the investigation of the disease. Another hypothesis is the lack of  
31  
32 permanence of trained professionals in the municipalities, which makes more difficult  
33  
34 the identification of the parasite by laboratory diagnosis.  
35  
36

37  
38 The map shown in Figure 1 indicates a higher concentration of ACD cases in the  
39  
40 metropolitan region of Belém, Marajó and the northeastern part of the state, which may  
41  
42 be related to the consumption of palm fruits, specially açaí, by the local population.  
43  
44 Açaí is the fruit of a palm belonging to the family Aracaceae (*Euterpe oleracea*).  
45  
46 According to Brazilian Institute of Geography and Statistics, the production of açaí in  
47  
48 the state of Pará has increased over recent years, with 13,000 producers being  
49  
50 responsible for 54% of the national production, reaching around 800,000 tons per year  
51  
52 (Tavares & Honma 2015; MAPA 2017). The municipalities of the mesoregion of the  
53  
54 northeastern part of Pará, especially Abaetetuba, Igarapé-Miri, Cametá, Moju and  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 Barcarena, as well in the Marajó island (Portel, Ponta de Pedras and Anajás) stand out  
4 with regard to açai juice production in Pará, supplying the fruit for local or regional  
5 metropolitan consumption, and for distribution after pulp pasteurization to other states  
6 as well as for export. In Belém, an estimation 200,000 liters/day are consumed during  
7 the harvest period, being the second most consumed food in the city (Rogez 2000,  
8 Santana et al. 2008, 2012, MAPA 2017). In a recent study by our group on oral ACD  
9 (unpublished data), an epidemiological inquiry concerning food consumption revealed  
10 that 99% of the 137 patients aged from 18 to 77 years, responded as consuming açai in  
11 their daily routine (lunch and/or dinner), suggesting that the contaminated by *T. cruzi*  
12 may be involved in influencing the number of cases of ACD in the State.  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24

25 Evaluation of the confirmed ACD cases throughout the year, revealed that the  
26 largest number of confirmation of cases occurred between August and December,  
27 indicating a seasonal pattern for the disease. This period coincides with the greatest açai  
28 production, concentrated in the second half of the year, with higher yields in the months  
29 of September, October, November and December (Rogez 2000, Santana et al. 2008,  
30 2012). It should be noted that the processing of açai in Pará is done in an artisanal  
31 manner, with extraction of the pulp being accomplished with the aid of a beating or  
32 pulping machine. The possibility of contamination is not recent since oral transmission  
33 of the disease has been recorded in the Amazon region since the 1960s (Shaw et al.  
34 1969, Dias et al. 2008, Pinto et al. 2008; Nobrega et al. 2009). Figure 2 shows that an  
35 increase in cases is expected during the course of each year beginning in July and  
36 peaking in September. This distribution corroborates results previously reported by  
37 Pinto et al. (2008).  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53

54 The epidemiological profile of the disease presents a scenario with the  
55 occurrence of the majority of cases suggestive of oral transmission in the form of an  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 outbreak or in the absence of triatomine bugs in the residences. According to the  
4  
5 epidemiological bulletin of 2015 (Ministry of Health), in the period 2000-2013, 812  
6  
7 cases of oral transmission of Chagas disease were confirmed in the state of Pará (Brasil  
8  
9 2015), numbers that seems to be underestimated, since, according to SINAN State  
10  
11 records only from 2007 to 2013, 851 cases of oral transmission were confirmed in Pará.  
12  
13 The most affected age group corresponds to adults between 18 and 60 years with 69%  
14  
15 (38% male and 31% female, respectively). In the age group 0 to 17 years, 19% (10% of  
16  
17 the cases were male and 9% female, respectively), while over 60 years there was a total  
18  
19 of 12% (with 6% male and 6% female, respectively).  
20  
21

22  
23 In the specific records of oral transmission, males were also more affected  
24  
25 within an age group, excepting the age groups of 13-17 years and over 60 years in  
26  
27 which females were most affected. Analysis of the location of the residence revealed  
28  
29 that the greatest number of cases came from the urban zone, with a total of 1,020 cases,  
30  
31 whereas 880 cases were recorded in rural areas. This difference can be attributed to the  
32  
33 larger population in the urban area, with 5,197,118 inhabitants, as comparing to the  
34  
35 2,390,960 in the rural population, according to the last national census, undertaken in  
36  
37 2010. This finding suggests that the urban area has a greater number of consumers of  
38  
39 açai in a daily basis. It may also be related to the fact that in the urban area, the  
40  
41 diagnosis and actively search for cases are better carried out (Pickenhayn et al. 2006,  
42  
43 Urdaneta-Morales 2014, Alroy et al 2015).  
44  
45  
46

47  
48 We observed that the most prevalent form was oral transmission, which  
49  
50 accounted for 74.3% of the cases; the remaining 25.7% being distributed among vector  
51  
52 pathways (13.7%), ignored (11.2%), transplacental (0.2%), accidental (0.2%) and others  
53  
54 (0.4%). It is interesting to note that according to the SINAN in the State of Pará, oral  
55  
56 infection records appeared in 2007, suggesting an under-reporting in the system before  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 2007. The most frequent clinical manifestations were fever (85-100% of patients),  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
2007. The most frequent clinical manifestations were fever (85-100% of patients),  
asthenia and edema, occurring mainly in the face (facial edema 60-70%) or the lower  
limbs (22-47%); and generalized (4-14%). Edema has been previously associated with  
the acute phase of oral infection (Pinto et al. 2008, Shikanai-Yasuda & Carvalho 2012,  
de Noya 2015, Souza & Povoá 2016). A Chagoma of inoculation, which is the signal of  
entry of the classical vector pathway was present in only 1-2% of the records.

Regarding the evolution of the cases, 48 deaths were recorded for all cases  
(2,030), with a lethality rate of 2% and peaks in 2007, 2011 and 2016. Twenty-seven of  
deaths (56.25%) were attributed to oral infection, 9 (18.75%) to vector infection and 12  
(25%) were of an unknown infection route (Fig 3). One reason for this number of deaths  
may be the late diagnosis of infection and cardiac compromise, including acute chagasic  
myocarditis. Since Chagas disease cardiomyopathy is an important cause of death, with  
great morbidity, early diagnosis and prompt treatment is of paramount importance and  
may alter the clinical course of the disease (Pinto et al. 2008, Brasil 2012, Souza &  
Povoá 2016).

The state of Pará possesses an açai production chain that involves approximately  
300,000 people. The fruit arrives daily to be sold in Belém and during the period of  
harvest 471,000 liters of açai are sold at around 3,000 points of sale (CONTECC 2015,  
SEDAP 2015). According to the Decree Nº 326, 20 January 2012, which establishes  
good practice procedures for the handling of açai, and the recommendations of the  
Secretary of health Surveillance for the prevention, control and clinical management of  
cases of oral contamination, one of the effective strategies for preventing the disease is  
the "bleaching" or "whitening" of the açai, which is accomplished by thermal shock  
(Brasil 2012, Fellows 2006). We observed no evidence of a decrease in the number of  
cases over the years, which means an increasing challenge for public health. Agility in

1  
2  
3 the early diagnosis of ACD is indispensable and notification of cases. Moreover,  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

the early diagnosis of ACD is indispensable and notification of cases. Moreover, conduct of an epidemiological inquiry must be performed in order to establish the actual risk factors. It is essential, that healthcare professionals understand that the absence of records regarding specific laboratory tests for ACD and inadequate completion of the reporting and investigation forms compromises the closure of cases. Obtaining quality data is an essential condition for the health system to detect failures and to formulate proposals for intervention to effectively control the disease. Identification of the appropriate tools is highly relevant to ensuring that information used by managers facilitates the definition of public policies and aids in the planning of actions so that SINAN data provide information as close to the reality lived by the population as possible, so that to support the planning of control actions. Based on the increase in the number of cases over the course of 15 years, which may be due to population growth or other risk factors attributed to the consumption of food contaminated with metacyclic trypomastigote forms of *T. cruzi*, we suggest that prevention and control measures established by the Brazilian National Agency for Sanitary Surveillance (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA) and the Sanitary Surveillance in the State of Pará must be intensified, especially in the municipalities that have been reporting yearly cases of ACD. Among the various measures we highlight: good agricultural practices by extractivists and producers to protect açai from contamination during primary production; and the "bleaching" or "whitening" of the fruits as a routine practice of quality control of the artisanal açai consumed by the population in Pará, since industrialized production utilizes pasteurized pulp (ANVISA 2008).

In conclusion, even with a huge difference between ACD confirmed cases and those notification (suspected) cases reported, it is clear-cut the increase in numbers of



1  
2  
3 ACD along with the last decade. Taking this into account, campaigns to prevent oral  
4 transmission in the State of Pará urgently need to be intensified.  
5  
6  
7  
8

#### 9 10 **ACKNOWLEDGEMENTS**

11 We thank Milton Carlos da Silva Araújo from *Secretaria de Estado de Saúde do Rio de*  
12 *Janeiro* for helpful informations concerning SINAN, as well as suggestions to improve  
13 the manuscript. We also thank Rafael dos Santos Pereira and Paulo Peiter (Laboratory  
14 of Parasitic Diseases, Oswaldo Cruz Institute, Rio de Janeiro) for drawing the map from  
15 the epidemiological data, Martha C Suárez Mutis (Tropical Medicine PhD program  
16 coordinator at the Oswaldo Cruz Institute) for her contribution and assistance with the  
17 statistics and Veruska Maia da Costa from Secretariat of Health Surveillance  
18 (SVS)/Ministry of Health (MS) by her help in sending SINAN-derived data from the  
19 Pará State.  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32

#### 33 34 **REFERENCES**

- 35  
36 Alroy KA, Huang C, Gilman RH, Quispe-Machaca VR, Marks MA, Ancca-Juarez J,  
37 Hillyard M, Verastegui M, Sanchez G, Cabrera L, Vidal E, Billig EM, Cama VA,  
38 Niquira C, Bem C, Levy MZ. Prevalence and Transmission of *Trypanosoma cruzi*  
39 in People of Rural Communities of the High Jungle of Northern Peru. *PLoS Negl*  
40 *Trop Dis.* 2015; 9(5) e0003779.  
41  
42 Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Gerenciamento do Risco  
43 Sanitário na Transmissão de Doença de Chagas Aguda por Alimentos. Informe  
44 Técnico - nº 35 de 19 de junho de 2008.  
45  
46 Available from: [http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/35\\_190608.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/35_190608.htm)  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Brasil - Ministério da Saúde do Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de Chagas aguda transmitida por alimentos. Rio de Janeiro: PANAFTOSA-VP/OPAS/OMS (Série de Manuais Técnicos, 12). Decreto Nº 326 2012. Available from: [http://ivs.panalimentos.org/local/File/Guia\\_Doenca\\_Chagas\\_2009.pdf](http://ivs.panalimentos.org/local/File/Guia_Doenca_Chagas_2009.pdf)

Brasil - Ministério da Saúde do Brasil. Doença de Chagas aguda no Brasil: série histórica de 2000 a 2013. Boletim epidemiológico 21/2015. Brasília: MS; 2015.

Available from:

[http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2015/agosto/03/2014-020\\_.pdf](http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2015/agosto/03/2014-020_.pdf)

Brasil - Ministério da Saúde do Brasil. Doença de Chagas Aguda: Notificações registradas no Sistema de Informação de Agravos de Notificação - SINAN Net. 2016. Available from: <http://portalsinan.saude.gov.br/doenca-de-chagas-aguda>.

Brasil - Guia de vigilância epidemiológica. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Vol. 3, 1ªed., 816 pp. Brasília: MS/SVS; 2017.

CONTECC (Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia). O açaí no estado do Pará e seu potencial para o desenvolvimento sustentável da região.

2015. Available from:

[http://www.confex.org.br/media/Agronomia\\_o\\_acai\\_no\\_estado\\_do\\_para\\_e\\_seu\\_potencial\\_para\\_o\\_desenvolvimento\\_sustentavel\\_da\\_regiao.pdf](http://www.confex.org.br/media/Agronomia_o_acai_no_estado_do_para_e_seu_potencial_para_o_desenvolvimento_sustentavel_da_regiao.pdf).

Coura JR. The main sceneries of Chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions - A comprehensive review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2015; v. 110, n. 3, p. 277- 82.

De Noya BANO, Robertson, L.J. *Trypanosoma cruzi* as a foodborne pathogen: Springer, 2015. 92 pp.

- 1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60
- Dias JCP, Jr. ANR, Gontijo ED, Luquetti A, Shikanai-Yasuda M A, Coura JR et al. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. *Epidemiol Serv Saúde* [Internet]. 2016 [citado 2017 Maio 11]; 25(esp):7-86.
- Dias JP, Bastos C, Araújo E, Mascarenhas AV, Martins Netto E. Acute Chagas disease outbreak associated with oral transmission. *Rev Soc Bras Med Trop* 2008; 41: 296-300.
- Fellows PJ. *Tecnologia do Processamento de Alimentos: princípios e prática*- 2 ed. – Porto Alegre: Artemed; 2006. 602 pp.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Estados@*. 2015. Available from: <http://www.censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?uf=15>.
- Junqueira, ACV, Gonçalves TCM, Moreira CJC. Training manual for the detection of *Trypanosoma cruzi* by malaria microscopists and laboratory technicians in the public health network. 2015.
- MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Produção de açaí deve ter mais assistência técnica e investimentos*. 2017. Available from: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/producao-de-acai-deve-ter-mais-assistencia-tecnica-e-investimentos>.
- Nóbrega AA, Garcia MH, Tatto E, Obara MT, Costa E, Sobel J, Araújo WN. Oral Transmission of Chagas Disease by Consumption of Açai Palm Fruit, Brazil. *Emerg Infect Dis*. Apr. 2009; 15(4): 653–655.
- Noya BA, Díaz-Bello Z, Colmenares C, Ruiz-Guevara R, Mauriello L, Muñoz-Calderón AI, Noya O. Update on oral Chagas disease outbreaks in Venezuela: epidemiological, clinical and diagnostic approaches. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2015; 110(3): 377-386.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Passos LAC, Guaraldo AMA, Barbosa RL, Dias VL, Pereira KS, Schmidt FL, Franco RMB, Alves DP. Sobrevivência e infectividade do *Trypanosoma cruzi* na polpa de açaí: estudo *in vitro* e *in vivo*. *Epidemiol. Serv Saúde*. 2012; 21(2):223-232.

Pérez-Gutiérrez E, Agrelo RS, Figueroa R. Technical Recommendation on Chagas' Disease Epidemiology and Prevention, Focussing its Transmission as a Disease Transmitted by Food. *Rev Soc Bras Med Trop* 2006; 39(5): 512-514.

Pickenhayn J, Guimarães RB, Lima SC, Curto S. Processo de urbanização da doença de Chagas na Argentina e no Brasil. *Hygeia*. 2008; 4 (7):58-69.

Pinto AYN, Valente SA, da Costa Vera, Ferreira J, Gomes A, Coura JR. Fase aguda da doença de Chagas na Amazônia brasileira Estado de 233 casos do Pará, Amapá e Maranhão observados entre 1988 e 2005. *Rev Soc Bras Med Trop* 2008; vol.41 n 6.

Rogez, H. Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação. Belém: Edufpa; 2000. 313 pp.

Santana AC, Pessoa JDC, Santana AL de. O Mercado de açaí e os desafios tecnológicos da Amazônia. In: Pessoa JDC, Teixeira GH de A. (Org.). *Tecnologias para inovação nas cadeias Euterpe*. Vol. I ed. Brasília: Embrapa; 2012. p. 21-39.

Santana AC de, Carvalho DF, Mendes FAT. *Análise sistêmica da fruticultura paraense: organização, mercado e competitividade empresarial*, ed. Belém: Banco da Amazônia; 2008. 255 pp.

SEDAP - Secretaria Estadual de desenvolvimento Agropecuário e de Pesca, Estrativismo e Silvicultura. *A fruticultura no Estrado do Pará*. 2015. Available from: <http://www.sedap.pa.gov.br/>.



1  
2  
3 Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan: normas e retinas. 2ed.  
4 Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica.  
5 Ministério da Saúde, Brasília, Brasil; 2007. 68 pp.  
6  
7

8  
9 Souza DM, Povoas RMS. Aspectos epidemiológicos e clínicos da doença de Chagas  
10 aguda no Brasil e na América Latina. Revista da Sociedade de Cardiologia do  
11 Estado de São Paulo. 2016; 26(4):222-229.  
12  
13

14  
15 Shaw J, Lainson R, Friiha H. Considerações sobre a epidemiologia dos primeiros  
16 casos autóctones de doença de Chagas registrados em Belém, Pará, Brasil. Rev  
17 Saúde Públ. 1969; 3: 153-157.  
18  
19

20  
21 Shikanai-Yasuda MA, Carvalho NB. Oral transmission of Chagas disease. Clin  
22 Infect Dis. 2012; 54(6): 845-52.  
23  
24

25  
26 Tavares GS, Honma, OKA. Comercialização do açaí no Estado do Pará: alguns  
27 comentários. Revista Observatorio de la Economía Latinoamericana, Brasil.  
28 Septiembre 2015; Available from: <https://www.embrapa.br/amazonia-oriental/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1031486/comercializacao-do-acai-no-estado-do-para-alguns-comentarios>.  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37

38  
39 Urdaneta-Morales S. Chagas' disease: an emergent urban zoonosis. The Caracas  
40 Valley (Venezuela) as an epidemiological model. Front Public Health. 2014;  
41 3(2):265.  
42  
43

44  
45 Yoshida N. Molecular mechanisms of Trypanosoma cruzi infection by oral route.  
46 Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2009; 104 (1): 101-107.  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

TABLE I Notified and confirmed autochthonous cases of Acute Chagas Disease in the State of Pará (Brazil) from 2000 to 2016 State.

Municipalities	Notifications	%	Confirmations	%	% C/N*
Abaetetuba	4203	25.0	311	15.3	7.4
Belém	1713	10.2	341	16.8	19.9
Bucareana	1611	9.6	142	7.0	8.8
Igarapé-Miri	1596	9.5	99	4.9	6.2
Cametá	930	5.5	77	3.8	8.3
Moju	731	4.3	35	1.7	4.8
Ponta de Pedras	607	3.6	18	0.9	3.0
Muaná	545	3.2	50	2.5	9.2
Breves	504	3.0	212	10.4	42.1
Ananindeua	400	2.4	85	4.2	21.3
Santarém	330	2.0	33	1.6	10.0
Santa Isabel do Pará	262	1.6	6	0.3	2.3
São Sebastião da Boa Vista	247	1.5	40	2.0	16.2
Limoeiro do Ajuru	226	1.3	41	2.0	18.1
Castanhal	219	1.3	17	0.8	7.8
São Domingos do Capim	203	1.2	21	1.0	10.3
Curralinho	166	1.0	55	2.7	33.1
Itituba	153	0.9	11	0.5	7.2
Oeiras do Pará	138	0.8	28	1.4	20.3
Altamira	108	0.6	5	0.2	4.6
Bragança	105	0.6	30	1.5	28.6
Anajás	102	0.6	56	2.8	54.9
Afua	89	0.5	26	1.3	29.2
Acaraá	88	0.5	17	0.8	19.3
Malgança	82	0.5	18	0.9	22.0
Tucuruí	80	0.5	12	0.6	15.0
Marituba	71	0.4	20	1.0	28.2
Taianduba	70	0.4	1	0.0	1.4
Portel	69	0.4	31	1.5	44.9
Mocajuba	64	0.4	4	0.2	6.3
Capitão Poço	50	0.3	2	0.1	4.0
Baçoá	43	0.3	36	1.8	83.7
Demais municípios	1000	5.9	150	7.4	15.0
<b>Total</b>	<b>16,807</b>	<b>100</b>	<b>2,030</b>	<b>100</b>	<b>12.1</b>

\* C/N = % of confirmed cases in relation to notified cases.

Source: SINAN, 2016.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60



Figure 1: Distribution cases of Acute Chagas Disease during the period 1996 – 2016, in the state of Pará, Brasil.

254x190mm (96 x 96 DPI)

Only

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

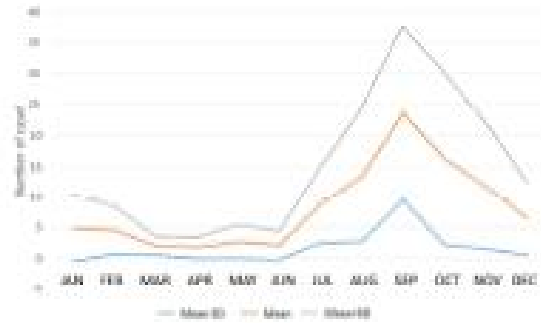


Figure 2. Monthly distribution of the cases of Acute Chagas Disease confirmed during the period 2000 – 2016, in the state of Pará, Brazil. The central curve reveals the mean cases, whereas the upper and bottom curves depict one standard deviation. Data were retrieved from the SINAN database in the state, 2016.

254x190mm (96 x 96 DPI)



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52

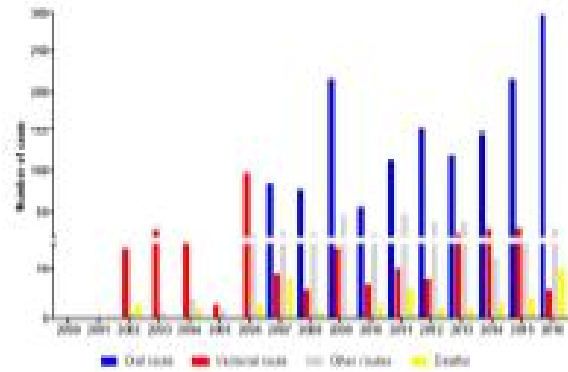


Figure 3. Distribution of Acute Chagas Disease cases regarding the putative source of infection and deaths, during the period 2000-2016, in the state of Pará, Brazil.

254x190mm (96 x 96 DPI)