

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS

DOUTORADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS INFECCIOSAS

ALEXANDRE GOMES VIZZONI

ESTUDO DA PREVALÊNCIA ENTRE OS SISTEMAS DE GRUPOS
SANGUÍNEOS ABO, RH, KELL, KIDD, DUFFY, MNS E FORMAS CLÍNICAS
DA DOENÇA DE CHAGAS

Rio de Janeiro

2016

ESTUDO DA PREVALÊNCIA ENTRE OS SISTEMAS DE GRUPOS
SANGUÍNEOS ABO, RH, KELL, KIDD, DUFFY, MNS E FORMAS CLÍNICAS
DA DOENÇA DE CHAGAS

ALEXANDRE GOMES VIZZONI

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação *Stricto Sensu*
do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para
obtenção do grau de Doutor em Ciências. Área de
Concentração: Doenças Infecciosas.

Orientadores: Prof. Dr. Roberto Magalhães Saraiva

Prof. Dr. Pedro Emanuel A. A. do Brasil

Rio de Janeiro

2016

ALEXANDRE GOMES VIZZONI

Estudo da Prevalência entre os sistemas de grupos sanguíneos ABO, Rh, Kell,
Kidd, Duffy, MNS e formas clínicas da doença de Chagas

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação *Stricto Sensu*
do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para
obtenção do grau de Doutor em Ciências. Área de
Concentração: Doenças Infecciosas.

Orientadores: Prof. Dr. Roberto Magalhães Saraiva

Prof. Dr. Pedro Emanuel A. A. do Brasil

BANCA EXAMINADORA:

Dra. Andrea Rodrigues da Costa, M.D., PhD.
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas - INI

Dr. Cláudio Cesar Cirne dos Santos Pessanha, PhD.
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

Dr. Gilberto Marcelo Sperandio da Silva, PhD.
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas - INI

Dra. Fernanda Azevedo Silva, PhD.
Instituto Estadual de Hematologia e Hemoterapia – HEMORIO

Dr. Márcio Neves Bóia, PhD.
Instituto Oswaldo Cruz - IOC

Este trabalho é dedicado à minha esposa e aos meus filhos, fonte de inspiração constante, pela força nos momentos difíceis que permearam este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, Dr. Roberto Magalhães Saraiva e Pedro Emanuel A. A. do Brasil, pelo exemplo de profissionalismo, ética e dedicação. Agradeço de forma especial ao Dr. Roberto Saraiva por ter respeitado meus limites e minhas dificuldades, permitindo uma trajetória séria e serena para o meu crescimento profissional em múltiplas direções.

Ao Dr. Gilberto Marcelo Sperandio da Silva, por sua participação nos seminários científicos, contribuindo com sábias avaliações e sugestões, as quais foram acatadas.

Ao Dr. Alejandro Marcel Hasslocher Moreno, que acreditou no meu potencial e incentivou continuamente a concretização desta jornada profissional. Meus sinceros agradecimentos.

A Prof.^a. Raquel de Vasconcellos Carvalhães de Oliveira e a Marcel Quintana pela importante colaboração na análise estatística.

Aos médicos do Laboratório de Pesquisa Clínica em doença de Chagas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas - INI/FIOCRUZ, pelo apoio nas consultas clínicas dos pacientes. Um agradecimento especial ao Dr. Luiz Henrique C. Sangenis que tanto contribuiu para o recrutamento dos pacientes.

Em especial, agradeço a Antônio Fernando Vieira Pascoal e Flavia Regina Medeiros da Silva, pelo companheirismo e importante auxílio na realização dos testes de fenotipagem eritrocitária.

Aos meus pais, que buscaram continuamente através da educação o meu crescimento como ser humano e profissional, muitas vezes sufocando seus desejos para que eu pudesse realizar os meus.

A minha amada esposa Amanda pela extrema compreensão e dedicação que teve comigo, me apoiando e incentivando o tempo todo que esta tese “durou dentro e fora de casa”.

Aos meus filhos Pedro e Sarah, por compreenderem o momento que passei durante o processo de finalização da escrita da tese, quando não pude lhes dar a atenção desejada, nem compartilhar momentos de lazer tão importantes entre um pai e seus filhos.

E, com especial gratidão, a todos os pacientes que doaram seu sangue voluntariamente, possibilitando a concretização deste trabalho, e proporcionaram a oportunidade de novos caminhos e esperança aos que necessitam de dias melhores.

Vizzoni, A G. Estudo da prevalência entre sistemas de grupos sanguíneos ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS e formas clínicas da doença de Chagas. **Rio de Janeiro; 2016. Tese. [Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.**

RESUMO

Fundamentos: Estima-se em 8 a 10 milhões o número de indivíduos em toda América Latina com doença de Chagas, cuja forma clínica predominante é a forma indeterminada, presente em 50 a 70% dos casos. As razões que alguns pacientes desenvolvem formas clínicas diferentes ou permanecem assintomáticos não são claras. Acredita-se que marcadores imunogenéticos teciduais influenciam o tropismo de *Trypanosoma cruzi* em diferentes órgãos. Sistemas ABO e outros grupos sanguíneos expressam uma variedade de antígenos de carboidratos nos tecidos que influenciam a susceptibilidade ou resistência a doenças.

Objetivo: Este estudo teve como objetivo analisar a associação dos sistemas ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS e as formas clínicas da doença de Chagas.

Pacientes e métodos: Tratou-se de pesquisa descritiva e transversal, onde foram avaliadas as informações relacionadas a dados demográficos, socioeconômicos, fenotipagens eritrocitárias e comorbidades associadas à doença de Chagas de pacientes cadastrados no INI-Fiocruz entre 2013 a 2016.

Resultados: Foram estudados 619 pacientes. A média de idade dos pacientes foi de 60,1±12,1 anos, com 56,9% do sexo feminino. A distribuição dos pacientes por faixa etária nas diferentes regiões do país revela que a coorte do INI está mudando seu perfil, com prevalência de indivíduos mais jovens ente 18 a 44 anos ($p < 0,001$) oriundos dos estados do Ceará (36,5%), Paraíba (18,9%) e Rio de Janeiro (12,2%) e pacientes mais idosos oriundos de Pernambuco (16,8%), Minas Gerais (25,0%) e Bahia (30,0%). Foi encontrada diferença significativa para a distribuição da prevalência do sistema ABO entre pacientes com forma indeterminada e digestiva ($p = 0,008$). Não houve diferenças significantes na distribuição da prevalência dos demais sistemas sanguíneos entre as formas clínicas da doença de Chagas.

Conclusão: Foi encontrada diferença significativa para a distribuição da prevalência do sistema ABO entre pacientes com forma indeterminada e digestiva. Não houve diferenças significantes na distribuição da prevalência dos demais sistemas sanguíneos entre as formas clínicas da doença de Chagas. Há mudança no perfil epidemiológico da coorte acompanhada no INI já que entre mais jovens predominam pacientes de Ceará, Paraíba e Rio de Janeiro e não mais Bahia e Minas Gerais o que reflete as ações de controle da transmissão da doença de Chagas.

Palavras-chave: Doença de Chagas; Sistemas de grupos sanguíneos; Antígenos.

Vizzoni, A G. Prevalence between blood group systems ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS and clinical forms of Chagas disease. **Rio de Janeiro; 2016. Thesis. [PhD in Clinic Research in Infectious Diseases] – Evandro Chagas Infectious Diseases National Institute.**

ABSTRACT

Background: Chagas disease affects around 8 million people throughout Latin America and 50 to 70% of the patients present the indeterminate form of the disease. The reasons that some patients develop different clinical forms or remain asymptomatic are unclear. Tissue immunogenetic markers may influence *Trypanosoma cruzi* tropism for different organs. ABO and other blood group systems express a variety of tissue carbohydrate antigens that influence the susceptibility or resistance to diseases. **Objective:** We aimed to evaluate the association of ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS blood group systems and the clinical forms of Chagas disease.

Patients and Methods: This was a descriptive cross-sectional study which included patients with Chagas disease followed at the outpatient clinic of the INI/Fiocruz between 2013-2016. The following information were collected: demographic, socioeconomic, red blood cell phenotyping, and comorbidities.

Results: A total of 619 patients (60.1±12.1 years old, 56.9% female) were included in this study. Geoprocessing demonstrated that most patients younger than 45 years old were born in the states of Ceará (36.5%), Paraíba (18.9%) and Rio de Janeiro (12.2%), while most of the patients older than 65 years old were born in the states of Pernambuco (16.8%), Minas Gerais (25.0%) and Bahia (30.0%). The distribution of the ABO blood system types differed between patients with the indeterminate and digestive forms ($p=0.008$). The prevalence of the other blood system types did not differ among the different clinical forms of Chagas disease.

Conclusion: Geoprocessing demonstrated that the epidemiological profile of the cohort followed at our service is changing from a predominance of patients from Bahia and Minas Gerais to a predominance of patients from states of Ceará, Paraíba, and Rio de Janeiro among younger patients. The distribution of the ABO blood system types differed between patients with the indeterminate and digestive forms, while the prevalence of the Rh, Kell, Kidd, Duffy and MNS blood system types did not differ among the different clinical forms of Chagas disease.

Key-words: Chagas disease; Blood group system; Antigens.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.	Representação esquemática dos antígenos de grupos sanguíneos na membrana eritrocitária	18
Figura 2.	Rotas de emigração da América Latina e estimativa do número total de pessoas infectadas em países não endêmicos	25
Figura 3.	Evolução clínica da doença de Chagas	31
Figura 4.	Fluxograma das etapas do diagnóstico laboratorial da infecção por <i>T. cruzi</i> na fase crônica, em casos suspeitos de doença de Chagas	43
Figura 5.	Cartão para fenotipagem ABO/RhD	46
Figura 6.	Padrão de reatividade das aglutinações	47
Figura 7.	Cartões para fenotipagens Rh, Kell e Kidd	48
Figura 8.	Cartões e antissoros para fenotipagens MNS e Duffy	49
Figura 9.	Distribuição espacial do número de casos por município	54
Figura 10.	Distribuição do número de casos por município e faixa etária	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Distribuição das frequências das características sócio-demográficas em relação aos grupos estudados	53
Tabela 2.	Distribuição das frequências das faixas etárias em relação aos estados	55
Tabela 3.	Distribuição das frequências de comorbidades em relação as formas clínicas da doença de Chagas	57
Tabela 4.	Distribuição das frequências dos fenótipos de grupos sanguíneos em relação as formas clínicas da doença de Chagas	59
Tabela 5.	Comparação entre as frequências das formas clínicas indeterminada e cardíaca com o grupo sanguíneo nas diferentes formas clínicas da doença de Chagas	60
Tabela 6.	Comparação entre as frequências das formas clínicas indeterminada e cardíaca com a faixa etária nas diferentes formas clínicas da doença de Chagas	60

LISTA DE ABREVIATURAS

BZN	Benzonidazol
CCC	Cardiopatia Chagásica Crônica
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CGSH	Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados
DARC	<i>Duffy Antigen Receptor for Chemokines</i>
DC	Doença de Chagas
DCV	Doença Cardiovascular
DCT	Doença de Chagas por Transfusão
DHPN	Doença Hemolítica Perinatal
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DP	Desvio Padrão
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ECG	Eletrocardiograma
EIA	Ensaio Imunoenzimático
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
EUA	Estados Unidos da América
FEVE	Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo
FI	Forma Indeterminada
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
GPA	Glicoforina A
GPB	Glicoforina B
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HBV	Vírus da Hepatite B
HCV	Vírus da Hepatite C
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HLA	<i>Human Leukocyte Antigen</i>

HPFS	<i>Health Professionals Follow-up Study</i>
HTLV-1	Vírus Linfotrópicos de Células T Humanas do tipo 1
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IL	Interleucina
IFI	Imunofluorescência Indireta
INI	Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas
LISS	<i>Low Ionic Strength Solution</i>
MGSA	<i>Melanoma Growth Stimulatory Activity</i>
NEP	Endopeptidase neutra
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-americana da Saúde
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
<i>P. vivax</i>	Plasmodium vivax
RANTES	<i>Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed and Secreted</i>
RN	Recém-Nascido
RPM	Rotações por minuto
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<i>T. cruzi</i>	Trypanosoma cruzi
WHO	<i>World Health organization</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	JUSTIFICATIVA	23
3	REVISÃO DA LITERATURA	24
3.1	Epidemiologia da Doença de Chagas	24
3.2	Mecanismos de transmissão da doença de Chagas	27
3.3	Manifestações clínicas da doença de Chagas	31
3.4	Sistemas de grupos sanguíneos e doenças	34
4	OBJETIVOS	40
4.1	Geral	40
4.2	Específicos	40
5	METODOLOGIA	41
5.1	Delineamento do estudo	41
5.2	Localidade	41
5.3	População de estudo	41
5.4	Diagnóstico sorológico da doença de Chagas	42
5.5	Critérios de exclusão	43
5.6	Desfecho	44
5.7	Procedimentos da pesquisa	45
5.8	Coleta das amostras biológicas	45
5.9	Fenotipagens eritrocitárias	45
5.10	Revisão dos prontuários médicos	50
5.11	Geoprocessamento	50

6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	51
7	RESULTADOS	52
7.1	Análises das variáveis sócio-demográficas	53
7.2	Análises dos fenótipos eritrocitários	57
8	DISCUSSÃO	63
8.1	Sistemas de grupos sanguíneos	65
9	CONCLUSÕES	71
10	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
	ANEXOS	100

1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DC) ainda permanece como um grave problema de saúde pública na América Latina. Estimam-se em torno de 8 a 10 milhões de pessoas infectadas em 21 países latino-americanos¹ (PÉREZ-MOLINA et al., 2015; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002), sendo que destas aproximadamente 4,6 milhões vivem no Brasil (MARTINS-MELO et al., 2014), com mortalidade maior que 4.000 indivíduos em 2014 (DATASUS, 2014; MARTINS-MELO et al., 2016).

O custo do tratamento da doença de Chagas é substancial, mesmo que muitas pessoas não recebam os cuidados adequados. Um estudo recente na cidade de São Paulo (ABUHAB et al., 2013), estimou um custo médio diário em internação hospitalar, por paciente com cardiomiopatia devido a doença de Chagas em US\$ 467. Em outro estudo, a partir de um modelo de simulação computacional, foi possível estimar para um indivíduo com doença de Chagas crônico, um custo anual em cuidados de saúde de US\$ 383 na América Latina, US\$ 1.762 na Europa e US\$ 2.162 nos EUA, Canadá e Austrália. A média ponderada global foi de US\$ 474 (LEE et al., 2013).

A emigração de pessoas com doença de Chagas para áreas não endêmicas, decorrentes do processo de globalização., causou a propagação para além dos seus limites geográficos naturais, constituindo um novo desafio no enfrentamento desta doença (GASCON; BERN; PINAZO, 2010; SCHMUNIS; YADON, 2010).

A doença de Chagas é transmitida aos seres humanos através das fezes de triatomíneos infectados e para mais de 150 espécies de mamíferos domésticos e silvestres, principalmente, por grandes insetos hematófagos, do filo *Arthropoda*, subfilo *Hexapoda*, ordem *Hemiptera*, família *Reduviidae* e subfamília *Triatominae*. Apesar de cerca de 140 espécies de triatomíneos terem sido identificadas, apenas algumas se constituem em vetores competentes para *Trypanosoma cruzi*. Os principais vetores são *Triatoma*

¹ Argentina, Belize, Bolívia, Brasil, Chile, Colômbia, Costa Rica, Equador, El Salvador, Guiana Francesa, Guatemala, Guiana, Honduras, México, Nicarágua, Panamá, Paraguai, Peru, Suriname, Uruguai, and Venezuela.

infestans, *Triatoma brasiliensis* e *Panstrongylus megistus* nos países do Cone Sul, *Rhodnius prolixus* e *Triatoma dimidiata* nos países Andinos e partes da América Central, e *Triatoma dimidiata* e *Triatoma barberi* no México (RASSI; RASSI; MARCONDES DE REZENDE, 2012).

Outros mecanismos de transmissão da doença podem ser encontrados: transfusão de sangue, transmissão vertical, acidente laboratorial, transplante de órgão e via oral (DIAS, 2015; DIAS; AMATO NETO; LUNA, 2011). O risco da doença de Chagas, após transfusão de uma unidade de sangue a partir de um doador infectado é elevado, entre 10% a 20%, porém o controle eficaz da qualidade do sangue doado reduziu a transmissão por transfusão de sangue a praticamente zero. A transmissão congênita ocorre em pelo menos 5% das gestações em mulheres cronicamente infectadas em algumas regiões da Bolívia, Chile e Paraguai, e em 1% a 2% ou menos na maioria dos outros países endêmicos (RASSI; MARIN-NETO, 2010). O risco pode ser maior (17%) na Argentina (HOWARD et al., 2014; SOSA-ESTANI et al., 2009a).

A transmissão oral tem sido descrita principalmente, mas não exclusivamente, na Região Amazônica. O risco de transmissão oral por *T. cruzi* através de alimentos contaminados por vetores infectados na região amazônica é alta devido ao ambiente de selva, onde os triatomíneos infectados se reproduzem e sobrevivem ser o local onde os habitantes daquela região prepararam e consomem seus alimentos (SOSA-ESTANI; SEGURA, 2015). A transmissão oral é hoje o principal mecanismo de transmissão dos casos agudos de doença de Chagas.

Em termos imunológicos e parasitológicos, a história natural da doença de Chagas, a partir da infecção primária, se caracteriza por queda progressiva da parasitemia e posterior aparecimento de anticorpos anti-*T. cruzi* da classe IgM no sangue periférico. Os métodos de detecção direta do parasito são indicados na fase aguda, devido à presença de formas tripomastigotas de *T. cruzi*, identificadas por meio do exame direto do sangue periférico com o uso de microscopia (BRASIL, 2014) e as provas sorológicas na fase crônica. Pesquisa em sangue periférico, através de esfregaço sanguíneo, com visualização de *T. cruzi* estabelece o diagnóstico definitivo da doença na fase aguda. Hemocultivo, xenodiagnóstico e mais recentemente a detecção do DNA

do parasita usando a técnica de PCR (*polymerase chain reaction*), quando positivos, também confirmam o diagnóstico, tanto na fase aguda quanto na crônica (CASTRO et al., 1983; PEREIRA et al., 1989; PORTELA-LINDOSO; SHIKANAI-YASUDA, 2003).

O diagnóstico na fase crônica da doença é essencialmente sorológico e deve ser realizado utilizando-se um teste de elevada sensibilidade (ELISA com antígeno total ou imunofluorescência indireta (IFI)) em conjunto com outro de alta especificidade. Os testes de hemaglutinação (HA), IFI e ELISA podem determinar o diagnóstico em virtualmente 100% dos casos. A utilização de reações em eluatos de sangue coletado em papel de filtro (testes rápidos) é desaconselhada para o diagnóstico de infecção (DIAS et al., 2016). Porém, geralmente, os testes sorológicos são preparados a partir de antígenos de formas não-infectantes (epimastigotas), totais ou semipurificados, de *T. cruzi*. Esses antígenos exibem grande variação de especificidade e alta sensibilidade, resultando daí diferentes capacidades dos testes em diferenciar soro de indivíduos infectados dos não-infectados e, dessa forma, podem produzir resultados falso-positivos principalmente quando títulos sorológicos estão perto do ponto de corte (OELEMANN et al., 1998; PÉREZ-MOLINA et al., 2015; RIERA et al., 2012; ZICKER et al., 1990).

A passagem da fase aguda, sintomática ou não, para a crônica é bem elucidada (PINTO DIAS, 1995). Devido a uma progressiva diminuição da parasitemia, a detecção passa a ser de caráter intermitente ou até ausente. Conforme a parasitemia diminui ocorre a soroconversão. A sorologia positiva se mantém ao longo de toda a vida do indivíduo portador da doença de Chagas (DIAS, 1997).

Na fase crônica, a doença de Chagas se caracteriza por um período latente, sem agressão aparente ao organismo pelos métodos disponíveis. Aproximadamente, 60% dos pacientes permanece indefinidamente nesta situação e passam a constituir o grupo com a forma indeterminada. Os demais progridem para a cardiopatia, em suas variadas manifestações, e/ou para o surgimento de megaesôfago ou megacólon (PRATA, 2001).

A forma crônica cardíaca é a mais importante da doença de Chagas pela sua alta morbimortalidade. É a forma que mata, que limita a produção no

trabalho e que diminui a qualidade de vida dos pacientes. Nas formas mais graves e progressivas da cardiopatia crônica chagásica ocorre a morte prematura do paciente (PRATA, 2001). Deste modo, é importante a descrição de fatores capazes de identificar pacientes de maior risco de evoluírem da forma indeterminada para a cardíaca.

Desde a descoberta do grupo sanguíneo ABO, há interesse contínuo no papel potencial dos grupos sanguíneos em doenças infecciosas. Grupos sanguíneos são alvos frequentes em estudos epidemiológicos, uma vez que são características geneticamente determinadas com expressão polimórfica conhecida. Muitos grupos sanguíneos são receptores para toxinas, parasitas e bactérias, onde eles podem facilitar a colonização ou invasão ou contornar mecanismos de depuração e acolhimento. Grupos sanguíneos podem também servir como falsos receptores, evitando a ligação para o tecido alvo (COOLING, 2015).

Os sistemas de grupos sanguíneos são caracterizados pela presença ou ausência de antígenos na membrana eritrocitária (Figura 1). Estes antígenos possuem características polimórficas bem definidas como parte integrante dos componentes da membrana (DANIELS et al., 2007) e são estruturas macromoleculares de natureza carboidrato, proteína ou glicoproteína (HARMENING, 2012).

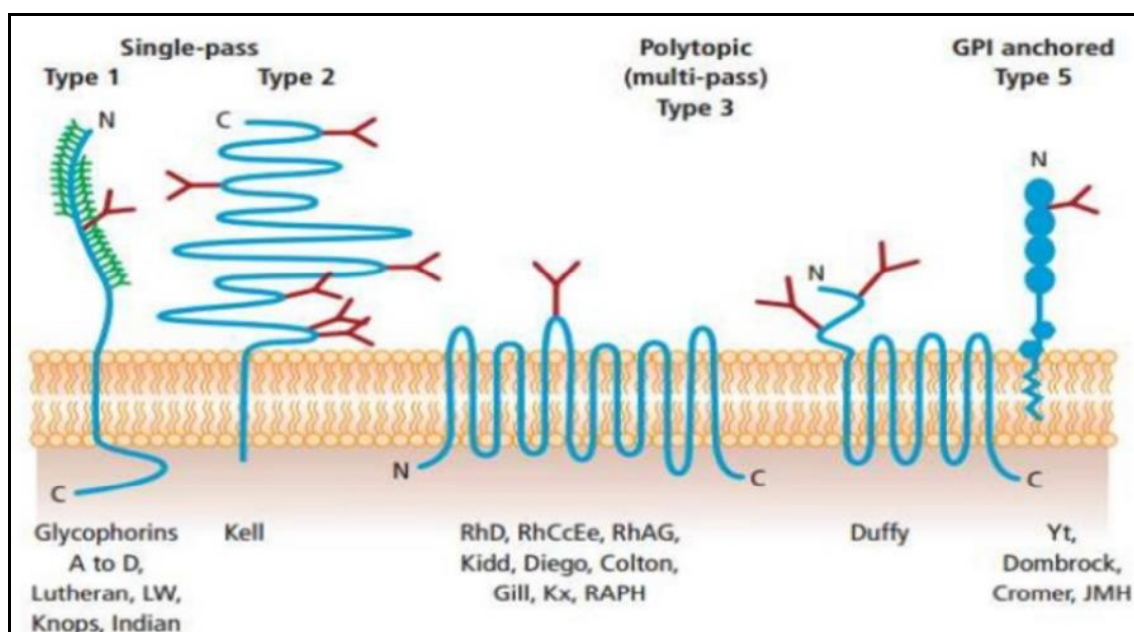


Figura 1: Representação esquemática dos antígenos de grupos sanguíneos na membrana eritrocitária (Adaptado de Harmening 2012).

Nos últimos anos, dos 35 sistemas de grupos sanguíneos reconhecidos pela Sociedade Internacional de Transfusão Sanguínea (STORRY et al., 2014), os genes codificadores de 28 sistemas foram clonados e sequenciados (LÖGDBERG; REID; MILLER, 2002). Até o momento, 989 alelos de 39 genes de grupos sanguíneos foram identificados, o que tem desvendado aspectos sobre a funcionalidade e importância da expressão das proteínas que carregam antígenos na membrana eritrocitária (STORRY et al., 2014).

Os antígenos ABO, embora sejam os mais importantes na prática transfusional não têm a sua fisiologia completamente elucidada. A expressão dos antígenos ABO depende da atividade de glicosiltransferases específicas codificadas pelo gene ABO, localizado no cromossomo 9q34.1-34.2 (YAMAMOTO; MCNEILL; HAKOMORI, 1995). Os antígenos de carboidratos ABO estão presentes em outras superfícies celulares, além dos eritrócitos, e também são encontrados em outros animais, bactérias e em algumas plantas.

Há associações entre expressão de antígenos ABO e doença. Variações nas glicosiltransferases ABO aumentam o risco para infecções por *Plasmodium falciparum*, enquanto o grupo O protege dessa infestação (FRY et al., 2008; ROWE et al., 2007). Em pacientes leucêmicos foi postulado que polimorfismos nos antígenos ABO tenham algum papel potencial no processo de leucemogênese (NOVARETTI et al., 2008).

Os antígenos do sistema Rh estão expressos em duas proteínas, produtos de dois genes altamente homólogos *RHD* e *RHCE*, localizados no cromossomo 1. A expressão dos antígenos Rh na superfície dos eritrócitos depende da presença da glicoproteína Rh-associada (RhAG), produto do gene *RHAG* localizado no cromossomo 6. Os genes *RHD* e *RHCE* possuem aproximadamente 30% de sequências idênticas à *RHAG* (FLEGEL, 2006). Dois outros genes da família de genes *RH*, *RHBG* e *RHCG*, ambos com aproximadamente 50% de sequência idêntica ao gene *RHAG*, produzem duas glicoproteínas não eritróides, RhBG e RhCG, presentes nos rins, fígado, pele e cérebro (WEINER, 2006).

Os antígenos do grupo sanguíneo Kell são localizados no cromossomo 7 e expressos na glicoproteína Kell, produto do gene *KEL*. Essa glicoproteína apresenta sequência homóloga com a família de endopeptidases neutras, uma

enzima conversora de endotelina 3, podendo clivar também os precursores de endotelinas 1 e 2, porém com menos eficiência. Endotelinas são potentes vasoconstritores e é possível que a glicoproteína Kell esteja envolvida com a regulação do tono vascular (REID; MOHANDAS, 2004). A glicoproteína Kell é expressa principalmente na linhagem eritróide e testículos e menor expressão no cérebro, tecidos linfóides e coração (CAMARA-CLAYETTE et al., 2001).

O sistema de grupo sanguíneo Kidd é produto do gene *JK* ou *SLC14A1* (conhecido como HUT11), que está localizado nos lócus 18q12.3, sendo esse gene pertencente à família de transportadores de uréia. A glicoproteína Kidd atravessa a membrana eritrocitária dez vezes, carrega um N-glican na terceira alça extracelular e expressa os antígenos do sistema de grupo sanguíneo Kidd (LOMAS-FRANCIS, 2007; WESTHOFF; REID, 2004). A possibilidade de que a proteína carreadora dos antígenos de grupo sanguíneo Kidd transporte uréia tem base em observações de que eritrócitos Jk(a-b-) são relativamente resistentes à lise por uréia 2M. A glicoproteína Kidd funciona transportando uréia rapidamente, intra e extraeritrocito, quando os eritrócitos atravessam altas concentrações de uréia na medula renal, prevenindo dessa forma a desidratação (LUCIEN et al., 2002).

O gene *FY*, localizado nos lócus 1q22-q23, é responsável pela glicoproteína Duffy, também chamada DARC (*Duffy Antigen Receptor for Chemokines*), expressa em células eritróides e não eritróides. A glicoproteína Duffy possui sete domínios transmembranares, porém não apresenta a função de transporte, pois a região N-terminal está orientada para a superfície exofacial (JENS; PAGLIARINI; NOVARETTI, 2005). Os antígenos Duffy têm função de receptor de merozoítas de *P. knowlesi* em macacos e de *P. vivax* em humanos (SINGH et al., 2006). A glicoproteína Duffy é receptora de citocinas nos eritrócitos, liga várias quimiocinas pró-inflamatórias agudas e crônicas, incluindo interleucina 8, MGSA, MIP-1 e Rantes (ROT, 2005). Os receptores DARC estão potencialmente envolvidos na angiogênese do câncer (LENTSCH, 2002; SHEN et al., 2006; TOURNAMILLE et al., 2003) em pré-eclâmpsia e em hipertensão maligna.

As glicoforinas A (GPA) e glicoforinas B (GPB) são proteínas do tipo I, codificadas por genes homólogos, *GYP A* e *GYP B*, localizados no cromossomo

4. O alto nível de homologia entre *GYPA* e *GYPB* e o envolvimento de um terceiro gene, *GYPE*, aumentam as chances de recombinações gênicas, gerando glicoforinas híbridas. Ambas as proteínas contêm resíduos de carboidratos com elevado conteúdo de ácido siálico, carregando alta carga negativa, prevenindo dessa forma a aglutinação espontânea dos eritrócitos e, portanto, são as que mais contribuem para o glicocálix (DANIELS, 2013; PALACAJORNSUK, 2006). A GPA expressa os antígenos M e N, tem número elevado de cópias (~10⁶ cópias por eritrócito) e é tão abundante quanto a banda 3 na superfície eritrocitária. O alto conteúdo de ácido siálico na GPA serve como ligante para vírus, bactérias e parasitas. Células que não expressam GPA são mais resistentes à invasão pelo *Plasmodium falciparum* do que células normais (POOLE, 2000). GPA interage com a Banda 3 resultando na expressão do antígeno Wr^b (WILLIAMSON; TOYE, 2008). A GPB expressa os antígenos S e s e tem menor densidade antigênica (2-3 x 10⁵ cópias por eritrócito) do que GPA. A GPB está ausente em células MkMk e naquelas com o fenótipo S-s-U-.

Fatores ambientais, fatores genéticos do hospedeiro humano e a variabilidade genética do *T. cruzi* são sugeridos como principais determinantes da prevalência da doença de Chagas e de suas manifestações (CRUZ-ROBLES et al., 2004). Uma vez que apenas uma parcela da população que vive em área endêmica se torna infectada e que dois terços dos infectados não desenvolvem os sintomas, reforça o papel dos fatores genéticos do hospedeiro na susceptibilidade e desenvolvimento da doença devem ser de suma importância (WILLIAMS-BLANGERO et al., 2003).

A identificação de pessoas ou populações mais resistentes ou mais sensíveis à agressão por certos agentes tem importância em medicina preventiva e auxilia no raciocínio clínico para orientar a formulação do diagnóstico e avaliação prognóstica. Os sistemas antigênicos HLA e ABO estão entre os marcadores genéticos que podem fornecer elementos para o raciocínio clínico. A identificação de antígenos dos diversos sistemas eritrocitários, pela sua simplicidade e por ser de baixo custo, vem sendo empregada há algumas décadas na análise da relação dos diferentes grupos sanguíneos com infecções bacterianas (SANTOS et al., 2005; ŞEYDA et al., 2007), infecções por vírus (AYATOLLAHI et al., 2008; BEHAL et al., 2010;

KAIDAROVA et al., 2016; ONSTEN; CALLEGARI-JACQUES; GOLDANI, 2013), níveis dos fatores de coagulação (GASTINEAU; MOORE, 2001), infecções por helmintos (DEGAREGE et al., 2016), doenças cardiovasculares (AMIRZADEGAN et al., 2006; HE et al., 2012a; LEE et al., 2012) e outras doenças não infecciosas (KARAGOZ et al., 2015) e tumores (ALLOUH et al., 2016; WANG et al., 2012). A doença de Chagas foi muito pouco explorada nesse sentido, com um único relato na literatura entre o sistema ABO e formas anatomoclínicas da Doença de Chagas (TEIXEIRA et al., 1987) e mais recentemente, um estudo de associação entre os sistemas ABO, Secretor e Lewis com diferentes formas clínicas da doença de Chagas (BERNARDO et al., 2016) .

2. JUSTIFICATIVA

O Laboratório de Pesquisa Clínica em Doença de Chagas (LapClin-Chagas) do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) iniciou em 1986 o acompanhamento de uma coorte de indivíduos portadores de doença de Chagas que apresenta atualmente cerca de 2067 pacientes cadastrados e 932 em acompanhamento ativo. A maioria desses pacientes reside na área metropolitana do Estado do Rio de Janeiro e estão afastados da área endêmica há muitos anos.

Essa coorte é formada por aproximadamente 52% de indivíduos com forma clínica cardíaca, 39% com forma clínica indeterminada, 3% com forma clínica digestiva com megaesôfago, 1% com forma clínica digestiva com megacólon e 5% com forma clínica mista (cardíaca mais digestiva).

Um dos maiores problemas na prática clínica relacionado à doença de Chagas é a identificação precoce dos indivíduos que podem progredir para as formas mais graves. A identificação de marcadores biológicos que identifiquem pacientes com maior risco para apresentar progressão da doença ou complicações da forma cardíaca possibilitaria um melhor acompanhamento clínico destes indivíduos, assim como o início de medidas terapêuticas adequadas.

A determinação da prevalência dos diferentes fenótipos eritrocitários dos indivíduos com forma indeterminada versus formas cardíaca e digestiva pode gerar subsídio para elaboração de novos métodos de prevenção e conduta terapêutica, conduzindo a possíveis medidas que possam modificar a história natural da doença em benefício dos milhões de pacientes portadores da doença de Chagas.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Epidemiologia da doença de Chagas

Ainda que se tenha completado um centenário de sua descrição e de muitos avanços terem sido realizados no seu combate, principalmente o controle vetorial, a doença de Chagas ainda representa grave problema de saúde pública na América Latina, onde é endêmica. Segundo estimativa de Pérez-Molina et al. (2015), a prevalência da infecção pelo *T. cruzi* é de 8 a 10 milhões de casos e aproximadamente 28 milhões de pessoas estariam sob o risco de contrair a infecção. A América Latina tem feito progressos substanciais em direção ao controle da doença de Chagas (WHO, 2015). A prevalência global estimada de infecção por *T. cruzi* diminuiu de 18 milhões em 1991, quando a primeira iniciativa de controle regional começou, para 5,7 milhões em 2010 (RASSI; MARIN-NETO, 2010; RASSI; RASSI; MARCONDES DE REZENDE, 2012).

A doença de Chagas constituiu por vários anos uma endemia predominantemente rural, de distribuição exclusiva nas Américas, atingindo áreas específicas, intimamente associadas ao subdesenvolvimento social e econômico (SCHMUNIS, 2007). Porém, além da força da transmissão domiciliar por vetores ao longo da vida da população atual na América Latina, nos últimos 60 anos a força da migração rural-urbana em grande escala mudou o perfil epidemiológico da doença (RASSI; MARIN-NETO, 2010; RASSI; RASSI; MARCONDES DE REZENDE, 2012). Assim, a doença também passou a ser uma endemia urbana. Problemas econômicos e políticos nos países endêmicos também estimulam a emigração e favorecem a propagação da doença para os países desenvolvidos (ASSAL; CORBI, 2011; PINTO DIAS, 2013; PIRON et al., 2008).

A dispersão do *T. cruzi* ocorreu com movimentos da população de área endêmica para países não endêmicos (figura 2), como a América do Norte (Estados Unidos e Canadá), a região do Pacífico ocidental (particularmente Japão e Austrália) e, mais recentemente, na Europa (sobretudo a Bélgica, Espanha, França, Itália, Reino Unido e Suíça, e em menor medida na Alemanha, Áustria, Croácia, Dinamarca, Holanda, Luxemburgo, Noruega,

Portugal, Romênia e Suécia). Estima-se que há agora mais de 300.000 indivíduos infectados com *T. cruzi* nos Estados Unidos, 5.500 no Canadá, 80.000 na Europa e na região do Pacífico ocidental, 3.000 no Japão e 1.500 na Austrália (COURA; VIÑAS, 2010; SCHMUNIS, 2007; SCHMUNIS; YADON, 2010).

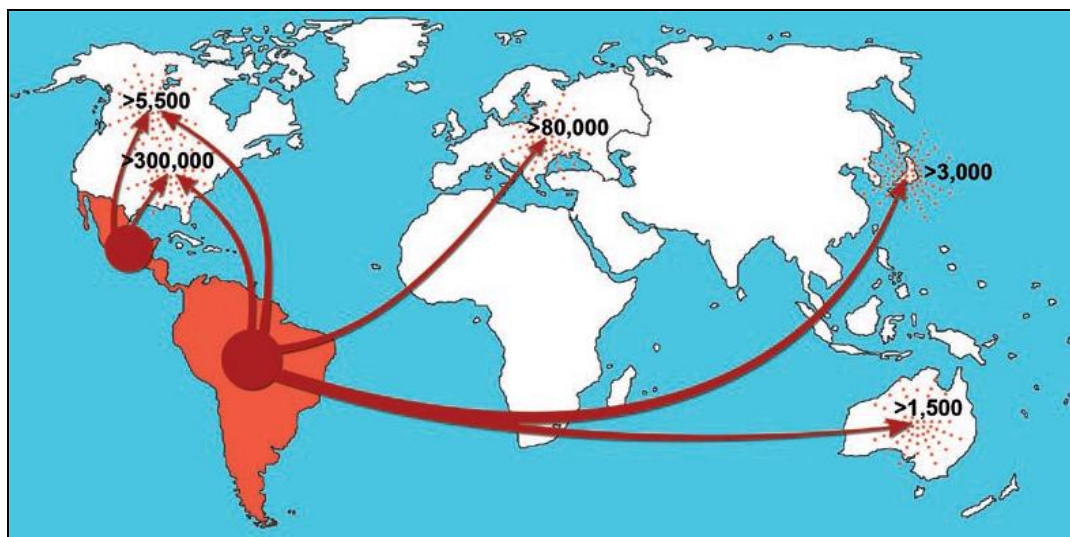


Figura 2: Rotas de emigração da América Latina e estimativa do número total de pessoas infectadas em países não endêmicos (COURA; VIÑAS, 2010).

De acordo com as estimativas com base em dados de 2010, 5.742.167 pessoas estão infectadas com *T. cruzi* em 21 países latino-americanos, dos quais 62,4% (3.581.423 pessoas) em países do Cone Sul. Argentina, Brasil e México são os três países com o maior número estimado de pessoas infectadas (1.505.235, 1.156.821 e 876.458, respectivamente), seguido pela Bolívia (607.186). Na Região Andina, que possui 958.453 pessoas infectadas, 45,7% deles (437.960) são da Colômbia. Em países com 100.000 a 200.000 pessoas infectadas, dois estão incluídos na sub-região do Cone Sul (Chile e Paraguai), três na sub-região andina (Venezuela, Equador e Peru) e um na América Central, sendo a Guatemala (WHO, 2015).

Embora o Brasil tenha iniciado em 1950, o Programa Nacional de Controle da Doença de Chagas, apenas em meados dos anos 80 o impacto foi positivo, com redução dos índices triatomínico-tripanosômicos e do número de jovens infectados. A opção para o controle da transmissão natural da enfermidade de Chagas no ambiente domiciliar é a supressão ou redução das oportunidades de contato do homem com o vetor infectado; e duas são as

alternativas possíveis: impedir seu ingresso ou eliminar as populações ou colônias já instaladas. No primeiro caso, o controle se faz por meios físicos ou mecânicos, pela melhoria das condições estruturais da habitação e/ou pelo manejo ou reordenamento do domicílio e peridomicílio; enquanto na outra situação a intervenção possível é o combate químico aos vetores, pelo uso sistematizado de inseticidas de ação residual em casas infestadas e em seus anexos (SILVEIRA; DIAS, 2011). Entre 1984 e 1986, o controle vetorial se manteve com atividades regulares e cobertura próxima à integral. É também marco importante daquela época o esforço da Divisão de Doença de Chagas do Ministério da Saúde e de pesquisadores brasileiros em buscar e testar inseticidas eficazes como alternativa ao Bendiocarb (BHC), composto então condenado para uso agrícola e com enormes problemas em sua aquisição (SHERLOCK; PIESMAN, 1984; SILVEIRA; DIAS, 2011). É importante destacar que as ações continuadas de controle e as mudanças ambientais, econômicas e sociais, determinaram que o risco de transmissão vetorial da doença de Chagas no Brasil esteja hoje circunscrito, a determinadas áreas, vetores e situações epidemiológicas peculiares (SILVEIRA; DIAS, 2011).

No âmbito transfusional, estabeleceu-se rigoroso controle do sangue através da primeira definição de política nacional na área de sangue e hemoderivados com a criação pelo Ministério da Saúde, da Fundação Pró-Sangue (hoje Coordenação de Sangue e Hemoderivados – COSAH (WANDERLEY et al., 1993), e, conseqüentemente, a prevalência da infecção baixou. Em 2006, o Brasil recebeu uma certificação da Organização Pan-Americana da Saúde relativa à eliminação da transmissão da doença pelas vias vetorial pelo *Triatoma infestans* e transfusional (DIAS, 2006; MONCAYO; SILVEIRA, 2009; OPAS, 2010).

A implantação de estratégias para notificar, quantificar e qualificar as informações, voltadas para o desenvolvimento de ações para os casos crônicos, não são realizadas devido à ausência de políticas públicas. Da mesma forma, a falta de notificação compulsória dos casos crônicos impossibilita estimativa mais acurada de prevalência, desconhecendo-se assim a real dimensão do problema no Brasil (COURA; DIAS, 2009).

3.2 Mecanismos de transmissão da doença de Chagas

A forma clássica de transmissão da doença de Chagas, como descrita por Carlos Chagas, é a vetorial através de insetos hematófagos da família Reduviidae pertencentes aos gêneros *Triatoma*, *Rhodnius* e *Panstrongylus*, que são popularmente conhecidos como barbeiros (COURA; VIÑAS, 2010).

Para que a transmissão vetorial ocorra, é necessário a interação vetor-hospedeiro, sendo o vetor o principal elo na cadeia dessa modalidade de transmissão (SILVEIRA; DIAS, 2011). O *T. cruzi* desenvolve-se com sucesso nos insetos da família Reduviidae e subfamília Triatominae. O triatomíneo possui hábitos noturnos e apresenta em sua saliva propriedade anestésica e anticoagulante, tornando assim indolor sua picada. Durante ou logo após o hematofagismo o vetor defeca e elimina as formas infectantes de tripomastigotas metacíclicos que penetram na circulação do hospedeiro através do orifício da picada ou por solução de continuidade deixada pelo ato de coçar. A importância do momento da evacuação está no fato dos tripanossomos desenvolverem-se no intestino posterior do triatomíneo e serem disseminados nos dejetos do inseto (TARTAROTTI; AZEREDO-OLIVEIRA; CERON, 2004).

Uma vez contaminado com o parasito, o triatomíneo continua infectado por toda sua existência, variando seu potencial de infecção de acordo com a cepa do parasito e peculiarmente com a sua capacidade em aderir-se ao espaço domiciliar (CIMERMAN, 2001; NEVES, 2012).

A transmissão vetorial foi substancialmente reduzida no Brasil frente aos avanços tecnológicos utilizados no controle das atividades de vigilância epidemiológica, juntamente com estratégias para a identificação da presença do vetor, desencadeando assim ações de combate ao mesmo. O controle da transmissão vetorial foi realizado com êxito em diversos países do Cone sul (FERREIRA; SILVA, 2006; SOBREIRA et al., 2001).

A descrição da possibilidade da transmissão da doença de Chagas por transfusão de sangue (DCT) foi aventada pelo argentino Salvador Mazza e colaboradores (MAZZA et al., 1936) e posteriormente por Emmanuel Dias (DIAS, 1945). Os primeiros doadores infectados foram descritos no Brasil por

Pellegrino (PELLEGRINO, 1949) e os primeiros casos de DCT foram descritos em São Paulo, por Freitas e colaboradores (FREITAS et al., 1952).

Com a exceção dos hemoderivados do sangue, todos os hemocomponentes são potenciais infectantes. O *T. cruzi* permanece viável a 4°C durante pelo menos 18 dias (WENDEL; GONZAGA, 1993) ou até 250 dias quando mantida a temperatura ambiente (WENDEL, 2010).

Em diferentes países, a transfusão de sangue é reconhecida como a segunda forma mais importante para a transmissão da doença de Chagas. Por outro lado, pode ser principal via em países industrializados, como os EUA, Canadá, e Espanha (BERN et al., 2011; CIMO; LUPER; SCOUROS, 1993; FLORES-CHAVEZ et al., 2008; PIRON et al., 2008; VILLALBA et al., 1992).

O real número de casos descritos por transfusão é subestimado (DE PAULA et al., 2008; FLORES-CHAVEZ et al., 2008; WENDEL; LEIBY, 2007). Embora os casos relatados em países do hemisfério norte sejam bastante incipientes, há intensa emigração latino-americana a estes países, com estimativas de 12.400.000 imigrantes para os EUA, onde se calcula que 89.000 a 680.000 imigrantes na América do Norte estão infectados por *T. cruzi* (SCHMUNIS, 2007), e quase 75.000 deles podem desenvolver alguma manifestação cardíaca (MILEI et al., 1992).

O *screening* para doença de Chagas nos bancos de sangue ocorre praticamente em todos os países endêmicos da América Latina, embora a cobertura não seja 100% (SCHMUNIS; CRUZ, 2005). Países não endêmicos com grandes populações de imigrantes também começaram recentemente a instituir intervenções para prevenir a transmissão do *T. cruzi* transmitidas pelo sangue (GASCON; BERN; PINAZO, 2010). A atual legislação europeia exige a rejeição de pessoas com histórico de doença de Chagas a praticarem a doação de sangue (UNIÃO EUROPÉIA, 2004). No entanto, a maioria das pessoas infectadas são assintomáticas e o conhecimento do seu estado clínico é incerto. Na Espanha, a prevalência da infecção pelo *T. cruzi* varia de 0,05% a 1,38% em estudos de doadores de sangue publicados (ABALO et al., 2007; CASTRO, 2006; ONTAÑON et al., 2007). Em uma pesquisa realizada em Barcelona, 0,66% dos doadores latino-americanos foram infectados, sendo a maior prevalência (10,2%) entre os doadores bolivianos (PIRON et al., 2008).

Com a implementação da triagem universal nos bancos de sangue, os riscos transfusionais associados a infecção da doença de Chagas na América Latina mudou drasticamente nos últimos anos. Nos países em que esta estratégia foi totalmente implementada, o risco residual de infecção é estimado em cerca de 1: 200.000 unidades (SCHMUNIS; CRUZ, 2005).

No Brasil, o risco da transmissão transfusional se restringe àqueles raros casos de falha de sensibilidade dos testes sorológicos (sensibilidade hoje superior a 99,5%) e a eventuais erros clericais. Resultados de um amplo programa de controle externo de qualidade da sorologia para doença de Chagas realizado no Brasil, no final dos anos 90, em 116 serviços hemoterápicos públicos (hemocentros) e privados (bancos de sangue), demonstrou falha na identificação da infecção chagásica de 1,6% (MORAES-SOUZA; BORDIN, 1996; MORAES-SOUZA; FERREIRA-SILVA, 2011).

Em 2006, a estimativa de doença de Chagas por transfusão de sangue no Brasil era de 0,21%, com uma redução de mais de 95% em relação aos dados prévios (OPAS, 2006). Dados mais recentes da OMS, com base no ano de 2010, estimaram em 0,18% esta prevalência no país (WHO, 2015).

A transmissão vertical do *T. cruzi* é considerada quando: (a) recém-nascido (RN) de mãe com sorologia positiva e presença de formas circulantes de *T. cruzi* no sangue do RN, (b) anticorpos específicos de origem não materna detectados após o nascimento, e quando a transmissão por vetores e transfusão de sangue foi descartada, (c) Identificação de exame sorológico reagente a partir do 9º mês de nascimento (antes disso, os anticorpos maternos ainda podem estar presentes na criança) e sem evidência de infecção por outras formas de exposição a *T. cruzi* (CARLIER; TORRICO, 2003; DIAS et al., 2016). Esse tipo de transmissão ainda apresenta relativa importância no Brasil em decorrência da ausência de ações de prevenção desta modalidade no país.

Para avaliar o controle da transmissão foi conduzido entre 2001 a 2008 novo inquérito sorológico nacional envolvendo 105 mil crianças de 0 a 5 anos. A prevalência estimada foi de 0,03% (32 casos) crianças infectadas por *T. cruzi*. Deste total, 20 (0,02%) apresentavam positividade materna concomitante, sugerindo transmissão congênita (OSTERMAYER et al., 2011).

A prevalência da infecção pelo *T. cruzi* em mulheres grávidas varia entre os diferentes países, áreas geográficas distintas, e localidades rurais e urbanas a partir de <1% a 70,5% (OLIVEIRA et al., 2010). Em estudos recentes, a prevalência é maior em mulheres com idade materna mais elevada refletindo o sucesso de programas de controle de vetores (BERN et al., 2009). No entanto, em algumas áreas rurais da Bolívia a prevalência permanece em 70,5% e, espera-se que o risco de infecção permanecerá elevado nestas áreas (BERN et al., 2009; CUCUNUBÁ et al., 2012). A taxa de transmissão nos países endêmicos mostra diferenças geográficas importantes que variam entre 0% e 18,2% (HOWARD et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2010).

O número de casos por transmissão vertical foi estimado em 14.385 por ano na América Latina, em 66 a 638 por ano nos Estados Unidos, e cerca de 20 a 183 por ano na Europa (BASILE et al., 2011; YADON; SCHMUNIS, 2009).

No Brasil, a doença de Chagas congênita é considerada aguda e, portanto, de notificação compulsória (BRASIL, 2014; DIAS et al., 2016). Entretanto, não se estabeleceu no país a vigilância da doença de Chagas específica em gestantes ou crianças expostas/infectadas.

Por outro lado, o tratamento anti-*T. cruzi* em mulheres infectadas em idade fértil, que não estão grávidas, pode representar uma estratégia efetiva para reduzir a transmissão vertical a futuras gestações (BERN et al., 2009; SOSA-ESTANI et al., 2009b). Ressalta-se que a transmissão vertical pode ser repetida a cada gravidez, durante todo o período fértil da vida de uma mulher (CARLIER et al., 2011; DIAS et al., 2016).

O Brasil tem a maior incidência de transmissão oral no mundo. Entre 2000 e 2011, foram notificados 1.252 casos agudos de doença de Chagas, e destes, 70% foram atribuídos à transmissão oral (DOMINGUES et al., 2015). Vários surtos da doença a partir do consumo de alimentos e bebidas contaminados com *T. cruzi* têm enfatizado a importância desta via de transmissão em humanos (BASTOS et al., 2010; DE GÓES CAVALCANTI et al., 2009; MILES, 1972; NÓBREGA et al., 2009; SHIKANAI-YASUDA et al., 1991). A infecção pelo *T. cruzi* por via oral constitui o modo mais importante de transmissão em algumas regiões geográficas, como ilustrado por relatórios sobre microepidemias e surtos de doença de Chagas aguda adquirida pela

ingestão de alimentos contaminados com parasitas de insetos triatomíneos (YOSHIDA, 2008). A transmissão por via oral é considerada como mecanismo primário, em especial no ciclo silvestre (DIAS; AMATO NETO, 2011), e certamente continuará ocorrendo independentemente das ações de controle empreendidas (BRASIL, 2014; OPAS, 2009).

Há registros de acidentes em diferentes contextos: laboratórios de triatomíneos, trabalhos experimentais com mamíferos infectados e culturas, ações de captura do vetor em áreas endêmicas, aerossóis de materiais infectados, infecção cirúrgica e coleta de sangue a partir de pessoas com infecção aguda (nesses casos, deficiências de segurança no transporte de materiais contaminados), entre outros (DIAS et al., 2016; DIAS; AMATO NETO, 2011). Os fatores de risco passam por desconhecimento, desatenção, falta ou mau uso de equipamentos de proteção individual, instalações e equipamentos inadequados, iluminação deficiente, falta de capacitação, não observância de medidas de precaução padrão e não adoção de protocolos técnicos na rotina (DIAS; AMATO NETO, 2011; HERWALDT, 2001).

3.3 Manifestações clínicas da doença de Chagas

A doença de Chagas é dividida em duas fases, de acordo com suas manifestações clínicas: aguda e crônica (figura 3).

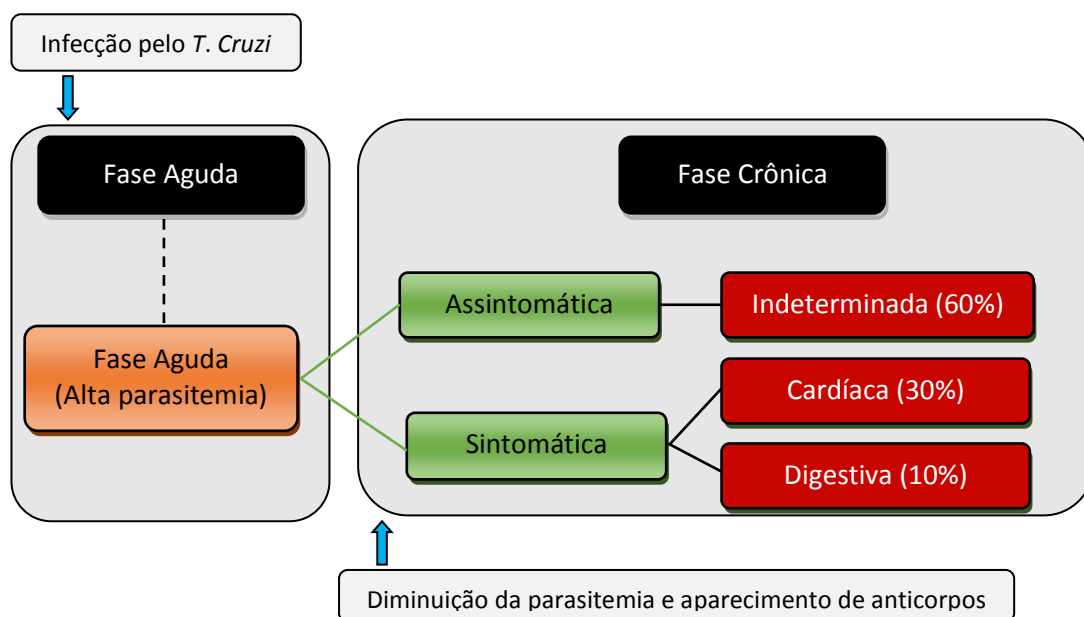


Figura 3: Evolução clínica da doença de Chagas (adaptado de Dutra *et al.*, 2009).

A fase aguda, geralmente assintomática, tem período de incubação de 1 a 2 semanas (DUTRA et al., 2009; LONGO; BERN, 2015; RASSI; RASSI; MARCONDES DE REZENDE, 2012) e é caracterizada laboratorialmente por alta parasitemia. Os sintomas são geralmente inespecíficos e incluem febre, mal-estar, hepatoesplenomegalia, e linfocitose atípica. A infecção tem como porta de entrada, em 50% dos casos, a conjuntiva ocular (sinal de Romana), e em 25%, a pele (chagoma), mas não é reconhecida nos 25% restantes (DIAS et al., 2016). A grande maioria das infecções não são detectadas, entretanto, em menos de 1% das infecções, a fase aguda é grave e apresenta risco de vida por causa de meningoencefalite ou miocardites (BERN; MARTIN; GILMAN, 2011; PÉREZ-MOLINA et al., 2015).

A gravidade da doença de Chagas por via oral depende do número de parasitas ingeridos e resistência destes na mucosa digestiva, a regulação da invasão por fatores locais (sucos gástricos e glicoproteínas), e a resposta imune inata do hospedeiro (SHIKANAI-YASUDA; CARVALHO, 2012). Os dados clínicos do estudo realizado por Souza-Lima e colaboradores (2013) estão de acordo com o que foi relatado previamente na literatura sobre casos associados à transmissão oral. Os sintomas normalmente não associados com casos agudos, relativamente à transmissão do vetor, estão realçados como a ausência de sinais de porta de entrada, dor abdominal, diarreia e edema facial generalizado, ou a presença de rash cutâneo, que, no entanto, não foram observados durante o estudo, em que a síndrome febril com um início súbito foi a apresentação clínica mais frequente, acompanhado por mialgias e astenia, como foi relatado em áreas endêmicas (SOUZA-LIMA et al., 2013).

No estudo de Pinto e colaboradores (2008), que descreveram 233 casos de fase aguda da doença de Chagas, as manifestações clínicas mais frequentes foram febre (100%), cefaléia (92,3%), mialgia (84,1%), palidez (67%), dispnéia (58,4%), edema de membros inferiores (57,9%), edema de face (57,5%) dor abdominal (44,2%), miocardite (39,9%) e exantema (27%). Treze (5,6%) pacientes evoluíram para o óbito, 10 (76,9%) por comprometimento cardiovascular, dois por complicações de origem digestiva e um de causa mal definida (PINTO et al., 2008).

Após o término da fase aguda inicia-se a fase crônica. A passagem da fase aguda para a crônica é bem descrita (PINTO DIAS, 1995). Ocorre diminuição progressiva da parasitemia, cuja detecção passa a ser de caráter intermitente ou até ausente. Conforme a parasitemia diminui, ocorre a soroconversão. A sorologia positiva se mantém ao longo de toda a vida do indivíduo. A fase crônica pode ser subdividida em forma indeterminada (FI) e formas determinadas. A FI caracteriza-se por inexistência de manifestações clínicas (sinais e/ou sintomas da doença), eletrocardiograma (ECG) sem alterações, coração, esôfago e cólon radiologicamente normais (BENZIGER; DO CARMO; RIBEIRO, 2017; DIAS et al., 2016). A FI é a forma clínica de maior prevalência na doença de Chagas, tem caráter benigno com baixo potencial evolutivo em curto e médio prazos (BRASIL, 2014; DIAS, 1989; MACÊDO, 1999; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005; PRATA, 2001).

Com a redução da incidência de doença de Chagas aguda e com a melhora do manejo clínico, os casos de doença de Chagas crônica estão tendo sua sobrevida ampliada, com avanço na idade, refletindo a tendência à redução proporcional da FI em idades mais avançadas (DE ALMEIDA et al., 2007; DIAS, 1989; IANNI et al., 2001; PRATA, 2001).

Porém, estima-se que de 20 a 30% das pessoas com a FI progridam ao longo de alguns anos a décadas para a forma cardíaca da doença de Chagas (RASSI et al., 2009; RASSI; RASSI; MARCONDES DE REZENDE, 2012).

A cardiopatia chagásica crônica (CCC) é a forma clínica sintomática mais prevalente da doença de Chagas, responsável pela elevada carga de morbimortalidade, com grande impacto social e médico-trabalhista (COURA; DIAS, 2009; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005; PRATA, 2001).

Recentemente, tem sido consolidada a noção de que a patogenia da agressão miocárdica na fase crônica da doença de Chagas depende principalmente da persistência parasitária e da resposta imunológica desfavorável a esse estímulo infeccioso permanente (DIAS et al., 2016; HIGUCHI et al., 2003; MARIN-NETO et al., 2007).

A forma digestiva se apresenta com disfunção na peristalse do esôfago e do intestino e cursa com manifestações provenientes de megaesôfago e

megacólon. A forma digestiva pode ocorrer de forma isolada ou concomitante à forma cardíaca (JUNQUEIRA, 2006). Entretanto, como a doença causa lesões do sistema nervoso autônomo ao longo de todo o trato gastrointestinal, podem ocorrer alterações anátomofuncionais das glândulas salivares, do duodeno, intestino delgado, do estômago, das vias biliares extra-hepáticas, intestino grosso e, até mesmo, de órgão não pertencente ao trato gastrointestinal (DIAS et al., 2016).

3.4 Sistemas de grupos sanguíneos e doenças

A distribuição dos grupos sanguíneos revelou estar relacionada com a frequência de certas doenças na população estando ainda, associado a resistência à infecção para certas doenças.

Dois grandes estudos prospectivos de coorte, o Estudo de Saúde das Enfermeiras incluindo 62.073 mulheres e o estudo de acompanhamento dos profissionais de saúde incluindo 27.428 homens foram realizados com mais de 20 anos de acompanhamento (HE et al., 2012). No primeiro estudo, durante o acompanhamento de 1.567.144 pessoas-ano, 2.055 participantes desenvolveram doença coronária, enquanto que no segundo estudo, 2015 participantes desenvolveram doença coronária durante o acompanhamento de 517.312 pessoas-ano. Em comparação com grupos sanguíneos A, B ou AB, indivíduos com sangue tipo O têm risco moderadamente menor de desenvolver doença coronária (He et al., 2012).

Num estudo realizado no nordeste do Irã, foi investigado a associação entre os grupos sanguíneos ABO e Rh entre 984 doadores que tiveram sorologia positiva para o HTLV-1 e 1081 doadores saudáveis. Os resultados sugerem que o grupo sanguíneo A diminui o risco de infecção por HTLV-1 em indivíduos saudáveis, enquanto o grupo sanguíneo AB é mais frequente em portadores de HTLV-1 e aumenta o risco de infecção por HTLV-1 (AYATOLLAHI et al., 2008).

Há outros exemplos de doenças infecciosas, em que a gravidade da infecção pode ser diretamente ligada ao fenótipo ABO. Estudos têm demonstrado que em indivíduos infectados com cólera (*Vibrio cholerae* O1), o

grupo O confere maior probabilidade de infecções graves quando comparado com indivíduos não pertencentes ao grupo sanguíneo O (HARRIS et al., 2005; HARRIS; LAROCQUE, 2016).

Glass e colaboradores sugerem que a baixa prevalência de grupo O e alta prevalência de grupo B no Delta do Ganges, em Bangladesh, está diretamente relacionada com pressão seletiva de cólera (GLASS et al., 1985). Quase todas as pandemias de cólera são desta região do mundo (KAPER; MORRIS; LEVINE, 1995). Indivíduos do grupo O foram mais suscetíveis em um surto de infecções gastrointestinais causada por *Escherichia coli* na Escócia, em 1996. Um total de 87,5% dos pacientes que morreram eram do grupo O (BLACKWELL et al., 2002).

Susceptibilidade à infecção por norovírus está estreitamente ligada à expressão de antígenos Lewis e ABO no trato gastrointestinal. Os norovírus são a causa mais comum de gastroenterite aguda em seres humanos e estima-se que são responsáveis por 60% a 85% de todos os surtos de gastroenterites (LE PENDU et al., 2006). O papel central do estado secretor (capacidade de secretar os antígenos ABO na saliva e em outros fluídos corporais) na determinação da susceptibilidade ao norovírus foi claramente demonstrado por Thorven e colaboradores, que comparou a susceptibilidade à gastroenterite em pacientes e equipe médica envolvidos em surtos hospitalares na Suécia (THORVEN et al., 2005). Indivíduos não-secretadores parecem mais suscetíveis a infecções por *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* (BLACKWELL et al., 1986b), *Streptococcus pneumoniae* (BLACKWELL et al., 1986a) e infecção do trato urinário causada por *E. coli* (SHEINFELD et al., 1989).

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) quando cultivado em linhagens de células de indivíduos com grupo sanguíneo A positivo, foi parcialmente neutralizado pelo soro ABO incompatível (grupos O e B), entretanto, isto não foi observado em soro de humanos de grupo A ou soro inativado pelo calor (NEIL et al., 2005). Estes resultados sugerem que a incompatibilidade ABO no momento da exposição primária ao vírus pode oferecer alguma proteção. Num estudo retrospectivo, que envolveu 271.000 doadores de sangue brasileiros, observou-se uma maior incidência do HIV entre os doadores do grupo B. Entre os 389 doadores HIV+ (0,01%)

encontrados na triagem sorológica, 14% eram indivíduos do grupo B, uma taxa ligeiramente superior comparada a população em geral (9%; OR 1,5; IC 95%: 1,13 - 2) (ONSTEN; CALLEGARI-JACQUES; GOLDANI, 2013).

O sistema Rh é bastante amplo, perdendo em complexidade apenas para o HLA (AVENT et al., 2000), já sendo descrito mais de 50 antígenos ligados ao sistema Rh (AVENT; REID, 2000; ZACARIAS et al., 2016a). Contudo, somente cinco principais antígenos estão envolvidos com formas clinicamente significantes da doença hemolítica perinatal (DHPN), a saber: D, C, E, c, e, sendo o antígeno D notoriamente o mais implicado nos casos de aloimunização e principalmente na DHPN, devido a sua maior antigenicidade (BENNARDELLO et al., 2015; HARTWELL, 1998).

As proteínas Rh apresentam homologia e similaridade com a família de proteínas transportadoras de amônia em bactérias, leveduras e plantas, fazendo com que o mecanismo de transporte de amônia seja extensivamente estudado (WESTHOFF; WYLIE, 2006). As proteínas Rh funcionam também como um complexo integrado de troca O_2/CO_2 devido à associação entre a banda 3 e o complexo Rh na membrana eritrocitária (BRUCE et al., 2003; KUSTU; INWOOD, 2006; VAN KIM; COLIN; CARTRON, 2006).

Devido a interações entre a proteína Rh e a banda 3, indivíduos com o fenótipo Rh nulo (ausência de todos os antígenos do sistema Rh) podem ter uma síndrome caracterizada por anemia hemolítica crônica, de intensidade variável, aumento na fragilidade osmótica e anormalidades na morfologia dos eritrócitos, como a estômatoesferocitose (BRUCE, 2008; CARTRON, 2010; VAN KIM; COLIN; CARTRON, 2006; WESTHOFF, 2007). Ao interagir com as proteínas do esqueleto através de uma ligação física com a Anquirina-R (NICOLAS et al., 2003), o complexo de Rh contribui para regular a forma, deformabilidade e propriedades mecânicas das hemácias e, a perturbação desta ligação pode ocorrer em eritrócitos de pacientes com o síndrome de Rh nulo que é caracterizado pela ausência ou diminuição grave do complexo Rh (CARTRON, 1999).

O maior avanço no conhecimento do sistema de grupo sanguíneo Duffy foi alcançado com a clonagem do gene *FY*, localizado na região 1q22->q23 do cromossoma 1. O produto do gene *FY* é uma glicoproteína (gp-Fy), a qual

atravessa a membrana da hemácia nove vezes, possuindo um domínio extracelular N-terminal e um domínio intracelular C-terminal (MENY, 2010; POGO; CHAUDHURI, 2000). O sistema consiste de quatro alelos, cinco fenótipos e cinco antígenos. Os alelos são: *FYA*, *FYB*, *FY0* e *FYB* fraco; os antígenos: Fy^a , Fy^b , Fy^3 , Fy^5 e Fy^6 que expressam os fenótipos: $Fy(a+b-)$, $Fy(a-b+)$, $Fy(a+b+)$ e $Fy(a-b-)$ (MENY, 2010).

Num estudo sobre receptores de quimiocinas multiespecíficos em eritrócitos humanos, demonstrou-se que a IL-8 (atualmente CXCL-8), ligava-se minimamente a eritrócitos Duffy negativos e, os anticorpos monoclonais para antígenos Duffy bloqueavam a ligação de IL-8 em eritrócitos Duffy positivo, e que também, a IL-8 impedia a ligação e a invasão por *Plasmodium knowlesi* em hemácias, levando a diversas linhas de evidências, indicando que os antígenos de grupo sanguíneo Duffy são receptores de quimiocinas (HORUK, 2015; HORUK et al., 1993).

A diminuição da função renal após transplante está mais associada à pacientes com fenótipo $Fy(a-b-)$, que pode ser devido à ausência de receptores DARC, que faz o papel de atenuar os efeitos inflamatórios, agindo como um escoadouro de quimiocinas (AKALIN; NEYLAN, 2003).

A ausência de antígenos Duffy nas hemácias é encontrada em quase 100% da África Ocidental, e esta ausência era relacionada com proteção para o *P. vivax* (MILLER et al., 1976; ROSENBERG, 2007). Entretanto, novos estudos tem evidenciado que o *P. vivax* é capaz de infectar células $Fy(a-b-)$, sugerindo mecanismos alternativos para invasão dos eritrócitos (HOWES et al., 2015; LO et al., 2015; MERCEREAU-PUIJALON; MÉNARD, 2010).

O sistema de grupo sanguíneo MNSs foi identificado em 1927, sendo considerado o segundo mais antigo sistema de grupo sanguíneo após o ABO (HEATHCOTE; CARROLL; FLOWER, 2011). Os antígenos do sistema MN residem na glicoforina A, uma das mais abundantes proteínas das hemácias e, apresentam 1 milhão de cópias por hemácia. Infecções bacterianas e virais graves que levam à secreção de neuraminidase (por exemplo, a gripe) podem conduzir à modificação das glicoforinas A e B, conduzindo a ativação do linfócito T. Dois estudos sul-americanos descobriram associação entre fenótipo S+ e aumento da susceptibilidade à malária (CAVASINI et al., 2006;

TARAZONA-SANTOS et al., 2011). Porém, diferenças na susceptibilidade à malária, poderia simplesmente refletir diferenças nos níveis de glicoforina B: hemácias S+s- e S+s+ possuem mais glicoforina B quando comparadas com hemácias de fenótipo S-s+ (COOLING et al., 2005).

O sistema de grupo sanguíneo Kell foi identificado em 1946 na Sra. Kelleher que havia gerado criança com anemia hemolítica, embora as incompatibilidades ABO e Rh tivessem sido excluídas (COOMBS; MOURANT; RACE, 1946). É considerado o terceiro sistema sanguíneo mais importante devido a sua potência imunológica. Os antígenos do sistema Kell são numerosos e complexos (LEE, 2007). A glicoproteína Kell é membro da subfamília das endopeptidases do zinco cuja função principal é a ativação de peptídeos bioativos através da clivagem proteolítica específica de polipeptídeos precursores inativos. Preferencialmente é clivada a endotelina 3, um polipeptídeo de 41 aminoácidos, em Trp21-Ile22, criando a endotelina 3 bioativa (potente vasoconstritor). Um modelo da proteína de Kell baseada na estrutura do ectodomínio da endopeptidase neutra (NEP – enzima que apresenta participação na regulação da pressão sanguínea) indica que Kell e a NEP usam os mesmos aminoácidos homólogos na coordenação do zinco e na hidrólise peptídica, mas aminoácidos diferentes na ligação ao substrato (LEE, 2007; SHA; REDMAN; LEE, 2006).

A síndrome de McLeod é caracterizada pela ausência dos antígenos Kx nos eritrócitos humanos, estando associada a fraca expressão dos antígenos Kell (BOTURÃO-NETO et al., 2015; WITTE et al., 1992). Indivíduos portadores do fenótipo McLeod são acometidos por forma progressiva e lenta de distrofia muscular, entre 40-50 anos de idade, associada à ausência de reflexos dos tendões profundos, movimentos coreiformes, cardiomegalia (FREY; GASSNER; JUNG, 2015) e pode estar associada a doença granulomatosa crônica (MARSH, 1978; TASWELL et al., 1977; WATKINS et al., 2011).

Há vários relatos de casos de infecções com bacteremia grave devido a reatividade cruzada com anticorpos anti-Kell. Os organismos associados a esses anticorpos anti-Kell incluem *E. coli* O125 (MARSH et al., 1978; SAVALONIS et al., 1988), *Morganella Morganii* (MCGINNISS; MACLOWRY;

HOLLAND, 1984), *Enterococcus faecalis* (DOELMAN et al., 1992) e *M. tuberculosis* (KANEL; DAVIS; BOWMAN, 1978).

O sistema Kidd é de locus único, apresentando dois antígenos (Jk^a e Jk^b). Existem quatro fenótipos possíveis: Jk(a-b-); Jk(a+b-); Jk(a-b+); Jk(a+b+). Jk (a-b-) é um fenótipo raro. A proteína que carrega os antígenos do grupo sanguíneo Kidd é produto de um único gene, *JK* ou *SLC11A1* (conhecido anteriormente como *HUT11*) da família dos transportadores de uréia. O gene é organizado em 11 éxons distribuídos em 30kb. É uma glicoproteína integral da membrana com 10 domínios. Como um transportador de uréia, ela pode assumir o papel de preservar a estabilidade osmótica e deformabilidade do eritrócito (HAMILTON, 2015; ROURK; SQUIRES, 2012).

Anticorpos anti-Jk^a e anti-Jk^b são bem conhecidos por causar reação transfusional hemolítica e DHPN. No entanto, pequeno número de relatos sugere a importância destes anticorpos no transplante renal. Tal fato é decorrente da proteína que transporta os antígenos Kidd, referida como UT-B, ser expressa tanto na membrana das hemácias quanto nas células endoteliais do vaso reto descendente da medula renal (ROURK; SQUIRES, 2012).

Na evidência da associação entre o sistema ABO e a doença de Chagas, Teixeira e colaboradores (1987), investigaram 148 portadores de doença de Chagas e 222 controles. O estudo demonstrou que a frequência de grupo O foi significativamente menor em portadores de doença cardíaca como um todo e naqueles com megacólon ou megaesôfago. Nos pacientes que apresentaram morte súbita, a frequência de grupo B foi maior que nos controles. A relativa proteção aparentemente conferida aos portadores do grupo O, no que se refere à progressão para formas determinadas da doença, poderia ser explicada por antigenicidade cruzada entre a população de *T. cruzi* e os anticorpos do sistema ABO (TEIXEIRA et al., 1987).

Em recente estudo realizado por Bernardo e colaboradores (2016), os dados entre as frequências dos sistemas ABO, Lewis e Secretor não demonstraram diferenças estatísticas entre controles e pacientes portadores da doença de Chagas que apresentavam as formas cardíacas, digestivas e mista (BERNARDO et al., 2016).

4. OBJETIVOS

4.1 - Geral:

- Estudar a prevalência entre os sistemas sanguíneos ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS e as formas clínicas da doença de Chagas.

4.2 - Específicos:

- Descrever características demográficas, epidemiológicas e clínicas de pacientes infectados com *T. cruzi*;
- Aplicar o geoprocessamento na análise da distribuição da naturalidade dos pacientes que compõem a coorte de Chagas do INI;
- Determinar a prevalência dos fenótipos eritrocitários dos sistemas sanguíneos ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS nos portadores crônicos de doença de Chagas;

5. METODOLOGIA

5.1 – Delineamento do estudo

Trata-se de estudo descritivo, de corte transversal, para caracterizar dados epidemiológicos, clínicos e determinar as frequências dos antígenos eritrocitários para os sistemas ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS em coorte de pacientes portadores da doença de Chagas.

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) em Seres Humanos do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI), tendo sido aprovado sob o número de parecer 229.267/2013 (Anexo A).

5.2 – Localidade

O INI, localizado no *campus* Manguinhos da Fiocruz, no município do Rio de Janeiro, é um Instituto de pesquisa, ensino e assistência em diversas doenças infecciosas incluindo doença de Chagas. O instituto recebe pacientes suspeitos de doença de Chagas, ou já com o diagnóstico de doença de Chagas, por demanda espontânea, referenciado por bancos de sangue ou outras unidades de saúde.

5.3 – População de estudo

Foram incluídos neste estudo indivíduos cronicamente infectados pelo *T. cruzi*, de ambos os sexos e maiores de 18 anos, que foram selecionados sequencialmente a partir do atendimento no Ambulatório do LapClin Chagas no período entre março de 2013 a abril de 2016 e que concordaram com o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Anexo B).

Na rotina do ambulatório, os indivíduos foram submetidos a exames clínico-laboratoriais para o acompanhamento das manifestações clínicas decorrentes da infecção chagásica, que incluem exame físico, ecocardiograma, ECG, raios X de tórax, além de sorologia para *T. cruzi*. A interpretação dos exames de rotina e a consequente classificação nas formas clínicas crônicas da doença de Chagas foram realizadas pela equipe médica do Ambulatório do LapClin Chagas do INI/Fiocruz.

5.4 – Diagnóstico sorológico da Doença de Chagas

Todos os pacientes foram submetidos à pesquisa de anticorpos anti-*T. cruzi* na seção de Imunodiagnóstico do INI, através de duas técnicas sorológicas distintas (CAMARGO, 1966; MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2005; VOLLER et al., 1975):

- Imunofluorescência Indireta (IFI): considerada positiva em caso de títulos > 1/40.

- ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*): considerada positiva quando índice de reatividade > 1,2 (razão entre a densidade óptica e o valor limiar de reatividade).

O diagnóstico sorológico de DC foi confirmado quando as duas técnicas empregadas foram reagentes. Em caso de resultados discordantes ou inconclusivos, novas amostras foram colhidas e testadas. Caso persistissem resultados discordantes, o diagnóstico era confirmado se o teste de Elisa, apesar de fraco reator (<1,2), viesse acompanhado de IFI com diluição >1/80. O diagnóstico não era confirmado em caso de Elisa negativo e IFI positiva, independentemente de sua titulação. Com o objetivo de realizar o diagnóstico laboratorial da infecção por *T. cruzi* na fase crônica, foi recomendado o cumprimento dos procedimentos sequenciados na Figura 4 (DIAS et al., 2016).

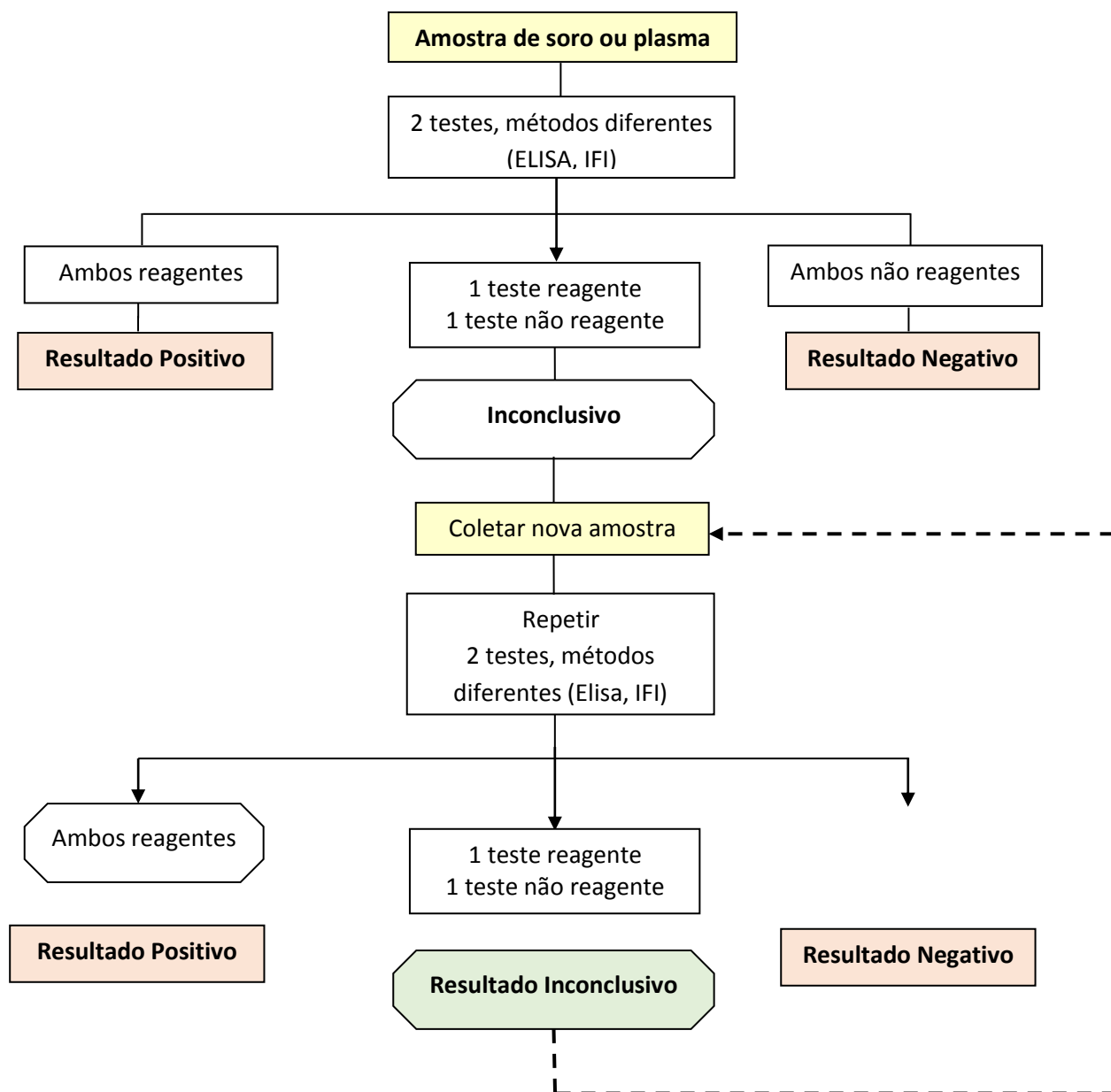


Figura 4 – Fluxograma das etapas do diagnóstico laboratorial da infecção por *T. cruzi* na fase crônica, em casos suspeitos de doença de Chagas.

5.5 – Critérios de exclusão

Foram excluídos os indivíduos que:

- Apresentavam coinfeção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), definida pela sorologia positiva pelo método enzimático (ELISA) e confirmado por reatividade pelo método *Western Blot*;

- Apresentavam coinfeção pelo vírus da hepatite B (HBV), definida por reatividade ao antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) ou presença de anticorpos ao antígeno do core viral (anti-HBc total) por método imunoenzimático;
- Apresentavam coinfeção pelo vírus da hepatite C (HCV), definida por presença de anticorpos ao antígeno viral (anti-HCV) por método imunoenzimático.
- Não compareceram para avaliação clínica e/ou laboratorial;

5.6 – Classificação da Forma Clínica

As formas clínicas da doença de Chagas foram obtidas através de revisão de prontuário dos pacientes e seguiram a classificação do Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Os pacientes assintomáticos que apresentavam ECG de repouso e exames radiológicos de tórax e tubo digestivo sem alterações foram classificados como FI.

Os pacientes que apresentaram dilatação esofágica e/ou colônica em exames complementares foram classificados como forma clínica digestiva.

A forma cardíaca foi caracterizada clinicamente pela presença de alterações típicas de acometimento por doença de Chagas no ECG.

Os pacientes com forma clínica cardíaca foram subdivididos em:

- Estágio A - ECG alterado, ecocardiograma normal e ausência de insuficiência cardíaca;
- Estágio B1 - ECG e ecocardiograma alterados, porém com fração de ejeção do ventrículo esquerdo maior que 45% e ausência de insuficiência cardíaca;
- Estágio B2 - ECG e ecocardiograma alterados, porém com fração de ejeção do ventrículo esquerdo menor que 45% e ausência de insuficiência cardíaca;

- Estágio C - ECG e ecocardiograma alterados, com insuficiência cardíaca compensada;
- Estágio D - ECG e ecocardiograma alterados, com insuficiência cardíaca refratária a tratamento clínico.

5.7 – Procedimentos da pesquisa

Não houve nenhuma modificação nos procedimentos das rotinas clínicas já implementadas pelo INI. Todos os resultados de fenotipagem eritrocitária foram solicitados pelos médicos assistentes dos pacientes e seus resultados foram anexados aos respectivos prontuários.

5.8 – Coleta das amostras biológicas

As coletas das amostras de sangue periférico foram realizadas no setor de gestão de amostras e resultados (SGAR) do INI, seguindo as normas de biossegurança.

De cada indivíduo foram coletados aproximadamente 5 ml de sangue periférico em tubo vacutainer (Beckton & Dickinson, EUA) contendo EDTA (ácido etilenodiaminotetracético). O sangue coletado foi utilizado para a fenotipagem eritrocitária e 300µl de plasma foi armazenado em freezer a -30°C.

5.9 – Fenotipagens eritrocitárias

Os testes de hemoaglutinação foram padronizados com a utilização de amostras controle positiva e negativa, validados na Agência Transfusional do INI-Fiocruz, com o objetivo de garantir que a única variável nestes testes fosse a expressão antigênica dos sistemas sanguíneos.

Os fenótipos ABO/RhD foram determinados pelo método da Hemoaglutinação na técnica em cartões de gel com prova direta e reversa em cartões (Figura 5) contendo anticorpos monoclonais anti-A, anti-B e anti-D, suspensos em gel e conservante a 0,1% NaN₃ (BIORAD, Brasil).

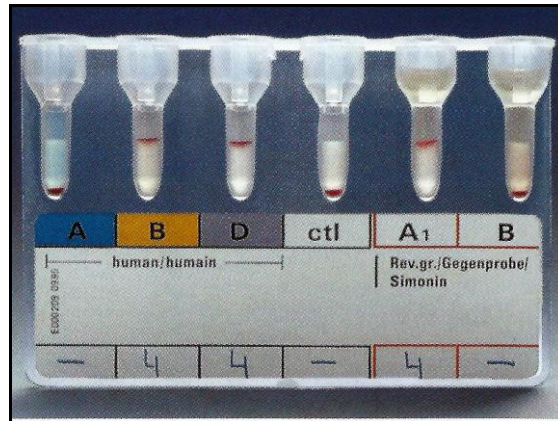


Figura 5: Cartão para fenotipagem ABO/RhD.

Descrição da Prova Direta /Reversa para o antígeno ABO e determinação do antígeno Rh (D):

- Centrifugar a amostra de sangue coletada em EDTA a 3000 rotações por minuto (rpm) durante 5 minutos;
- Identificar o cartão ABD/Reversa com nome e/ou número de prontuário do paciente;
- Preparar suspensão em tubo de hemólise a 5%: (500 µL de diluente 2 [LISS- *Low Ionic Strength Solution*] e 25 µL de concentrado de hemácias);
- Retirar o lacre do cartão cuidadosamente, evitando contaminar os microtubos com reagentes residuais que possam estar aderidos ao lacre.
- Pipetar 10 µL da suspensão de hemácias a 5% nos microtubos dos antissoros referentes a tipagem direta (microtubos A, B, D e Ctl);
- Colocar uma gota equivalente a 50 µL das hemácias comerciais Diacell A₁ e B nos microtubos correspondentes a tipagem reversa;
- Pipetar no microtubo da tipagem reversa, 50 µL de plasma ou soro do paciente;
- Centrifugar por 10 minutos a 1.157 rpm em centrífuga própria para cartelas;
- Realizar uma leitura macroscópica, buscando evidenciar a presença ou não de aglutinação, conforme figura 6.

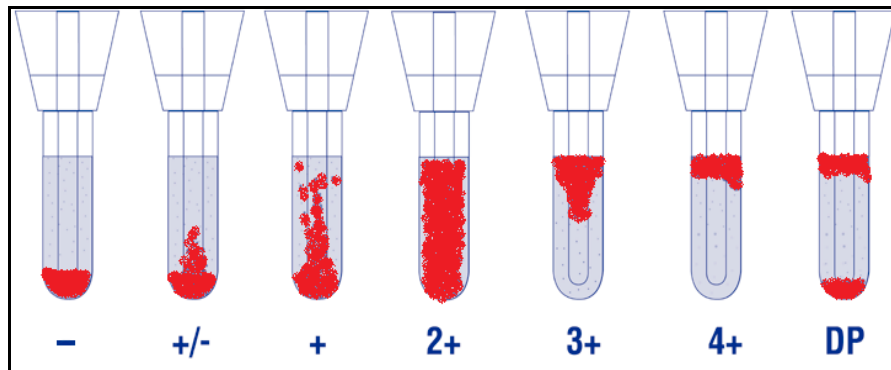


Figura 6: Padrão de reatividade das aglutinações (Elaborado pelo autor).

Interpretação dos resultados:

- Aglutinação na parte superior do microtubo A – Grupo sanguíneo A (presença do antígeno A).
- Aglutinação na parte superior do microtubo B – Grupo sanguíneo B (presença do antígeno B).
- Aglutinação na parte superior do microtubo A e B – Grupo sanguíneo AB (presença dos antígenos A e B).
- Ausência de aglutinação na parte superior dos microtubos A e B – Grupo sanguíneo O (ausência dos antígenos A e B).
- Aglutinação na parte superior do microtubo A₁ – Presença do anticorpo Anti-A (grupo sanguíneo B).
- Aglutinação na parte superior do microtubo B – Presença do anticorpo anti-B (grupo sanguíneo A).
- Ausência de aglutinação na parte superior dos microtubos A₁ e B – Ausência dos anticorpos anti-A e anti-B (grupo sanguíneo AB).
- Aglutinação na parte superior do microtubo A₁ e B – Presença dos Anticorpos anti-A e anti-B (grupo sanguíneo O).
- Aglutinação no microtubo D – Fator RhD Positivo
- Ausência de aglutinação no microtubo D – Fator RhD Negativo

- Ausência de aglutinação no microtubo Ctl – Confirma a especificidade encontrada no microtubo D. Esta reação sempre deverá ser negativa, uma vez que, não há anticorpos no microtubo Ctl.

Os fenótipos do sistema Rh, Kell, e Kidd foram determinados pelo método de hemoaglutinação em cartões de gel Rh + C^w + Kell, cartões Jk^a e Jk^b (BIORAD, Brasil), utilizando-se anticorpos monoclonais (Figura 7).

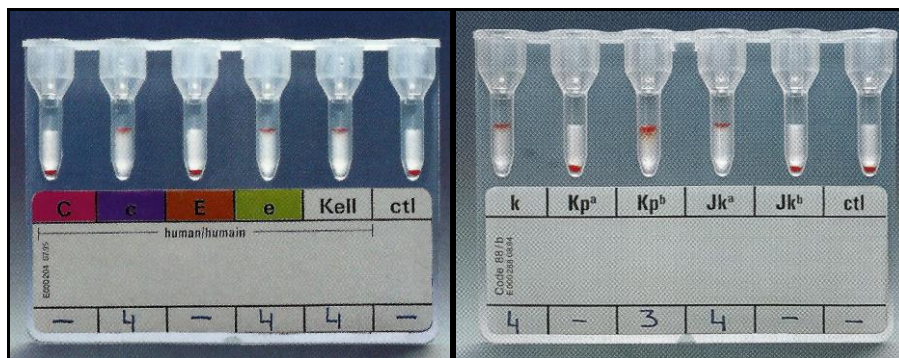


Figura 7: Cartões para fenotipagens Rh, Kell e Kidd.

Descrição da fenotipagem para os antígenos do sistema Rh, Kell e Kidd:

- Centrifugar a amostra de sangue coletada em EDTA a 3000 rotações por minuto (rpm) durante 5 minutos;
- Identificar os cartões com nome e/ou número de prontuário do paciente;
- Preparar suspensão em tubo de hemólise a 5%: (500 µL de diluente 1 [Bromelina] e 25 µL de concentrado de hemácias) e incubar a temperatura ambiente por 10 minutos (18 a 25°C);
- Decorrido o tempo de 10 minutos (utilizar a amostra no máximo 15 minutos após a incubação), retirar o lacre do cartão cuidadosamente, evitando contaminar os microtubos com reagentes residuais que possam estar aderidos ao lacre.
- Pipetar 10 µL da suspensão de hemácias a 5% nos microtubos dos antissoros referentes a fenotipagem (microtubos C, c, E, e, Kell, Ctl, k, Kp^a, Kp^b, Jk^a, Jk^b, Ctl);
- Centrifugar por 10 minutos a 1.157 rpm em centrífuga própria para cartelas;

- Realizar uma leitura macroscópica, buscando evidenciar a presença ou não de aglutinação, conforme figura 5.

Os fenótipos dos sistemas MNS e Duffy foram determinados pelo mesmo método, entretanto, as suspensões de hemácias foram realizadas através do diluente 2 (LISS) uma vez que os antígenos desse sistema são destruídos por enzimas proteolíticas. Foram usados cartões de gel (BIORAD, Brasil) com anticorpos monoclonais específicos para os antígenos M, N e anticorpos policlonais humanos para os antígenos S, s, Fy^a e Fy^b (Figura 8).

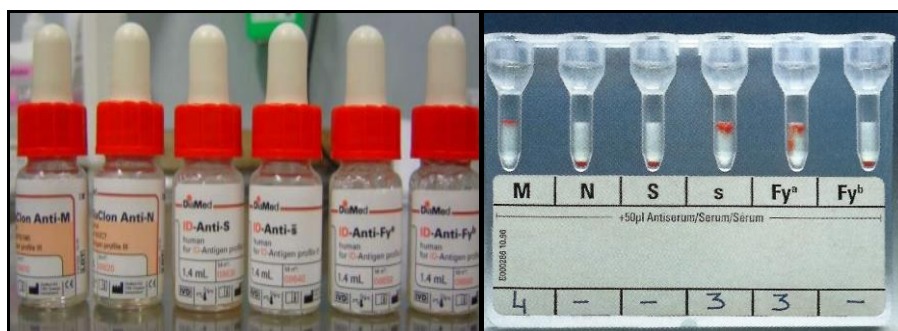


Figura 8: Cartões e antissoros para fenótipagens MNS e Duffy.

Descrição da fenotipagem para os antígenos MNSs, Fy^a e Fy^b:

- Centrifugar a amostra de sangue coletada em EDTA a 3000 rotações por minuto (rpm) durante 5 minutos;
- Identificar o cartão com nome e/ou número de prontuário do paciente;
- Preparar suspensão em tubo de hemólise a 0,8%: (1000 µL de diluente 2 [LISS- *Low Ionic Strength Solution*] e 10 – 12,5 µL de concentrado de hemácias);
- Retirar o lacre do cartão cuidadosamente, evitando contaminar os microtubos com reagentes residuais que possam estar aderidos ao lacre.
- Pipetar 50 µL da suspensão de hemácias a 0,8% nos microtubos identificados como M, N, S, s, Fy^a e Fy^b;
- Adicionar 50 µL do antissoros correspondente a cada microtubo;

- Incubar o cartão por 10 minutos em temperatura ambiente (18 a 25°C);
- Centrifugar o cartão por 10 minutos a 1.157 rpm em centrífuga própria para cartelas;
- Realizar leitura macroscópica, buscando evidenciar a presença ou não de aglutinação, conforme figura 3.

5.10 - Revisão dos prontuários médicos

Para coleta de dados dos pacientes foram analisados os prontuários médicos eletrônicos, digitalizados pelo Serviço de Estatística e Documentação (SED) do INI. As seguintes informações, quando disponíveis, foram obtidas:

- Dados demográficos: raça, sexo, idade, naturalidade.
- Dados clínicos/laboratoriais: Presença de dislipidemia, diabetes, hipertensão arterial, forma clínica e estágio da doença de Chagas, fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE).

5.11 - Geoprocessamento

A análise espacial dos dados de saúde desta pesquisa foi feita no software QGIS versão 2.12.2, utilizando os mapas do Brasil da malha municipal de 2013. Os mapas estão disponíveis no site do Datasus (<http://www2.datasus.gov.br>). O Datasus distribui mapas elaborados a partir de malhas municipais disponibilizadas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (www.ibge.gov.br), bem como codifica os municípios através dos 6 primeiros dígitos do código numérico padronizado pelo IBGE para classificar os 5.570 municípios do Brasil. Sendo assim, identificada a naturalidade de cada paciente do banco de dados do presente estudo, codificamos essa informação segundo a tabela de Códigos de Municípios do IBGE e, partir daí, associamos o código de município do Datasus, que permite o georreferenciamento nos mapas utilizados. Agregamos o número de casos por município e geramos os mapas do banco por completo, e por faixa etária.

6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi criado banco de dados no programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versão 21, para as análises estatísticas.

Foram descritas as frequências simples das variáveis categóricas sócio-demográficas (sexo, naturalidade, idade) e clínico-laboratoriais (dislipidemia, hipertensão arterial e diabetes). O teste não-paramétrico de Kolmogorov-Smirnov foi empregado na verificação da normalidade das variáveis contínuas, com p-valor $<0,05$ indicando rejeição da hipótese de normalidade dos dados. As variáveis contínuas foram descritas através das medidas-resumo de acordo com o tipo de distribuição de cada variável como: média, mediana, desvio-padrão e intervalo-interquartil (IQR).

A comparação das variáveis categóricas segundo os diferentes grupos foi feita por teste qui-quadrado de Pearson com correção de Yates e qui-quadrado para tendência, no caso de tabelas com baixas contagens (menores que 5) ou tabelas formadas por duas linhas e duas colunas (2x2).

A comparação da distribuição das variáveis contínuas segundo diversas formas clínicas (indeterminada, cardíaca, digestiva e mista) foi realizada por testes paramétricos (One-Way ANOVA sem replicação) e, no caso de distribuição não-normal, foram empregados testes não paramétricos (Kruskal Wallis).

7. RESULTADOS

De um total de 2067 pacientes da coorte com doença de Chagas, 932 se encontravam em acompanhamento ambulatorial no INI, sendo possível selecionar 670 para participarem do estudo dos quais 627 foram incluídos após obtenção da assinatura do TCLE. Destes, 8 foram excluídos por não realizar o exame de fenotipagem eritrocitária. No total, dados de 619 pacientes foram analisados.

7.1 Análises das variáveis sócio demográficas

Em seu conjunto, o estudo envolveu 267 pacientes do sexo masculino (forma indeterminada, $n=76$; cardíaca, $n=156$; digestiva, $n=9$ e mista, $n=26$), e 352 do sexo feminino (forma indeterminada, $n=104$; cardíaca, $n=187$; digestiva, $n=25$ e mista, $n=36$), com idades compreendidas entre 21 e 96 anos com média de idade de 60,1 anos \pm 12,1 anos.

Em relação à idade, os pacientes com formas determinadas tinham maior prevalência de pacientes nas faixas etárias mais elevadas que pacientes com forma indeterminada. A raça parda tem maior prevalência em pacientes com forma indeterminada, cardíaca e mista, enquanto a raça branca esteve em maior percentual na forma digestiva. Não houve diferença significativa em relação a sexo, etnia, ou naturalidade ao se comparar pacientes com forma indeterminada e determinadas (Tabela 1).

Quanto à naturalidade dos pacientes, Bahia ($n=150$) e Minas Gerais ($n=130$) tiveram a maior prevalência, seguido da Paraíba, Ceará e Pernambuco, respectivamente. Os restantes dos pacientes eram naturais de 13 estados, sendo da região Nordeste, Sudeste, Sul, Centro Oeste e Norte (Tabela 1).

Tabela 1 – Distribuição das frequências das características sócio-demográficas em relação aos grupos estudados

Variável	Forma clínica (n=619)										p-valor
	Indeterminada		Cardíaca		Digestiva		Mista		Total		
	n	(%)	N	(%)	n	(%)	n	(%)	Total	(%)	
Gênero											0,194
Masculino	76	(42,2)	156	(45,5)	9	(26,5)	26	(41,9)	267	(43,1)	
Feminino	104	(57,8)	187	(54,5)	25	(73,5)	36	(58,1)	352	(56,9)	
Faixa etária											<0,001
18 a 44	39	(21,7)	30	(8,8)	4	(11,8)	1	(1,6)	74	(12,0)	
45 a 64	97	(53,9)	173	(50,4)	14	(41,1)	25	(40,3)	309	(49,9)	
≥ 65	44	(24,4)	140	(40,8)	16	(47,1)	36	(58,1)	236	(38,1)	
Raça											0,926
Branca	73	(40,5)	142	(41,4)	16	(47,1)	23	(36,5)	254	(41,0)	
Negra	25	(13,9)	46	(13,4)	6	(17,6)	10	(15,9)	87	(14,1)	
Pardo	82	(45,6)	155	(45,2)	12	(35,3)	29	(46,8)	278	(44,9)	
Naturalidade											0,192
Norte	0	(0)	1	(0,3)	0	(0)	0	(0)	1	(0,2)	
Nordeste	118	(65,6)	243	(70,8)	24	(70,6)	40	(64,6)	425	(68,6)	
Sul	8	(4,4)	1	(0,3)	0	(0)	2	(3,2)	11	(1,8)	
Sudeste	52	(28,9)	91	(26,6)	10	(29,4)	19	(30,6)	172	(27,8)	
Centro-Oeste	2	(1,1)	7	(2,0)	0	(0)	1	(1,6)	10	(1,6)	

A avaliação do geoprocessamento do número de casos de doença de Chagas por unidade federativa (figura 9), permite visualizar a distribuição nos diversos municípios do país e corrobora os dados de que, Bahia e Minas Gerais, apresentam a maior prevalência de pacientes que compõem a coorte do INI.

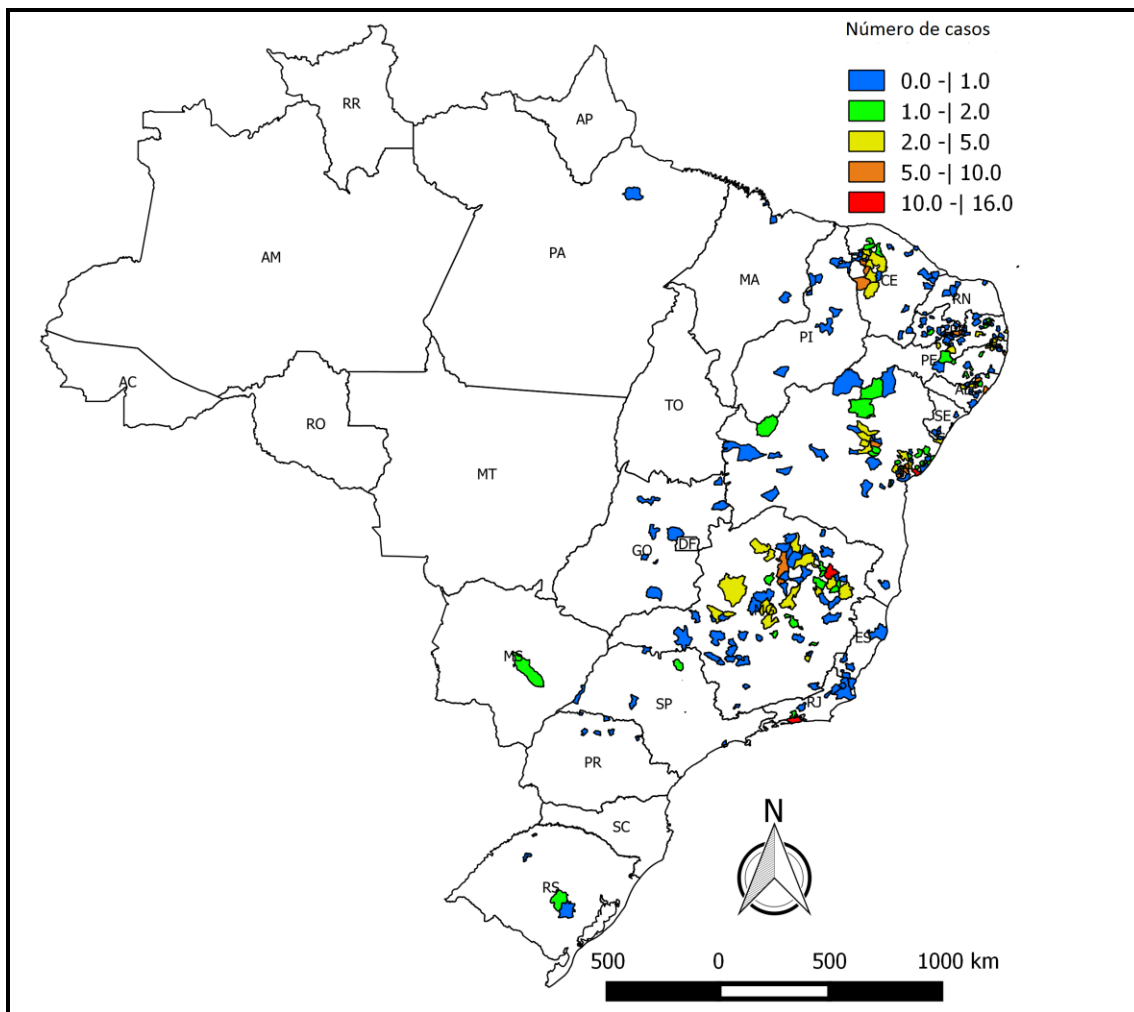


Figura 9: Distribuição espacial do número de casos por município

A distribuição dos pacientes por faixa etária nas diferentes regiões do país (tabela 2) revela que a coorte do INI está mudando seu perfil, com prevalência de indivíduos mais jovens ente 18 a 44 anos ($p < 0,001$) oriundos dos estados do Ceará, Paraíba e Rio de Janeiro.

Tabela 2 – Distribuição das frequências das faixas etárias em relação aos estados

	Faixa etária (anos)							
	18 a 44		45 a 64		≥65		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Estados								
Alagoas	5	(6,7)	28	(9,1)	15	(6,3)	48	(7,7)
Bahia	7	(9,4)	72	(23,3)	71	(30,0)	150	(24,2)
Ceará	27	(36,5)	31	(10,1)	8	(3,4)	66	(10,7)
Minas Gerais	6	(8,1)	65	(21,0)	59	(25,0)	130	(21,0)
Paraíba	14	(18,9)	40	(12,9)	24	(10,1)	78	(12,6)
Pernambuco	3	(4,1)	21	(6,8)	37	(16,8)	61	(9,9)
Rio de Janeiro	9	(12,2)	13	(4,2)	6	(2,5)	28	(4,5)
Outros	3	(4,1)	39	(12,6)	16	(6,8)	58	(9,4)
Total	74	(100)	309	(100)	236	(100)	619	(100)

Indivíduos naturais dos municípios de Nova Russas-CE (n=8) e Rio de Janeiro-RJ (n=6), representam maior o número de casos de Doença de Chagas nesta faixa etária com 10,8% e 8,1%, respectivamente (figura 10). Por outro lado, na faixa etária mais elevada, predominam os pacientes vindos da Bahia, Minas Gerais, Pernambuco e Paraíba, com pouca participação de Ceará e Rio de Janeiro.

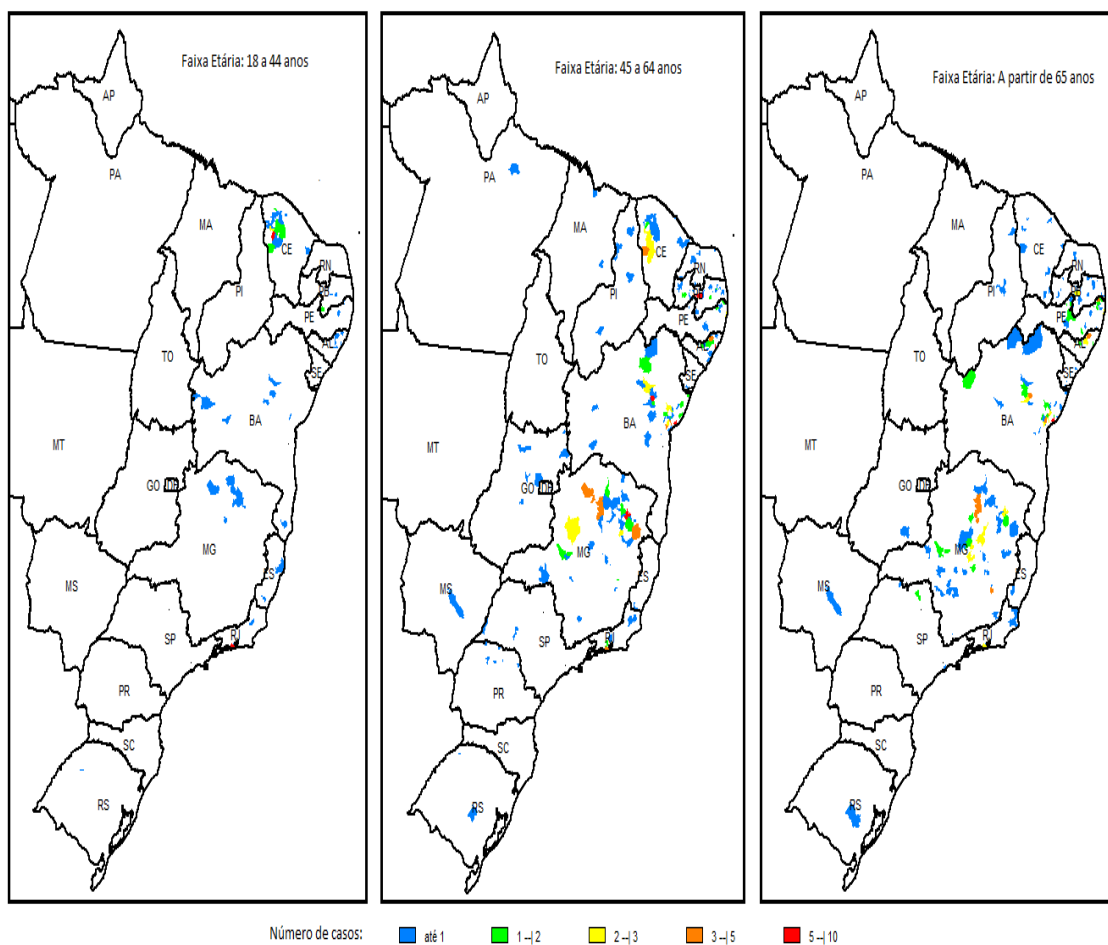


Figura 10: Distribuição do número de casos por município e faixa etária

Ao se avaliar variáveis de comorbidades dos grupos estudados (tabela 3), não observamos diferença estatisticamente significativa na proporção de pacientes que foram identificados com dislipidemia, diabetes ou hipertensão.

Tabela 3 – Distribuição das frequências de comorbidades em relação as formas clínicas da doença de Chagas

Variável	Forma clínica (n=619)								p-valor	
	Indeterminada		Cardíaca		Digestiva		Mista			
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)		Total
Dislipidemia										0,380
Presente	84	(46,7)	137	(39,9)	12	(35,3)	28	(45,2)	261	(42,2)
Ausente	96	(53,3)	206	(60,1)	22	(64,7)	34	(54,8)	358	(57,8)
Diabetes										0,113
Presente	53	(29,4)	112	(32,7)	5	(14,7)	15	(24,2)	185	(29,9)
Ausente	127	(70,6)	231	(67,3)	29	(85,3)	47	(75,8)	434	(70,1)
Hipertensão										0,967
Presente	100	(55,6)	193	(56,3)	18	(52,9)	36	(58,1)	347	(56,1)
Ausente	80	(44,4)	150	(43,7)	16	(47,1)	26	(41,9)	272	(43,9)

7.2 Análises dos fenótipos eritrocitários

A distribuição das frequências dos fenótipos de grupos sanguíneos em relação as formas clínicas da doença de Chagas está expressa na tabela 4.

Em relação à presença de fenótipos do sistema ABO ($p=0,008$), observamos que grupo sanguíneo “O” era mais prevalente nas formas indeterminada, cardíaca e digestiva, entretanto, prevalece o grupo sanguíneo “A” nos indivíduos que possuem a forma mista.

A presença do fenótipo Rh positivo é observada em maior frequência nas diferentes formas clínicas, não demonstrando valor estatisticamente significativo. Do mesmo modo, o fenótipo K-k+ apresenta maior prevalência nas formas clínicas da doença de Chagas quando comparado com o fenótipo K+k+.

A diferença de prevalência do fenótipo Jk(a+b-) entre os grupos de indivíduos não foi significativa.

A prevalência dos fenótipos M+N+ e Fy(a-b+) foram maiores nas quatro formas clínicas da doença de Chagas, embora não se observou diferenças estatísticas entre os grupos de indivíduos.

Apesar do raro fenótipo Fy(a-b-) parecer ser mais frequente em portadores da forma digestiva quando comparado as demais formas clínicas, a diferença não atingiu valor significativo.

Pacientes com forma clínica cardíaca apresentam maior prevalência do fenótipo S-s+ quando comparado a forma indeterminada, entretanto sem diferença estatística significativa entre os grupos estudados.

Tabela 4 – Distribuição das frequências dos fenótipos de grupos sanguíneos em relação as formas clínicas da doença de Chagas

Variável	Forma clínica (n=619)								Total (%)	<i>p</i> -valor
	Indeterminada		Cardíaca		Digestiva		Mista			
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)		
Fenótipo ABO										0,008*
A	65	(36,1)	120	(35,0)	7	(20,6)	26	(41,9)	218	(35,2)
B	26	(14,5)	44	(12,8)	9	(26,5)	14	(22,6)	93	(15,0)
AB	4	(2,2)	9	(2,6)	4	(11,7)	1	(1,6)	18	(2,9)
O	85	(47,2)	170	(49,6)	14	(41,2)	21	(33,9)	290	(46,9)
Fenótipo Rh										0,662
Positivo	156	(86,7)	309	(90,1)	31	(91,2)	55	(88,7)	551	(89,0)
Negativo	24	(13,3)	34	(9,9)	3	(8,8)	7	(11,3)	68	(11,0)
Fenótipo Kell										0,122
K- k+	177	(98,3)	325	(94,8)	31	(91,2)	57	(91,9)	590	(95,3)
K+ k+	3	(1,7)	18	(5,2)	3	(8,8)	5	(8,1)	29	(4,7)
Fenótipo Kidd										0,346
Jk(a+b-)	66	(36,6)	113	(32,9)	16	(47,0)	23	(37,1)	218	(35,2)
Jk(a+b+)	73	(40,6)	165	(48,1)	11	(32,4)	30	(48,4)	279	(45,1)
Jk(a-b+)	41	(22,8)	65	(19,0)	7	(20,6)	9	(14,5)	122	(19,7)
Fenótipo MN										0,620
M+N-	38	(21,1)	87	(25,4)	9	(26,5)	11	(17,7)	145	(23,4)
M+N+	113	(62,8)	195	(56,8)	17	(50,0)	38	(61,3)	363	(58,6)
M-N+	29	(16,1)	61	(17,8)	8	(23,5)	13	(21,0)	111	(18,0)
Fenótipo Ss										0,274
S+s-	23	(12,8)	30	(8,7)	5	(14,7)	4	(6,5)	62	(10,0)
S+s+	85	(47,2)	144	(42,0)	15	(44,1)	32	(51,6)	276	(44,6)
S-s+	72	(40,0)	169	(49,3)	14	(41,2)	26	(41,9)	281	(45,4)
Fenótipo Duffy										0,921
Fy(a+b-)	47	(26,1)	85	(24,8)	11	(32,4)	18	(29,0)	161	(26,0)
Fy(a+b+)	54	(30,0)	110	(32,0)	7	(20,6)	16	(25,8)	187	(30,2)
Fy(a-b+)	70	(38,9)	131	(38,2)	13	(38,2)	24	(38,7)	238	(38,4)
Fy(a-b-)	9	(5,0)	17	(5,0)	3	(8,8)	4	(6,5)	33	(5,4)

* Indeterminada/Cardíaca, $p=0,923$; indeterminada/Digestiva, $p=0,008$; Indeterminada/Mista, $p=0,238$

A tabela 5 apresenta os valores da FEVE, onde observamos valores médios significativamente menores na forma clínica cardíaca e mista.

Tabela 5 – Distribuição das frequências da fração de ejeção nas diferentes formas clínicas da doença de Chagas

Variável	Forma Clínica	Média	DP	p-valor *
FEVE (%)	Indeterminada	70,5	6,7	<0,001
	Cardíaca	53,8	16,3	
	Digestiva	68,1	8,0	
	Mista	57,6	15,5	

Indeterminada vs cardíaca, $p < 0,001$; Indeterminada vs digestiva, $p = 0,107$; Indeterminada vs mista, $p < 0,001$.

A fração de ejeção varia conforme o estágio da forma cardíaca. A tabela 6 descreve as frequências encontradas nos diferentes estágios da forma cardíaca.

Tabela 6 – Distribuição das frequências da fração de ejeção nos estágios da forma clínica cardíaca da doença de Chagas

Variável	Estágio	n	Média	DP	Mínimo	Máximo	p-valor *
FEVE (%)	A	112	69,2**	7,5	47	93	<0,001
	B1	107	56,4†	9,6	33	82	
	B2	18	39,6‡	5,4	27	44	
	C	78	31,2#	9,9	18	55	
	D	18	29,9	10,6	15	48	

* One-Way ANOVA

Bonferroni Pos-Hoc: ** $p < 0.05$ vs indeterminado; † $p < 0.05$ vs estagio A; ‡ $p < 0.05$ vs estagio B1; # $p < 0.05$ vs estagio B2; || $p < 0.05$ vs estagio C

8. DISCUSSÃO

Considerado o principal centro de referência de diagnóstico e tratamento da doença de Chagas no Rio de Janeiro, o INI recebe um grande número de indivíduos com suspeita da doença. A coorte apresenta 2067 pacientes cadastrados e 932 em acompanhamento ativo.

A média de idade dos pacientes da coorte estudada foi de 60,1 anos. Médias diferentes foram encontradas por Coura et al. Em 1985, (45 anos), e Castro et al. em 2001, (44,5 anos) em trabalhos de campo, e por Viotti et al. em 1994 (46 anos). Os estudos a partir da década de 1990, por sua vez, tendem a incluir adultos ≥ 40 anos e idosos, como ocorreu no estudo de Silva et al. em 2009 (55,6 anos), que de acordo com o conhecimento da história natural da DC, teriam menor probabilidade de progressão para cardiopatia.

Progressos nos programas de controle, tanto da transmissão vetorial como da transfusional, tornaram raros os casos de formas agudas da DC, determinando assim uma elevação na média de idade dos pacientes. Alguns trabalhos realizados têm demonstrado uma progressiva redução da soropositividade para a DC em faixas etárias mais jovens. Num estudo que comparou um grupo de pacientes idosos (≥ 60 anos) com um grupo de não-idosos (< 60 anos) com relação a apresentação clínica da DC, se observou que nenhum dos pacientes não-idosos incluídos no estudo, apresentava idade menor do que 22 anos (DE ALMEIDA et al., 2007).

A prevalência da infecção por *T. cruzi* em Bambuí 50 anos após o início do programa de controle (COSTA et al.,2000), demonstra que nenhum caso de soropositividade para a DC foi encontrado em indivíduos com idade inferior a 20 anos (nascidos após 1977), identificando uma alta prevalência (37,7%) da infecção em indivíduos com idade ≥ 60 anos. O aumento da proporção de pacientes de indivíduos mais velhos entre os casos de DC e a consequente redução entre grupos com faixa etária mais jovem é conhecido como efeito coorte (COSTA et al., 2000).

Destaca-se que a população brasileira, de uma forma geral, encontra-se em processo de transição demográfica, no qual o aumento de pessoas com mais de 60 anos vem ganhando destaque. Este fenômeno é comum à maioria

dos países em desenvolvimento, onde a queda da mortalidade, associada ao declínio rápido e acentuado da fecundidade, tem acarretado um envelhecimento populacional (ALVES; RODRIGUES, 2005).

A média de idade dos indivíduos com a DC tem aumentado com o sucesso das medidas de controle. As inovações nas técnicas cirúrgicas (implantes de marcapasso e cardiodesfibrilador), o maior acesso ao tratamento e às informações na área de saúde, contribuem para o aumento da sobrevivência, levando conseqüentemente ao surgimento de uma população idosa portadora da infecção chagásica crônica (DIAS; SILVEIRA; SCHOFIELD, 2002)

De uma forma geral, o perfil epidemiológico do paciente com DC é o de um indivíduo adulto, de origem rural e vivendo em centros urbanos, demonstrando a íntima relação da doença com o subdesenvolvimento e a pobreza (DIAS, 2007).

Na literatura, diversos estudos avaliaram clinicamente e prospectivamente a forma indeterminada, cujo principal desfecho era a progressão da doença para a cardiopatia. No primeiro grande estudo sobre cardiopatia chagásica, publicado no *Circulation*, todos os elementos de caracterização e reconhecimento da cardiopatia chagásica crônica foram definidos. Porém, este trabalho do ponto de vista epidemiológico identifica a forma indeterminada como a mais frequente apresentação clínica da doença de Chagas. Neste estudo, foram acompanhados 40 pacientes na forma indeterminada, com história recente de fase aguda, e observou-se progressão para cardiopatia de 42,5%, em 10 anos (LARANJA et al., 1956).

Manzullo (1982), acompanhando a mesma coorte por 3, 5 e 9 anos, encontrou progressão de 27%, 33%, 53,5%, respectivamente. Maguire e colaboradores (1982), acompanharam 32 pacientes em 3 anos, observando 21,8% de progressão. Espinosa e colaboradores (1985), em seguimento de 31 pacientes por 7 anos, sinalizaram a progressão de 16,1% enquanto Maguire e colaboradores (1987), identificaram a progressão em 20% dos 263 pacientes acompanhados pelo mesmo período. Dois estudos de campo realizados no estado de Minas Gerais, com seguimentos de 10 e 6 anos, descreveram progressão de 23% em ambos trabalhos. O primeiro com 60 e o segundo com 71 pacientes (COURA et al., 1985; PEREIRA; WILLCOX; COURA, 1985).

Madoery e colaboradores (1992), ao acompanharem 100 pacientes por 5 anos, sinalizaram progressão de 25%. Quando 97% destes mesmos pacientes foram acompanhados até 10 anos, a progressão foi de 48%. Castro et al. (2001), acompanhando 131 pacientes, no maior tempo de seguimento destes estudos, 13 anos, sinaliza progressão de 14,4%, enquanto, Viotti, em seu trabalho clássico sobre avaliação longitudinal do tratamento específico com benzonidazol (BZN), acompanhou 67 pacientes de FI durante 8 anos, metade tratada e a outra não, tendo apenas 1 deles progredido com alterações eletrocardiográficas, configurando 1,37% de progressão (VIOTTI et al., 1994).

Em nosso estudo, a faixa etária entre 45 a 64 anos foi mais prevalente nas formas indeterminada e cardíaca, enquanto os indivíduos com idade ≥ 65 anos tiveram maior frequência na forma digestiva. Macedo, em análise de estudos longitudinais de campo, refere que indivíduos entre 20 e 29 anos apresentaram prevalência de FI 42% a 58%, enquanto indivíduos maiores de 50 anos em torno de 30%.

Apesar da maior parte dos pacientes incluídos no estudo residirem no Rio de Janeiro, a maioria deles é migrante de 18 estados do Brasil, oriundos predominantemente dos estados da Bahia e Minas Gerais, que constituem praticamente 45% da coorte estudada. Num estudo realizado sobre a doença de Chagas na região Nordeste, demonstrou-se que o estado da Bahia apresenta a maior prevalência da doença na região, similar ao estado de Minas Gerais, e descreve as principais causas sociais que determinaram a forte emigração para os grandes centros da região sudeste (DIAS et al., 2000).

A avaliação do geoprocessamento dos casos de doença de Chagas por unidade federativa permitiu de forma gráfica corroborar que a maioria dos casos que compõem a coorte do INI são naturais de Bahia e Minas Gerais.

No entanto, observou-se que a maior frequência de indivíduos na faixa etária entre 18 a 44 anos são oriundos dos estados do Ceará, Paraíba e Rio de Janeiro. No estado do Ceará, o programa de controle da DC foi concebido nos mesmos moldes das demais regiões endêmicas do país. Desde o seu início até o ano de 2002, o programa cobriu um total de 182 municípios dos 184 existentes (não foram incluídos Maracanaú e Fortaleza) no Estado (SILVA et al., 2009). Porém, o *T. infestans*, espécie erradicada no Brasil, é um

triatomíneo não encontrado no Estado do Ceará. Nossos achados demonstram a necessidade de continuidade ao combate do vetor, principalmente o *T. brasiliensis*, espécie naturalmente encontrada no ecossistema regional do município de Nova Russas (microrregião do Sertão de Crateús).

A elevada prevalência de *T. pseudomaculata* e *T. brasiliensis* na Paraíba justifica-se pelo fato de que, para ambas, o bioma Caatinga, na Região Nordeste, constitui o epicentro de dispersão (FORATTINI, 2006). *T. pseudomaculata*, a espécie mais capturada na região, é considerada um vetor mediano na transmissão da DC; ao passo que *T. brasiliensis*, tem importância vetorial alta, sendo o vetor mais importante no Nordeste do Brasil depois do controle de *T. infestans* (GURGEL, 2012).

Sabe-se que a maioria dos pacientes com DC se originam em áreas rurais. No entanto, nas últimas décadas, devido a políticas econômicas urbanizadoras, uma boa parte desses indivíduos está sendo atraída para a periferia das grandes cidades, conferindo uma progressiva urbanização da doença. Os casos do estado do Rio de Janeiro são possivelmente predominantes por transmissão vertical embora haja relato da possibilidade de ocorrência de casos autóctone (SANGENIS et al., 2015).

Bellini e colaboradores (2012) indicam que há variações geográficas na prevalência das formas clínicas e morbidade da doença de Chagas, provavelmente devido a variação genética do *T. cruzi* e a fatores genéticos do hospedeiro. Devido ao polimorfismo biológico, em diferentes clones de *T. cruzi*, uma linhagem pode apresentar tropismo para diferentes tecidos, tornando-se um fator determinante para o curso clínico da doença. Entretanto, no nosso estudo não houve diferença de prevalência de forma clínica conforme o estado de origem do paciente.

Nesta coorte houve um predomínio do sexo feminino (56,9%), o que caracteriza um pequeno desequilíbrio em relação ao gênero. Nos estudos realizados por Ianni (62,2%), Coura (61,8%), Viotti (58%), Castro (62,6%) e Silva (60%) predominaram as mulheres. Isto provavelmente pode refletir em uma maior disponibilidade das mulheres, de uma forma geral, de se manterem em acompanhamento médico. Por outro lado, em função da sua maior participação na força de trabalho, os homens, em geral, têm menor

disponibilidade de tempo e tendem a procurar assistência médica apenas quando sintomáticos. Todos estes pacientes, com raras exceções, eram moradores de longa data da região metropolitana do estado do Rio de Janeiro, afastados há muitos anos das áreas endêmicas.

Em relação às comorbidades, o percentual de HAS (56,1%) e DM (29,9%) são diferentes da prevalência estimada destas complicações na população brasileira, onde foram encontrados valores de 21,4% e 6,2%, respectivamente (ANDRADE et al., 2015; ISER et al., 2015; PASSOS; ASSIS; BARRETO, 2006; SPOSITO et al., 2007). A prevalência estimada de HAS em pacientes com DC tem sido descrita entre 33 a 67%(GURGEL et al., 2003; GURGEL; ALMEIDA, 2007; PEREIRA et al., 2015). Num estudo realizado em cooperação entre o Centro de Medicina Tropical de São Paulo e Minas Gerais (SaMi-Trop), observou-se em pacientes portadores de cardiomiopatia uma prevalência de HAS de 36%, dislipidemia de 40,1% e DM de 10,1% (CARDOSO et al., 2016).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado não só o aumento da prevalência da hipertensão com a idade, mas também a sua ocorrência associada a outros fatores de risco, de estilo de vida e metabólicos, todos independentemente associados ao aumento de risco para a ocorrência de doenças cardiovasculares (DCV) (PASSOS; ASSIS; BARRETO, 2006).

A alta prevalência e aglomeração de fatores de risco para DCV entre hipertensos reforça a necessidade não só de aprimoramento do diagnóstico e tratamento da hipertensão, como também da abordagem integral do perfil de risco dessa população (BARRETO et al., 2001).

8.1 Fenótipos dos sistemas de grupos sanguíneos

No nosso estudo a frequência fenotípica para o sistema de grupo sanguíneo ABO, está de acordo com dados já publicados anteriormente para a população de doadores de sangue no Brasil (NOVARETTI; DORLHIAC-LLACER; CHAMONE, 2000).

Num estudo realizado em 148 pacientes portadores da doença de Chagas e 222 controles, constatou-se que 44,6% eram do grupo O, 36,5% eram do grupo A, 12,8% eram do grupo B e 6,1 eram do grupo AB (TEIXEIRA

et al., 1987). Entretanto, a estratificação por formas clínicas evidencia diferenças entre os trabalhos realizados por Teixeira e colaboradores e o nosso. Encontramos uma maior prevalência na forma cardíaca de grupo O (49,6%), enquanto Teixeira descreve uma maior prevalência de grupo O na forma indeterminada (60,6%). Esses achados sugerem que os anticorpos anti-A e anti-B de indivíduos do grupo O, que inicialmente haviam sido postulados como causadores de uma reação de antigenicidade cruzada com os antígenos do *T. cruzi*, não conferem proteção aos indivíduos na forma indeterminada. O grupo sanguíneo B foi encontrado em maior prevalência em indivíduos portadores da forma digestiva, de acordo com dados recentemente publicados (BERNARDO et al., 2016).

Formas tripomastigotas do *T. cruzi* expressam o epítipo Gal α 1 \rightarrow 3Gal na sua superfície que reage com anticorpos naturais IgM anti-Gal α 1 \rightarrow 3Gal. Este epítipo, que tem sido considerado responsável por variações do título de anti-Gal α 1 \rightarrow 3Gal no plasma, reage de forma cruzada com antígenos de indivíduos de grupo B, já que ambos são estruturalmente parecidos (ANTAS et al., 1999; CORFIELD, 2015; GALILI, 2013).

As frequências dos fenótipos do sistema Duffy nos indivíduos com forma clínica indeterminada foram diferentes dos encontrados em doadores de sangue em outros estudos (COSTA et al., 2016; FLÔRES et al., 2014; NOVARETTI; DORLHIAC-LLACER; CHAMONE, 2000). O fenótipo Fy(a-b+) foi encontrado em 38,9% dos pacientes, enquanto que o fenótipo Fy(a-b-) foi encontrado em 33,0% dos doadores de sangue. Embora o fenótipo Fy(a-b-) seja raro em indivíduos caucasianos, é altamente prevalente na população negra. O fenótipo Fy(a-b-) apresenta maior prevalência em indivíduos da raça negra devido a uma mutação de ponto na região promotora GATA-1(-33T>C) do gene *Duffy*. As diferenças encontradas são justificadas pelo elevado número de indivíduos da raça negra incluída no estudo dos doadores de sangue (n=536), enquanto nosso estudo incluiu apenas 87 indivíduos que se declararam negros.

No estudo sobre a influência dos fenótipos Duffy na evolução de pacientes transplantados renais, foi observado diminuição da função renal no pós transplante associado ao fenótipo Fy(a-b-) (AKALIN; NEYLAN, 2003).

Visando estudar os polimorfismos do gene *Duffy* em pacientes com hipertensão maligna e doadores de sangue, Pagliarini e colaboradores (2008) descreveram o fenótipo Fy(a-b+) com 34,88% em pacientes com hipertensão maligna e 37% em doadores de sangue. O fenótipo Fy(a-b-) teve prevalência de n=6 (13,95%) entre pacientes com hipertensão maligna e n=10 (10%) em doadores de sangue. Não foi observado diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos (PAGLIARINI, 2008).

Em nossa casuística o fenótipo Jk(a+b+) teve uma maior prevalência nos indivíduos de forma clínica indeterminada, cardíaca e mista, com 40,6%, 48,1% e 48,4% respectivamente. A forma digestiva apresentou frequência maior do fenótipo Jk(a-b+). Uma maior frequência do fenótipo Jk(a+b+) também foi reportada em outros estudos envolvendo doadores de sangue corroborando o nosso achado (GUELSIN et al., 2011; NOVARETTI; DORLHIAC-LLACER; CHAMONE, 2000; ZACARIAS et al., 2016b).

Embora sem diferença estatística significativa, resultados para o sistema de grupo sanguíneo MNS foram diferentes aos já descritos na literatura internacional, com o fenótipo M+N+ presente em maior frequência em todas as formas clínicas da doença de Chagas, em especial a forma indeterminada (62,8%). Num estudo realizado na Índia, o fenótipo M+N+ foi de 37,4% (KAHAR; PATEL, 2014), enquanto numa casuística de doadores de sangue da cidade de São Paulo a frequência do mesmo fenótipo foi de 50,72% (NOVARETTI; DORLHIAC-LLACER; CHAMONE, 2000).

O fenótipo S+s+ foi encontrado em 47,2% dos pacientes na forma indeterminada, 44,1% na forma digestiva e 44,6% na forma mista. Este fenótipo foi encontrado em menor frequência em estudos realizados na República das Maldivas e na Índia (37,0% , 24,4%), respectivamente, (KAHAR; PATEL, 2014; MOHAMED; MUNA, 2013) .

A incidência do antígeno Kell (K) pode variar de acordo com a origem étnica; é menos encontrado em negros do que em brancos e é extremamente raro na Ásia oriental (China, Japão, Coréia). Esse antígeno, porém, é frequente entre povos árabes, e na península do Sinai (Egito) já foi encontrado em até 25% dos indivíduos estudados. Devido a alta frequência do antígeno Cellano

(k+) na população em geral (99,8%), não foi possível identificar diferenças estatísticas entre este antígeno e as diversas formas clínicas da DC.

Ao considerarmos as diferenças dos fenótipos eritrocitários encontrados nos diversos estudos, é importante destacar que população do Brasil é uma das mais heterogêneas do mundo, resultante da miscigenação de raças de três continentes ao longo de um período de cinco séculos: os colonizadores europeus (principalmente de Portugal e Itália), os escravos africanos e índios locais (CARVALHO-SILVA et al., 2001; PARRA et al., 2003).

O conhecimento da base molecular dos grupos sanguíneos fez o estudo das frequências de genes dos eritrócitos ser possível em diferentes partes do mundo. No entanto, até agora, poucos estudos têm sido realizados em populações brasileiras. Mais pesquisas devem ser realizadas em todas as regiões do país, a fim de obter uma maior compreensão da variabilidade e distribuição destes sistemas genéticos, visando descobrir novos alelos e conceber novos estudos e estratégias para estudar genótipos e fenótipos em portadores da doença de Chagas.

9. CONCLUSÕES

- Na nossa coorte a maioria dos pacientes apresenta a forma cardíaca e apresenta média de idade elevada com alta prevalência de comorbidades que são mais frequentes conforme se avança na faixa etária.
- A avaliação do geoprocessamento demonstra que a coorte do INI está mudando o seu perfil epidemiológico com maior prevalência de indivíduos oriundos dos estados do Ceará, Paraíba e Rio de Janeiro entre os mais jovens enquanto que nos pacientes mais idosos a maior parte dos pacientes são oriundos da Bahia e Minas Gerais. Esta mudança reflete o sucesso do controle da transmissão vetorial pelo *T. infestans*, mas a necessidade de se manter as medidas de controle da transmissão por outros triatomíneos, transmissão oral e congênita.
- Exceto pela comparação entre pacientes com forma indeterminada e digestiva, não há evidência de que a prevalência dos diferentes sistemas sanguíneos seja diferente entre as formas clínicas da doença de Chagas.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABALO, M. et al. Tracing of one year of Chagas screening at the Centro de Transfusion de Galicia (C.T.G.) concerning a positive blood donor, Regional Congress of the ISBT, Europe. **Vox Sanguinis**, v. 93, n. suppl.1, p. 140p., 2007.

ABUHAB, A. et al. Chagas' cardiomyopathy: The economic burden of an expensive and neglected disease. **International Journal of Cardiology**, v. 168, n. 3, p. 2375–2380, 3 out. 2013.

AKALIN, E.; NEYLAN, J. F. The influence of Duffy blood group on renal allograft outcome in African Americans. **Transplantation**, v. 75, n. 9, p. 1496–1500, 15 maio 2003.

ALLOUH, M. Z. et al. Glioblastoma and ABO blood groups: further evidence of an association between the distribution of blood group antigens and brain tumours. **Blood Transfusion**, p. 1–5, 30 jun. 2016.

ALVES, L. C.; RODRIGUES, R. N. Determinants of self-rated health among elderly persons in São Paulo, Brazil. **Pan American Journal of Public Health**, v. 17, n. 5–6, p. 333–341, jun. 2005.

AMIRZADEGAN, A. et al. Correlation between ABO blood groups, major risk factors, and coronary artery disease. **International Journal of Cardiology**, v. 110, n. 2, p. 256–258, jun. 2006.

ANDRADE, S. S. DE A. et al. Prevalência de hipertensão arterial autorreferida na população brasileira: análise da Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 2, p. 297–304, jun. 2015.

ANTAS, P. R. et al. Early, intermediate, and late acute stages in Chagas' disease: a study combining anti-galactose IgG, specific serodiagnosis, and polymerase chain reaction analysis. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 61, n. 2, p. 308–314, 1999.

ASSAL, A.; CORBI, C. Maladie de Chagas et transfusion sanguine: un problème parasitaire émergent dans les pays non endémiques. **Transfusion Clinique et Biologique**, v. 18, n. 2, p. 286–291, abr. 2011.

AVENT, N. D. et al. Site directed mutagenesis of the human Rh D antigen: molecular basis of D epitopes. **Vox Sanguinis**, v. 78 Suppl 2, p. 83–89, 2000.

AVENT, N. D.; REID, M. E. The Rh blood group system: a review. **Blood**, v. 95, n. 2, p. 375–387, 15 jan. 2000.

AYATOLLAHI, H. et al. Association between ABO and Rhesus Blood Group Systems among Confirmed Human T Lymphotropic Virus Type 1-Infected Patients in Northeast Iran. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 24, n. 9, p. 1155–1158, set. 2008.

BARRETO, S. M. et al. Hypertension and clustering of cardiovascular risk factors in a community in Southeast Brazil--The Bambuí Health and Ageing Study. **Arq Bras Cardiol**, v. 77, n. 6, p. 576–581, dez. 2001.

BASILE, L. et al. Chagas disease in European countries: the challenge of a surveillance system. **European Communicable Disease Bulletin**, v. 16, n. 37, 2011.

BASTOS, C. J. C. et al. Clinical outcomes of thirteen patients with acute chagas disease acquired through oral transmission from two urban outbreaks in northeastern Brazil. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 4, n. 6, p. e711, 2010.

BEHAL, R. et al. Variation in the host ABO blood group may be associated with susceptibility to hepatitis C virus infection. **Epidemiology and Infection**, v. 138, n. 8, p. 1096–1099, ago. 2010.

BELLINI, M. F. et al. Biologic and genetics aspects of chagas disease at endemic areas. **Journal of Tropical Medicine**, v. 2012, p. 357948, 2012.

BENNARDELLO, F. et al. Recommendations for the prevention and treatment of haemolytic disease of the foetus and newborn. **Blood Transfusion**, v.13, n. 1, p. 109–134, jan. 2015.

BENZIGER, C. P.; DO CARMO, G. A. L.; RIBEIRO, A. L. P. Chagas Cardiomyopathy: Clinical Presentation and Management in the Americas. **Cardiology Clinics**, Global Cardiovascular Health. v. 35, n. 1, p. 31–47, fev. 2017.

BERN, C. et al. Congenital *Trypanosoma cruzi* Transmission in Santa Cruz, Bolivia. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, n. 11, p. 1667–1674, dez. 2009.

BERN, C. et al. *Trypanosoma cruzi* and Chagas' Disease in the United States. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 4, p. 655–681, out. 2011.

BERN, C.; MARTIN, D. L.; GILMAN, R. H. Chapter 2 - Acute and Congenital Chagas Disease. In: LOUIS M. WEISS, H. B. T. AND L. V. K. (Ed.). **Advances in Parasitology**. Chagas Disease, Part A. [s.l.] Academic Press, 2011. v. 75p. 19–47.

BERNARDO, C. R. et al. ABO, secretor and Lewis histo-blood group systems influence the digestive form of Chagas disease. **Infection, Genetics and Evolution**, v. S1567-1348–3, 2016.

BLACKWELL, C. C. et al. Non-secretion of abo antigens predisposing to infection by *Neisseria meningitidis* and *Streptococcus pneumoniae*. **The Lancet**, v. 328, n. 8501, p. 284–285, 2 ago. 1986a.

BLACKWELL, C. C. et al. Non-secretion of ABO blood group antigens predisposing to infection by *Haemophilus influenzae*. **Lancet (London, England)**, v. 2, n. 8508, p. 687, 20 set. 1986b.

BLACKWELL, C. C. et al. Blood Group and Susceptibility to Disease Caused by *Escherichia coli* O157. **Journal of Infectious Diseases**, v. 185, n. 3, p. 393–396, 1 fev. 2002.

BOTURÃO-NETO, E. et al. Molecular Basis of KEL null Phenotype in Brazilians. **Transfusion Medicine and Hemotherapy**, v. 42, n. 1, p. 52–58, jan. 2015.

BRASIL. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância em Saúde / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde. **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde**, 2014.

BRUCE, L. J. et al. A band 3-based macrocomplex of integral and peripheral proteins in the RBC membrane. **Blood**, v. 101, n. 10, p. 4180–4188, 15 maio 2003.

BRUCE, L. J. Red cell membrane transport abnormalities. **Current Opinion in Hematology**, v. 15, n. 3, p. 184–190, maio 2008.

CAMARA-CLAYETTE, V. et al. Transcriptional regulation of the KEL gene and Kell protein expression in erythroid and non-erythroid cells. **The Biochemical Journal**, v. 356, n. Pt 1, p. 171–180, 15 maio 2001.

CAMARGO, M. E. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 8, n. 5, p. 227–235, out. 1966.

CARDOSO, C. S. et al. Longitudinal study of patients with chronic Chagas cardiomyopathy in Brazil (SaMi-Trop project): a cohort profile. **BMJ Open**, v. 6, n. 5, 4 maio 2016.

CARLIER, Y. et al. Congenital Chagas disease: recommendations for diagnosis, treatment and control of newborns, siblings and pregnant women. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 5, n. 10, p. e1250, out. 2011.

CARLIER, Y.; TORRICO, F. Congenital infection with *Trypanosoma cruzi*: from mechanisms of transmission to strategies for diagnosis and control. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 36, p. 767–771, 2003.

CARTRON, J.-P. RH blood group system and molecular basis of Rh-deficiency. **Best Practice & Research Clinical Haematology**, v. 12, n. 4, p. 655–689, 1 dez. 1999.

CARTRON, J.-P. Blood groups: genetics and physiology. **ISBT Science Series**, v. 5, n. n1, p. 27–45, 1 jul. 2010.

CARVALHO-SILVA, D. R. et al. The Phylogeography of Brazilian Y-Chromosome Lineages. **American Journal of Human Genetics**, v. 68, n. 1, p. 281–286, jan. 2001.

CASTRO, C.; PRATA, A.; MACÊDO, V. A follow-up period of 13 years prospective study in 190 chagasic patients of Mambaí, Goiás, State, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 34, n. 4, p. 309–318, ago. 2001.

CASTRO, E. Transfusión sanguínea y enfermedad de Chagas: iniciativas en Centros de Transfusión de España. **Enf. Transfusión**, v. 8 (Suppl. 1), p. 48–50, 2006.

CASTRO, C. N.; ALVES, M. T.; MACEDO, V.O. Importância da repetição do xenodiagnóstico para a avaliação da parasitemia na fase crônica da doença de Chagas. **Rev Soc Bras Med Trop**; 16:98-103,1983.

CAVASINI, C. E. et al. Frequencies of ABO, MNSs, and Duffy phenotypes among blood donors and malaria patients from four Brazilian Amazon areas. **Human Biology**, v. 78, n. 2, p. 215–219, abr. 2006.

CIMERMAN, B. **Parasitologia humana e seus fundamentos gerais**. Sao Paulo: Atheneu, 2001.

CIMO, P. L.; LUPER, W. E.; SCOUROS, M. A. Transfusion-associated Chagas' disease in Texas: report of a case. **Texas Medicine**, v. 89, n. 12, p. 48–50, dez. 1993.

COOLING, L. Blood Groups in Infection and Host Susceptibility. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 3, p. 801–870, jul. 2015.

COOLING, L. L. W. et al. Determinants of ABH expression on human blood platelets. **Blood**, v. 105, n. 8, p. 3356–3364, 15 abr. 2005.

COOMBS, R. R. A.; MOURANT, A. E.; RACE, R. R. In-vivo isosensitisation of red cells in babies with hamolytic disease. **The Lancet**, v. 247, n. 6391, p. 264–266, fev. 1946.

CORFIELD, A. P. Mucins: a biologically relevant glycan barrier in mucosal protection. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1850, n. 1, p. 236–252, jan. 2015.

COSTA, D. C. et al. Frequencies of polymorphisms of the Rh, Kell, Kidd, Duffy and Diego systems of Santa Catarina, Southern Brazil. **Rev Bras Hematol Hemoter**, v. 38, n. 3, p. 199–205, 2016.

COSTA, M. F. F. L. E et al. The Bambuí health and ageing study (BHAS): methodological approach and preliminary results of a population-based cohort study of the elderly in Brazil. **Rev Saúde Pública**, v. 34, n. 2, p. 126–135, abr. 2000.

COURA, J. R. et al. Morbidity in Chagas' disease: IV. Longitudinal study of 10 years in Pains and Iguatama, Minas Gerais, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 80, n. 1, p. 73–80, mar. 1985.

COURA, J. R.; DIAS, J. C. P. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease: 100 years after its discovery. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 31–40, 2009.

COURA, J. R.; VIÑAS, P. A. Chagas disease: a new worldwide challenge. **Nature**, v. 465, n. n7301_suppl, p. S6–S7, 2010.

CRUZ-ROBLES, D. et al. MHC class I and class II genes in Mexican patients with Chagas disease. **Human Immunology**, v. 65, n. 1, p. 60–65, jan. 2004.

CUCUNUBÁ, Z. M. et al. Prevalence and Risk Factors for Chagas Disease in Pregnant Women in Casanare, Colombia. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, n. 5, p. 837–842, 7 nov. 2012.

DA SILVA, M. A. et al. [Chronic phase of Chagas disease. Clinical aspects and course of the disease]. **Arq Bras Cardiol**, v. 63, n. 4, p. 281–285, out. 1994.

DANIELS, G. et al. International Society of Blood Transfusion Committee on Terminology for Red Cell Surface Antigens: Cape Town report. **Vox Sanguinis**, v. 92, n. 3, p. 250–253, 1 abr. 2007.

DANIELS, G. **Human blood groups: Geoff Daniels ; foreword to first edition by Ruth Sanger**. 3rd ed ed. Chichester, West Sussex: John Wiley & Sons, 2013.

DATASUS. **Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde – DATASUS. Brasília: Ministério da Saúde**. Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defctohtm.exe?sim/cnv/obt10uf.def>>. Acessado em: 8 jul. 2016

DE ALMEIDA, E. A. et al. Clinical presentation of chronic Chagas disease in elderly individuals. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 40, n. 3, p. 311–315, jun. 2007.

DE GÓES CAVALCANTI, L. P. et al. NO CEARÁ. **Cad. Saúde Coletiva**, v. 17, n. 4, p. 911–921, 2009.

DE PAULA, E. V. et al. Prevalence of transfusion-transmitted Chagas disease among multitransfused patients in Brazil. **BMC Infectious Diseases**, v. 8, p. 5, 2008.

DEGAREGE, A. et al. The relationship between helminth infections and low haemoglobin levels in Ethiopian children with blood type A. **Journal of Helminthology**, p. 1–6, 19 maio 2016.

DIAS, E. Um Ensaio de Profilaxia de Moléstia de Chagas. **Rio de Janeiro; Imprensa Oficial**, 1945.

DIAS, J. C. The indeterminate form of human chronic Chagas' disease A clinical epidemiological review. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 22, n. 3, p. 147–156, set. 1989.

DIAS, J. C. et al. General situation and perspectives of chagas disease in Northeastern Region, Brazil. **Cad Saúde Pública**, v. 16 Suppl 2, p. 13–34, 2000.

DIAS, J. C. P. **Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1997.

DIAS, J. C. P. Doença de Chagas: sucessos e desafios. **Cad Saúde Pública**, v. 22, n. 10, p. 2020–1, 2006.

DIAS, J. C. P. Globalization, inequity and Chagas disease. **Cad Saúde Pública**, v. 23, p. S13–S22, jan. 2007.

DIAS, J. C. P. Evolution of Chagas disease screening programs and control programs: historical perspective. **Global Heart**, v. 10, n. 3, p. 193–202, 2015.

DIAS, J. C. P. et al. II Consenso brasileiro em doença de chagas, 2015. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. ESP, p. 7–86, 2016.

DIAS, J. C. P.; AMATO NETO, V. [Prevention concerning the different alternative routes for transmission of *Trypanosoma cruzi* in Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 44 Suppl 2, p. 68–72, 2011.

DIAS, J. C. P.; AMATO NETO, V.; LUNA, E. J. DE A. Mecanismos alternativos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Brasil e sugestões para sua prevenção. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 44, n. 3, p. 375–379, jun. 2011.

DIAS, J. C. P.; SILVEIRA, A. C.; SCHOFIELD, C. J. The impact of Chagas disease control in Latin America: a review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 5, p. 603–612, jul. 2002.

DOELMAN, C. J. et al. An anti-K apparently induced by *Enterococcus faecalis* in a 30-year-old man. **Transfusion**, v. 32, n. 8, p. 790, out. 1992.

DOMINGUES, C. S. et al. Oral Outbreak of Chagas Disease in Santa Catarina, Brazil: Experimental Evaluation of a Patient's Strain. **PLOS ONE**, v. 10, n. 10, p. e0122566, 15 out. 2015.

DUTRA, W. O. et al. Cellular and genetic mechanisms involved in the generation of protective and pathogenic immune responses in human Chagas disease. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 104 Suppl 1, p. 208–218, jul. 2009.

ESPINOSA, R. et al. Life expectancy analysis in patients with Chagas' disease: prognosis after one decade (1973-1983). **International Journal of Cardiology**, v. 8, n. 1, p. 45–56, maio 1985.

FERREIRA, I. DE L. M.; SILVA, T. P. T. Transmission elimination of Chagas' disease by *Triatoma infestans* in Brazil: an historical fact. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 39, n. 5, p. 507–509, 2006.

FLEGEL, W. A. Molecular genetics of RH and its clinical application. **Transfusion Clinique et Biologique**, v. 13, n. 1–2, p. 4–12, abr. 2006.

FLÔRES, M. A. L. R. et al. Rh, Kell, Duffy, Kidd and Diego blood group system polymorphism in Brazilian Japanese descendants. **Transfusion and Apheresis Science**, v. 50, n. 1, p. 123–128, fev. 2014.

FLORES-CHAVEZ, M. et al. Transfusional Chagas Disease: Parasitological and Serological Monitoring of an Infected Recipient and Blood Donor. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, n. 5, p. e44–e47, 1 mar. 2008.

FREITAS, J. et al. Barreto JG Primeiras verificações de transmissão acidental da moléstia de Chagas ao homem por transfusão de sangue. 40:36-40, 1952. **Rev Paul Med**, v. 40, p. 36–40, 1952.

FREY, B. M.; GASSNER, C.; JUNG, H. H. Neurodegeneration in the elderly - When the blood type matters: An overview of the McLeod syndrome with focus on hematological features. **Transfusion and Apheresis Scienc**, v. 52, n. 3, p. 277–284, jun. 2015.

FRY, A. E. et al. Common variation in the ABO glycosyltransferase is associated with susceptibility to severe Plasmodium falciparum malaria. **Human Molecular Genetics**, v. 17, n. 4, p. 567–576, 15 fev. 2008.

FORATTINI, Oswaldo Paulo. Biogeography, origin, and distribution of triatominae domiciliarity in Brazil. **Rev. Saúde Pública**, v. 40, n. 6, p. 964-998, Dec. 2006

GALILI, U. Anti-Gal: an abundant human natural antibody of multiple pathogeneses and clinical benefits. **Immunology**, v. 140, n. 1, p. 1–11, set. 2013.

GASCON, J.; BERN, C.; PINAZO, M.-J. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. **Acta Tropica**, v. 115, n. 1–2, p. 22–27, jul. 2010.

GASTINEAU, D. A.; MOORE, S. B. How important are ABO-related variations in coagulation factor levels? **Transfusion**, v. 41, n. 1, p. 4–5, jan. 2001.

GLASS, R. I. et al. Predisposition for cholera of individuals with O blood group. Possible evolutionary significance. **American Journal of Epidemiology**, v. 121, n. 6, p. 791–796, jun. 1985.

GUELSIN, G. A. S. et al. Genetic polymorphisms of Rh, Kell, Duffy and Kidd systems in a population from the State of Paraná, southern Brazil. **Rev Bras Hematol Hemoter**, v. 33, n. 1, p. 21–25, 2011.

GURGEL, C. et al. Frequência da hipertensão arterial na doença de Chagas crônica. Estudo clínico retrospectivo. **Arq Bras Cardiol**, v. 81, n. 6, p. 541–4, 2003.

GURGEL, C. B. F. M.; ALMEIDA, E. A. DE. Frequency of hypertension in patients with chronic chagas disease and its consequences on the heart: a clinical and pathological study. **Arq Bras Cardiol**, v. 89, n. 3, p. 191–200, set. 2007.

HAMILTON, J. R. Kidd blood group system: a review. **Immunoematology**, v. 31, n. 1, p. 29–35, 2015.

HARMENING, D. (ED.). **Modern blood banking & transfusion practices**. 6th ed ed. Philadelphia: F.A. Davis, 2012.

HARRIS, J. B. et al. Blood Group, Immunity, and Risk of Infection with *Vibrio cholerae* in an Area of Endemicity. **Infection and Immunity**, v. 73, n. 11, p. 7422–7427, nov. 2005.

HARRIS, J. B.; LAROCQUE, R. C. Cholera and ABO Blood Group: Understanding an Ancient Association. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, p. 16–0440, 11 jul. 2016.

HARTWELL, E. A. Use of Rh immune globulin: ASCP practice parameter. American Society of Clinical Pathologists. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 110, n. 3, p. 281–292, set. 1998.

HE, M. et al. ABO blood group and risk of coronary heart disease in two prospective cohort studies. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 32, n. 9, p. 2314–2320, 2012a.

HE, M. et al. ABO Blood Group and Risk of Coronary Heart Disease in Two Prospective Cohort Studies. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 32, n. 9, p. 2314–2320, 1 set. 2012b.

HEATHCOTE, D. J.; CARROLL, T. E.; FLOWER, R. L. Sixty Years of Antibodies to MNS System Hybrid Glycophorins: What Have We Learned? **Transfusion Medicine Reviews**, v. 25, n. 2, p. 111–124, 1 abr. 2011.

HERWALDT, B. L. Laboratory-Acquired Parasitic Infections from Accidental Exposures. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 4, p. 659–688, 1 out. 2001.

HIGUCHI, M. DE L. et al. Pathophysiology of the heart in Chagas' disease: current status and new developments. **Cardiovascular Research**, v. 60, n. 1, p. 96–107, 15 out. 2003.

HORUK, R. et al. A receptor for the malarial parasite *Plasmodium vivax*: the erythrocyte chemokine receptor. **Science (New York, N.Y.)**, v. 261, n. 5125, p. 1182–1184, 27 ago. 1993.

HORUK, R. The Duffy Antigen Receptor for Chemokines DARC/ACKR1. **Frontiers in Immunology**, v. 6, 5 jun. 2015.

HOWARD, E. J. et al. Frequency of the Congenital Transmission of *Trypanosoma cruzi*: A Systematic Review and Meta-Analysis. **BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology**, v. 121, n. 1, p. 22–33, jan. 2014.

HOWES, R. E. et al. *Plasmodium vivax* Transmission in Africa. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 11, 20 nov. 2015.

IANNI, B. M. et al. Chagas' heart disease: evolutive evaluation of electrocardiographic and echocardiographic parameters in patients with the indeterminate form. **Arq Bras Cardiol**, v. 77, n. 1, p. 59–62, jul. 2001.

ISER, B. P. M. et al. Prevalência de diabetes autorreferido no Brasil: resultados da Pesquisa Nacional de Saúde 2013. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 2, p. 305–314, jun. 2015.

JENS, E.; PAGLIARINI, T.; NOVARETTI, M. C. Sistema de grupo sanguíneo Duffy: Biologia e prática Transfusional. **Rev Bras Hematol Hemoter**, v. 27, n. 2, p. 110–9, 2005.

JUNQUEIRA, L. F. A summary perspective on the clinical-functional significance of cardiac autonomic dysfunction in Chagas' disease. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 39 Suppl 3, p. 64–69, 2006.

KAHAR, M.; PATEL, R. Phenotype frequencies of blood group systems (Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS, P, Lewis, and Lutheran) in blood donors of south Gujarat, India. **Asian Journal of Transfusion Science**, v. 8, n. 1, p. 51, 2014.

KAIDAROVA, Z. et al. Blood group A and D negativity are associated with symptomatic West Nile virus infection. **Transfusion**, v. 56, n. 7, p. 1699–1706, jul. 2016.

KANEL, G. C.; DAVIS, I.; BOWMAN, J. E. “Naturally-occurring” anti-K1: possible association with mycobacterium infection. **Transfusion**, v. 18, n. 4, p. 472–473, ago. 1978.

KAPER, J. B.; MORRIS, J. G.; LEVINE, M. M. Cholera. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 8, n. 1, p. 48–86, 1 jan. 1995.

KARAGOZ, H. et al. The role of blood groups in the development of diabetes mellitus after gestational diabetes mellitus. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, v. 11, p. 1613–1617, 19 out. 2015.

KUSTU, S.; INWOOD, W. Biological gas channels for NH₃ and CO₂: evidence that Rh (Rhesus) proteins are CO₂ channels. **Transfusion Clinique et Biologique**, v. 13, n. 1–2, p. 103–110, abr. 2006.

LARANJA, F. S. et al. Chagas' disease; a clinical, epidemiologic, and pathologic study. **Circulation**, v. 14, n. 6, p. 1035–1060, dez. 1956.

LE PENDU, J. et al. Mendelian resistance to human norovirus infections. **Seminars in Immunology**, v. 18, n. 6, p. 375–386, dez. 2006.

LEE, B. Y. et al. Global economic burden of Chagas disease: a computational simulation model. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 13, n. 4, p. 342–348, abr. 2013.

LEE, H.-F. et al. Association of blood group A with coronary artery disease in young adults in Taiwan. **Internal Medicine**, v. 51, n. 14, p. 1815–1820, 2012.

LEE, S. The value of DNA analysis for antigens of the Kell and Kx blood group systems. **Transfusion**, v. 47, n. s1, p. 32S–39S, jul. 2007.

LENTSCH, A. B. The Duffy antigen/receptor for chemokines (DARC) and prostate cancer. A role as clear as black and white? **The FASEB Journal**, v. 16, n. 9, p. 1093–1095, 1 jul. 2002.

LO, E. et al. Molecular epidemiology of Plasmodium vivax and Plasmodium falciparum malaria among Duffy-positive and Duffy-negative populations in Ethiopia. **Malaria Journal**, v. 14, 19 fev. 2015.

LÖGDBERG, L.; REID, M. E.; MILLER, J. L. Cloning and genetic characterization of blood group carrier molecules and antigens. **Transfusion Medicine Reviews**, v. 16, n. 1, p. 1–10, jan. 2002.

LOMAS-FRANCIS, C. The value of DNA analysis for antigens of the Kidd blood group system. **Transfusion**, v. 47, n. 1 Suppl, p. 23S–7S, jul. 2007.

LONGO, D. L.; BERN, C. Chagas' Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 5, p. 456–466, 30 jul. 2015.

LUCIEN, N. et al. Antigenic and functional properties of the human red blood cell urea transporter hUT-B1. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 37, p. 34101–34108, 13 set. 2002.

MACÊDO, V. Indeterminate Form of Chagas Disease. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 94, Suppl. I, p. 311–316, 1999.

MADOERY, R. J. et al. Alteraciones electrocardiográficas durante el período intermedio, latente o indeterminado de la Enfermedad de Chagas: consideraciones evolutivas. **Rev Lat Cardiol**, v. 13, p. 55–59, 1992.

MAGUIRE, J. H. et al. A three-year follow-up study of infection with *Trypanosoma cruzi* and electrocardiographic abnormalities in a rural community in northeast Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 31, n. 1, p. 42–47, jan. 1982.

MAGUIRE, J. H. et al. Cardiac morbidity and mortality due to Chagas' disease: prospective electrocardiographic study of a Brazilian community. **Circulation**, v. 75, n. 6, p. 1140–1145, jun. 1987.

MARIN-NETO, J. A. et al. Pathogenesis of Chronic Chagas Heart Disease. **Circulation**, v. 115, n. 9, p. 1109–1123, 6 mar. 2007.

MARSH, W. et al. Naturally occurring anti-Kell stimulated by *E. coli* enterocolitis in a 20-day-old child. **Transfusion**, v. 18, n. 2, p. 149–154, mar. 1978.

MARSH, W. L. Chronic granulomatous disease, Kx antigen and the Kell blood groups. **Progress in Clinical and Biological Research**, v. 21, p. 493–511, 1978.

MARTINS-MELO, F. R. et al. Prevalence of Chagas disease in Brazil: A systematic review and meta-analysis. **Acta Tropica**, v. 130, p. 167–174, fev. 2014.

MARTINS-MELO, F. R. et al. Mortality from neglected tropical diseases in Brazil, 2000–2011. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 94, n. 2, p. 103–110, 1 fev. 2016.

MAZZA, S. et al. Schizotrypanum cruzi al niño por leche de la madre con enfermedad de Chagas. **MEPRA**, v. 287, n. 41, p. 41–46, 1936.

MCGINNISS, M. H.; MACLOWRY, J. D.; HOLLAND, P. V. Acquisition of K: 1 - like antigen during terminal sepsis. **Transfusion**, v. 24, n. 1, p. 28–30, 2 jan. 1984.

MENY, G. M. The Duffy blood group system: a review. **Immunohematology**, v. 26, n. 2, p. 51–56, 2010.

MERCEREAU-PUIJALON, O.; MÉNARD, D. Plasmodium vivax and the Duffy antigen: A paradigm revisited. **Transfusion Clinique et Biologique**, v. 17, n. 3, p. 176–183, set. 2010.

MILEI, J. et al. Does Chagas' disease exist as an undiagnosed form of cardiomyopathy in the United States? **American Heart Journal**, v. 123, n. 6, p. 1732–1735, 1992.

MILES, M. A. Trypanosoma cruzi--milk transmission of infection and immunity from mother to young. **Parasitology**, v. 65, n. 1, p. 1–9, ago. 1972.

MILLER, L. H. et al. The resistance factor to Plasmodium vivax in blacks. The Duffy-blood-group genotype, FyFy. **The New England Journal of Medicine**, v. 295, n. 6, p. 302–304, 5 ago. 1976.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Brazilian Consensus on Chagas disease. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 38 Suppl 3, p. 7–29, 2005.

MOHAMED, S.; MUNA, I. Characterisation of rh and other blood group systems amongst the maldivian blood donors. **The Medical Journal of Malaysia**, v. 68, n. 5, p. 393–396, out. 2013.

MONCAYO, A.; SILVEIRA, A. C. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 104 Suppl 1, p. 17–30, jul. 2009.

MORAES-SOUZA, H.; BORDIN, J. O. Strategies for prevention of transfusion-associated Chagas' disease. **Transfusion Medicine Reviews**, v. 10, n. 3, p. 161–170, jul. 1996.

MORAES-SOUZA, H.; FERREIRA-SILVA, M. M. O controle da transmissão transfusional. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 44, n. Suppl 2, p. 64–67, 2011.

NEIL, S. J. D. et al. HIV-1 incorporates ABO histo-blood group antigens that sensitize virions to complement-mediated inactivation. **Blood**, v. 105, n. 12, p. 4693–4699, 15 jun. 2005.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. São Paulo: Atheneu, 2012.

NICOLAS, V. et al. Rh-RhAG/Ankyrin-R, a New Interaction Site between the Membrane Bilayer and the Red Cell Skeleton, Is Impaired by Rhnull-associated Mutation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 28, p. 25526–25533, 11 jul. 2003.

NÓBREGA, A. A. et al. Oral Transmission of Chagas Disease by Consumption of Açaí Palm Fruit, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 4, p. 653–655, abr. 2009.

NOVARETTI, M. C.; DORLHIAC-LLACER, P. E.; CHAMONE, D. A. Estudo de grupos sanguíneos em doadores de sangue caucasóides e negróides na cidade de São Paulo. **Rev Bras Hematol Hemoter**, v. 22, n. 1, p. 23–32, 2000.

NOVARETTI, M. C. Z. et al. ABO genotyping in leukemia patients reveals new ABO variant alleles. **Genetics and molecular research: GMR**, v. 7, n. 1, p. 87–94, 2008.

OELEMANN, W. M. et al. Evaluation of three commercial enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of Chagas' disease. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 9, p. 2423–2427, set. 1998.

OLIVEIRA, I. et al. Congenital transmission of Chagas disease: a clinical approach. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 8, n. 8, p. 945–956, ago. 2010.

ONSTEN, T. G. H.; CALLEGARI-JACQUES, S. M.; GOLDANI, L. Z. The Higher Frequency of Blood Group B in a Brazilian Population with HIV Infection. **The Open AIDS Journal**, v. 7, p. 47–50, 18 out. 2013.

ONTAÑÓN, A. J. et al. Evaluation of a strategy for *Trypanosoma cruzi* screening and its impact on blood donation, XVIIth Regional Congress of the ISBT Europe. **Vox Sanguinis**, v. 93 (Suppl.1), p. 142, 2007.

OPAS. Pan American Health Organization. Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Americas [Quantitative estimation of Chagas disease in the Americas]. Washington (D.C.): 2006. **Pan American Health Organization**, 2006.

OPAS. **Guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de Chagas aguda transmitida por alimentos**. Rio de Janeiro: PANAFTOSA-VP/OPAS/OMS, 2009. 92 p.: il. (Serie de Manuais Técnicos, 12) Organização Pan Americana da Saúde, 2009.

OPAS, 2010. XVlla. **Reunión de la Comisión Intergubernamental de la Iniciativa Subregional Cono Sur de Eliminación de *Triatoma infestans* y la interrupción de la Transmisión Transfusional de la Tripanosomiasis Americana**. Santiago de Chile. HSD/CD/CH/03-11.

OSTERMAYER, A. L. et al. The national survey of seroprevalence for evaluation of the control of Chagas disease in Brazil (2001-2008). **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 44, p. 108–121, 2011.

PAGLIARINI, T. **Estudo dos polimorfismos do gene DUFFY em pacientes com hipertensão maligna e doadores de sangue**. [Dissertação de mestrado] Universidade de São Paulo, 7 ago. 2008.

PALACAJORNSUK, P. Review: molecular basis of MNS blood group variants. **Immunohematology**, v. 22, n. 4, p. 171–182, 2006.

PARRA, F. C. et al. Color and genomic ancestry in Brazilians. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 1, p. 177–182, 7 jan. 2003.

PASSOS, V. M. DE A.; ASSIS, T. D.; BARRETO, S. M. Hipertensão arterial no Brasil: estimativa de prevalência a partir de estudos de base populacional. **Epidemiologia e serviços de Saúde**, v. 15, n. 1, p. 35–45, 2006.

PELLEGRINO, J. Transmissão da doença de Chagas por transfusão de sangue. Primeiras comprovações sorológicas em doadores e candidatos a doadores. **Rev Bras Med**, v. 6, p. 297–301, 1949.

PEREIRA, J. B. et al. Parasitemia em pacientes chagásicos crônicos avaliada pelo índice de triatomíneos infectados no xenodiagnóstico. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 22, n. 1, p. 39–44, 1989.

PEREIRA, J. B.; WILLCOX, H. P.; COURA, J. R. Morbidity in Chagas' disease. III. Longitudinal study of 6 years, in Virgem da Lapa, MG, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 80, n. 1, p. 63–71, mar. 1985.

PEREIRA, L. DOS S. et al. Clinical and epidemiological profile of elderly patients with Chagas disease followed between 2005-2013 By pharmaceutical care in Ceará state, northeastern Brazil. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 57, n. 2, p. 145–152, 2015.

PÉREZ-MOLINA, J. A. et al. Old and new challenges in Chagas disease. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 15, n. 11, p. 1347–1356, nov. 2015.

PINTO, A. Y. DAS N. et al. Acute phase of Chagas disease in the Brazilian Amazon region: study of 233 cases from Pará, Amapá and Maranhão observed between 1988 and 2005. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 41, n. 6, p. 602–614, dez. 2008.

PINTO DIAS, J. C. Natural history of Chagas disease. **Arq Bras Cardiol**, v. 65, n. 4, p. 359–366, out. 1995.

PINTO DIAS, J. C. Human Chagas Disease and Migration in the Context of Globalization: Some Particular Aspects. **Journal of Tropical Medicine**, v. 2013, 2013.

PIRON, M. et al. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in at-risk blood donors in Catalonia (Spain). **Transfusion**, v. 48, n. 9, p. 1862–1868, set. 2008.

POGO, A. O.; CHAUDHURI, A. The Duffy protein: a malarial and chemokine receptor. **Seminars in Hematology**, v. 37, n. 2, p. 122–129, abr. 2000.

POOLE, J. Red cell antigens on band 3 and glycophorin A. **Blood Reviews**, v. 14, n. 1, p. 31–43, mar. 2000.

PORTELA-LINDOSO, A. A. B.; SHIKANAI-YASUDA, M. A. Chronic Chagas' disease: from xenodiagnosis and hemoculture to polymerase chain reaction. **Rev Saúde Pública**, v. 37, n. 1, p. 107–115, 2003.

PRATA, A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. **The Lancet infectious diseases**, v. 1, n. 2, p. 92–100, 2001.

RASSI, A. et al. Challenges and opportunities for primary, secondary, and tertiary prevention of Chagas' disease. **Heart (British Cardiac Society)**, v. 95, n. 7, p. 524–534, abr. 2009.

RASSI, A.; MARIN-NETO, J. A. Chagas disease. **The Lancet**, v. 375, n. 9723, p. 1388–1402, 2010.

RASSI, A.; RASSI, A.; MARCONDES DE REZENDE, J. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 275–291, jun. 2012.

REID, M. E.; MOHANDAS, N. Red blood cell blood group antigens: structure and function. **Seminars in Hematology**, v. 41, n. 2, p. 93–117, abr. 2004.

RIERA, C. et al. Identification of a Western blot pattern for the specific diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection in human sera. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 86, n. 3, p. 412–416, mar. 2012.

ROSENBERG, R. *Plasmodium vivax* in Africa: hidden in plain sight? **Trends in Parasitology**, v. 23, n. 5, p. 193–196, maio 2007.

ROT, A. Contribution of Duffy antigen to chemokine function. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 16, n. 6, p. 687–694, dez. 2005.

ROURK, A.; SQUIRES, J. E. Implications of the Kidd blood group system in renal transplantation. **Immunohematology**, v. 28, n. 3, p. 90–94, 2012.

ROWE, J. A. et al. Blood group O protects against severe *Plasmodium falciparum* malaria through the mechanism of reduced rosetting. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 44, p. 17471–17476, 30 out. 2007.

SANGENIS, L. H. C. et al. Autochthonous transmission of Chagas disease in Rio de Janeiro State, Brazil: a clinical and eco-epidemiological study. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, 8 jan. 2015.

SANTOS, I. S. et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and associated factors among adults in Southern Brazil: a population-based cross-sectional study. **BMC Public Health**, v. 5, p. 118, 10 nov. 2005.

SAVALONIS, J. M. et al. Kell blood group activity of gram-negative bacteria. **Transfusion**, v. 28, n. 3, p. 229–232, 6 maio 1988.

SCHMUNIS, G. A. Epidemiology of Chagas disease in non endemic countries: the role of international migration. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 102, p. 75–86, 2007.

SCHMUNIS, G. A.; CRUZ, J. R. Safety of the Blood Supply in Latin America. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, n. 1, p. 12–29, 1 jan. 2005.

SCHMUNIS, G. A.; YADON, Z. E. Chagas disease: A Latin American health problem becoming a world health problem. **Acta Tropica**, v. 115, n. 1–2, p. 14–21, jul. 2010.

ŞEYDA, T. et al. The relationship of Helicobacter pylori positivity with age, sex, and ABO/Rhesus blood groups in patients with gastrointestinal complaints in Turkey. **Helicobacter**, v. 12, n. 3, p. 244–250, 2007.

SHA, Q.; REDMAN, C. M.; LEE, S. Endothelin-3-converting enzyme activity of the KEL1 and KEL6 phenotypes of the Kell blood group system. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 11, p. 7180–7182, 17 mar. 2006.

SHEINFELD, J. et al. Association of the Lewis blood-group phenotype with recurrent urinary tract infections in women. **The New England Journal of Medicine**, v. 320, n. 12, p. 773–777, 23 mar. 1989.

SHEN, H. et al. The Duffy antigen/receptor for chemokines (DARC) regulates prostate tumor growth. **The FASEB Journal**, v. 20, n. 1, p. 59–64, 1 jan. 2006.

SHERLOCK, I. A.; PIESMAN, J. Controle da transmissão da doença de Chagas, pelo combate aos vetores, com bendiocarb, feito pelos habitantes. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 17, n. 2, p. 67–72, jun. 1984.

SHIKANAI-YASUDA, M. A. et al. Possible oral transmission of acute Chagas' disease in Brazil. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 33, n. 5, p. 351–357, out. 1991.

SHIKANAI-YASUDA, M. A.; CARVALHO, N. B. Oral Transmission of Chagas Disease. **Clinical Infectious Diseases**, v. 54, n. 6, p. 845–852, 15 mar. 2012.

SILVA, A. D. G. DA et al. Avaliação do Programa de Controle da Doença de Chagas no estado do Ceará: período de gestão federal, 1975 a 2002. 2009. *Cad Saúde Pública* v.25, n.4, p.907-17, 2009.

SILVEIRA, A. C.; DIAS, J. C. P. The control of vectorial transmission. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 44, p. 52–63, 2011.

SINGH, S. K. et al. Structural basis for Duffy recognition by the malaria parasite Duffy-binding-like domain. **Nature**, v. 439, n. 7077, p. 741–744, 9 fev. 2006.

SOBREIRA, A. C. DE M. et al. Chagasic infection prevalence in blood donors for the Hemocentro Regional de Iguatu. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 34, n. 2, p. 193–196, 2001.

SOSA-ESTANI, S. et al. Vectorial and congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in Las Lomitas, Formosa. **Medicina**, v. 69, n. 4, p. 424–430, 2009a.

SOSA-ESTANI, S. et al. Etiological treatment of young women infected with *Trypanosoma cruzi*, and prevention of congenital transmission. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 42, n. 5, p. 484–487, out. 2009b.

SOSA-ESTANI, S.; SEGURA, E. L. Integrated control of Chagas disease for its elimination as public health problem - A Review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 3, p. 289–298, maio 2015.

SOUZA-LIMA, R. DE C. DE et al. Outbreak of acute Chagas disease associated with oral transmission in the Rio Negro region, Brazilian Amazon. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 46, n. 4, p. 510–514, ago. 2013.

SPOSITO, A. C. et al. IV Diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq Bras Cardiol**, v. 88, p. 2–19, 2007.

STORRY, J. R. et al. International Society of Blood Transfusion Working Party on red cell immunogenetics and blood group terminology: Cancun report (2012). **Vox Sanguinis**, v. 107, n. 1, p. 90–96, 1 jul. 2014.

TARAZONA-SANTOS, E. et al. Population Genetics of GYPB and Association Study between GYPB*S/s Polymorphism and Susceptibility to *P. falciparum* Infection in the Brazilian Amazon. **PLOS ONE**, v. 6, n. 1, p. e16123, 24 jan. 2011.

TARTAROTTI, E.; AZEREDO-OLIVEIRA, M. T. V.; CERON, C. R. Problemática vetorial da Doença de Chagas. **Arq Ciênc Saúde**, v. 11, n. 1, p. 44–7, 2004.

TASWELL, H. F. et al. Erythrocyte morphology in genetic defects of the Rh and Kell blood group systems. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 52, n. 3, p. 157–159, mar. 1977.

TEIXEIRA, V. DE P. et al. The ABO system and anatomoclinical forms of chronic Chagas disease. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 20, n. 3, p. 163–167, set. 1987.

THORVEN, M. et al. A Homozygous Nonsense Mutation (428G→A) in the Human Secretor (FUT2) Gene Provides Resistance to Symptomatic Norovirus (GGII) Infections. **Journal of Virology**, v. 79, n. 24, p. 15351–15355, dez. 2005.

TOURNAMILLE, C. et al. Structure–function analysis of the extracellular domains of the Duffy antigen/receptor for chemokines: characterization of antibody and chemokine binding sites. **British Journal of Haematology**, v. 122, n. 6, p. 1014–1023, 1 set. 2003.

UNIÃO EUROPÉIA. Commission Directive 2004/33/EC of 22 March 2004 implementing Directive 2002/98/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for blood and blood components. **Official Journal of the European Union**, 2004. Acesso em: 27 jul. 2016.

VAN KIM, C. L.; COLIN, Y.; CARTRON, J.-P. Rh proteins: key structural and functional components of the red cell membrane. **Blood Reviews**, v. 20, n. 2, p. 93–110, mar. 2006.

VILLALBA, R. et al. Acute Chagas' Disease in a Recipient of a Bone Marrow Transplant in Spain: Case Report. **Clinical Infectious Diseases**, v. 14, n. 2, p. 594–595, 1 fev. 1992.

VIOTTI, R. et al. Treatment of chronic Chagas' disease with benznidazole: Clinical and serologic evolution of patients with long-term follow-up. **American Heart Journal**, v. 127, n. 1, p. 151–162, 1 jan. 1994.

VOLLER, A. et al. Microplate enzyme-linked immunosorbent assay for Chagas' disease. **The Lancet**, v. 305, n. 7904, p. 426–428, fev. 1975.

WANDERLEY, D. M. V. et al. Controle da hemoterapia e da doença de Chagas transfusional: 1988 e 1990. **Rev saúde pública**, v. 27, n. 6, p. 430–435, 1993.

WANG, Z. et al. ABO Blood Group System and Gastric Cancer: A Case-Control Study and Meta-Analysis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 10, p. 13308–13321, 17 out. 2012.

WATKINS, C. E. et al. Chronic granulomatous disease, the McLeod phenotype and the contiguous gene deletion syndrome—a review. **Clinical and Molecular Allergy: CMA**, v. 9, p. 13, 23 nov. 2011.

WEINER, I. D. Expression of the non-erythroid Rh glycoproteins in mammalian tissues. **Transfusion Clinique et Biologique**, v. 13, n. 1–2, p. 159–163, abr. 2006.

WENDEL, S. Transfusion transmitted Chagas disease: Is it really under control? **Acta Tropica**, Chagas disease: 100 years of the discovery and beyond. v. 115, n. 1–2, p. 28–34, jul. 2010.

WENDEL, S.; GONZAGA, A. L. Chagas' disease and blood transfusion: a New World problem? **Vox Sanguinis**, v. 64, n. 1, p. 1–12, 1993.

WENDEL, S.; LEIBY, D. A. Parasitic infections in the blood supply: Assessing and countering the threat. **Developments in Biologicals**, v. 127, p. 17–41, 2007.

WESTHOFF, C. M. The structure and function of the Rh antigen complex. **Seminars in Hematology**, v. 44, n. 1, p. 42–50, jan. 2007.

WESTHOFF, C. M.; REID, M. E. Review: the Kell, Duffy, and Kidd blood group systems. **Immunohematology**, v. 20, n. 1, p. 37–49, 2004.

WESTHOFF, C. M.; WYLIE, D. E. Transport characteristics of mammalian Rh and Rh glycoproteins expressed in heterologous systems. **Transfusion Clinique et Biologique**, v. 13, n. 1–2, p. 132–138, abr. 2006.

WHO (ED.). Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates. **Weekly Epidemiological Record**, v. 90, n. 6, p. 33–43, 6 fev. 2015.

WILLIAMS-BLANGERO, S. et al. Genetic epidemiology of Trypanosoma cruzi infection and Chagas' disease. **Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library**, v. 8, p. e337-345, 1 maio 2003.

WILLIAMSON, R. C.; TOYE, A. M. Glycophorin A: Band 3 aid. **Blood Cells, Molecules & Diseases**, v. 41, n. 1, p. 35–43, ago. 2008.

WITTE, T. N. et al. McLeod syndrome: a distinct form of neuroacanthocytosis: Report of two cases and literature review with emphasis on neuromuscular manifestations. **Journal of Neurology**, v. 239, n. 6, p. 302–306, 1992.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Control of Chagas disease: second report of the WHO expert committee**. 2002.

YADON, Z. E.; SCHMUNIS, G. A. Congenital Chagas Disease: Estimating the Potential Risk in the United States. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 81, n. 6, p. 927–933, 1 dez. 2009.

YAMAMOTO, F.; MCNEILL, P. D.; HAKOMORI, S. Genomic organization of human histo-blood group ABO genes. **Glycobiology**, v. 5, n. 1, p. 51–58, fev. 1995.

YOSHIDA, N. Trypanosoma cruzi infection by oral route: How the interplay between parasite and host components modulates infectivity. **Parasitology International**, v. 57, n. 2, p. 105–109, jun. 2008.

ZACARIAS, J. M. V. et al. Frequency of RHD variants in Brazilian blood donors from Parana State, Southern Brazil. **Transfusion and Apheresis Science**, 2016a.

ZACARIAS, J. M. V. et al. Profile of Rh, Kell, Duffy, Kidd, and Diego blood group systems among blood donors in the Southwest region of the Paraná state, Southern Brazil. **Transfusion and Apheresis Science**, v. S1473-502, 2016b.

ZICKER, F. et al. Trends of T. cruzi infection based on data from blood bank screening. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 32, n. 2, p. 132–137, abr. 1990.

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

INSTITUTO DE PESQUISA
CLÍNICA EVANDRO CHAGAS -
IPEC / FIOCRUZ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo da prevalência de sistemas de grupos sanguíneos ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS entre as diferentes formas clínicas da doença de Chagas

Pesquisador: Roberto Magalhães Saraiva

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 12303713.9.0000.5262

Instituição Proponente: Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - IPEC / FIOCRUZ

Patrocinador Principal: Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - IPEC / FIOCRUZ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 229.267

Data da Relatoria: 25/03/2013

Apresentação do Projeto:

Diversos estudos têm buscado evidenciar a associação entre os sistemas sanguíneos e doenças, sendo que nas infecciosas, a malária é uma das mais estudadas. Há relatos de estudos com HTLV-1, doença coronariana entre outros. A hipótese de estudo é que existam diferentes prevalências dos fenótipos sanguíneos estudados conforme a forma clínica da doença de Chagas, o que indicaria que um determinado fenótipo poderia atuar como marcador de forma clínica cardíaca, em especial nos estágios mais avançados da mesma. Nesse sentido, o projeto apresentado propõe um estudo transversal onde serão recrutados aproximadamente 1300 pacientes portadores de doença de Chagas crônica oriundos do ambulatório de pacientes portadores de doenças de Chagas do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas no período de Janeiro de 2013 a dezembro de 2014, tendo como objetivo estimar a prevalência dos sistemas sanguíneos ABO, Rh, Kell, Kidd, MNSs e Duffy nas diferentes formas de apresentação clínica da doença de Chagas, a seguir: forma clínica cardíaca, forma clínica indeterminada, forma clínica digestiva com megaesôfago e/ou megacólon. A forma cardíaca será subdividida em estágios A, B, C e D. As formas clínicas da doença de Chagas serão obtidas através da revisão das evoluções médicas realizadas no prontuário dos pacientes e terão a sua classificação de acordo com o Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (Brasil, 2005). Os pacientes assintomáticos que apresentam evidências sorológicas e/ou parasitológicas, mas que apresentam eletrocardiograma de repouso e exames radiológicos de tórax e tubo digestivo sem alterações serão classificados como forma clínica Indeterminada (FI). Os pacientes que

Endereço: Avenida Brasil 4365

Bairro: Manguinhos

CEP: 21.045-900

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3865-9585

E-mail: cep@ipec.fiocruz.br

INSTITUTO DE PESQUISA
CLÍNICA EVANDRO CHAGAS -
IPEC / FIOCRUZ



apresentarem destruição das terminações nervosas do plexo mio-entérico do sistema digestivo, levando a graus diferentes de alteração de peristalse e, conseqüentemente, à dilatação esofágica e colônica serão classificados como forma clínica digestiva. A forma cardíaca será caracterizada por um acometimento predominantemente inflamatório, baseado em uma miocardite crônica fibrosante, destrutiva para o miocárdio e para o sistema de condução. Há graus variáveis de alterações segmentares ao ecocardiograma (frequentemente em região apical, paredes inferior e póstero-lateral do ventrículo esquerdo), podendo ou não haver dilatação ventricular. Áreas de trombose mural podem não estar associadas necessariamente à presença de insuficiência cardíaca. Os fenótipos ABO serão determinados pelo método da Hemaglutinação na técnica em cartões de gel com prova direta e reversa em cartões contendo anticorpos monoclonais anti-A, anti-B e anti-D. Os fenótipos do sistema Rh, Kell, Kidd e MNSs serão determinados pelo método de hemaglutinação em cartões de gel utilizando anticorpos monoclonais específicos para os antígenos correspondentes. Os testes de hemaglutinação serão padronizados com a utilização de amostras controle positiva e negativa, validados na Agência Transfusional do IPEC/FIOCRUZ, com o objetivo de garantir que a única variável nestes testes fosse a expressão antigênica dos sistemas sanguíneos, e assim obter um resultado confiável quanto à especificidade e sensibilidade. O estudo pretende assim determinar se há maior prevalência de algum fenótipo em pacientes com a forma cardíaca, de pior prognóstico, do que nas demais formas. Serão excluídos os indivíduos que apresentarem idade inferior a 18 anos, coinfeção pelos vírus da imunodeficiência humana (HIV), da hepatite B (HBV), ou da hepatite C (HCV).

Objetivo da Pesquisa:

Os objetivos apresentados no projeto são:

- (1) Explorar as classificações dos sistemas sanguíneos ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS como potenciais marcadores de formas clínicas de doença de Chagas;
- (2) Descrever características demográficas, epidemiológicas e preditoras de pacientes infectados com T. cruzi;
- (3) Determinar a prevalência dos fenótipos eritrocitários dos sistemas sanguíneos ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS nos portadores crônicos de doença de Chagas; e,
- (4) Estimar a direção e magnitude da associação entre os diferentes fenótipos eritrocitários e as formas clínicas da doença de Chagas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Muito favorável. Não será feita qualquer intervenção ou exame invasivo. Os riscos serão mínimos, associados à coleta de sangue e da confidencialidade dos dados clínicos e pessoais dos sujeitos da pesquisa, e serão minimizados pela adoção de códigos para identificar os pacientes nas planilhas do estudo; guardados pelo pesquisador principal. Os benefícios serão indiretos através do

Endereço: Avenida Brasil 4365

Bairro: Manguinhos

CEP: 21.045-000

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3885-9585

E-mail: cep@ipec.fiocruz.br

INSTITUTO DE PESQUISA
CLÍNICA EVANDRO CHAGAS -
IPEC / FIOCRUZ



aumento do conhecimento científico a respeito da doença de Chagas que poderá gerar benefício para a sociedade.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Espera-se que uma menor prevalência de grupo sanguíneo 0 nos pacientes portadores de doenças de Chagas na forma cardíaca e uma maior prevalência dos outros fenótipos eritrocitários. Desta forma, espera-se que o fenótipo eritrocitário tenha potencial de prever a forma clínica da doença de Chagas crônica. Existe, ainda, a previsão de produção de relatórios semestrais (parciais ou finais), de acordo com a Res. CNS n.o 196/96-VII.13.d.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Em geral o projeto e o protocolo de pesquisa nele contido apresentam metodologia científica adequada (Res. CNS n.o 196/96- VII.14); uma antecipação real e proporcional dos riscos e benefícios antecipados (Res. CNS n.o 196/96-V); um TCLE claro e bem redigido pelo pesquisador (Res. CNS n.o 196/96-IV); adequadas informações relativas ao recrutamento dos sujeitos da pesquisa, assim como os critérios de inclusão e exclusão desses; garantia explícita da privacidade e confidencialidade tanto no protocolo de pesquisa quanto no TCLE (Res. CNS n.o 196/96, IV.1.g), com certificação explícita de que os dados pessoais oriundos da participação na pesquisa serão utilizados apenas para os fins propostos no protocolo (Res. CNS n.o 196/96-IV.3.f). Uma vez que o projeto prevê o armazenamento de material biológico humano, na forma de um biorrepositório (Res. CNS n.o 441/11 ç 1.II), houve certificação explícita ao sujeito de pesquisa, por meio do TCLE, da possibilidade de utilização desse material em pesquisas futuras. Ainda, em carta ao CEP (anexo na Plataforma Brasil), houve clara certificação que o uso futuro dessas amostras biológicas se daria exclusivamente por meio de novo protocolo de pesquisa submetido previamente ao CEP e obtenção de novo TCLE específico.

Recomendações:

Nenhuma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Foram satisfeitas.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Este projeto foi apreciado e aprovado em reunião de 25/03/2013.

Endereço: Avenida Brasil 4365

Bairro: Manguinhos

CEP: 21.045-900

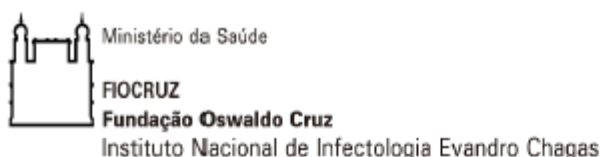
UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3865-9585

E-mail: cep@ipec.fiocruz.br

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TÍTULO DO PROJETO: ESTUDO DA PREVALÊNCIA DE SISTEMAS DE GRUPOS SANGÜÍNEOS ABO, Rh, KELL, KIDD, DUFFY, MNS ENTRE AS DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS

COORDENADOR DO PROJETO: Roberto Magalhães Saraiva

Você está sendo convidado a participar de um estudo intitulado: "Estudo da associação entre sistemas de grupos sanguíneos ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy e MNS e formas clínicas da doença de Chagas". Este estudo tem o objetivo de estimar a prevalência de grupos sanguíneos entre as diferentes formas clínicas da doença de Chagas. Em caso de qualquer dúvida, o (a) Sr. (a) poderá entrar em contato com o integrante do Projeto, Alexandre Gomes Vizzoni, no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas – Fiocruz, no endereço: Av. Brasil, 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, CEP.: 21.040-361. Telefones: 3865-9500 e 3865-9584.

Esteja ciente que sua participação é **VOLUNTÁRIA**, o que significa que o (a) Sr. (a) poderá decidir se quer ou não participar deste estudo, ou caso haja qualquer **DESCONFORTO** ou **CONSTRANGIMENTO** durante o mesmo o Sr.(a) poderá solicitar a não participação ou desistência do estudo. Caso não aceite ou desista de participar do estudo seu tratamento ou investigação diagnóstica ocorrerá sem nenhum prejuízo.

Este estudo ocorrerá de forma **CONFIDENCIAL** e manterá seu **ANONIMATO** em todos os exames que realizar e também sobre seu diagnóstico. Somente a equipe de profissionais envolvida neste estudo terá conhecimento dos resultados dos exames que realizar e do conteúdo que foi informado durante a(s) consulta(s).

A sua participação neste estudo é fundamental e poderá gerar benefícios para as pessoas portadoras de doença de Chagas no futuro, após o término do estudo.

A equipe e os investigadores do centro terão acesso aos seus registros do estudo/prontuários clínicos. Seus registros também poderão ser analisados por grupos que supervisionam este estudo, para verificarem se estamos protegendo seus direitos, mantendo-o seguro e seguindo o plano de estudo. Esses grupos são: (1) Representantes da equipe do protocolo de estudo; e (2) Comitê de Ética em Pesquisa do IPEC. Todos os revisores tomarão medidas para manter seus registros confidenciais.

Declaro que fui informado de que:

1. Poderei recusar-me a participar da pesquisa, sem que este fato me venha causar qualquer constrangimento e que o meu atendimento clínico em nada será modificado pela minha recusa;
2. Os exames aplicados serão gratuitos;
3. Antes de assinar este Termo, devo ser informado plenamente sobre a pesquisa e ter a possibilidade de fazer perguntas de qualquer natureza que julgar conveniente esclarecer;

4. Este estudo tem o objetivo de verificar a associação entre grupos sanguíneos e formas clínicas da doença de Chagas
5. Nesta investigação serão coletados de 05 ml de sangue. O sangue será colhido assepticamente por punção de uma veia do braço. Este procedimento será realizado junto com a coleta dos exames de rotina, não implicando em uma punção venosa separada. A coleta de sangue é um exame seguro, podendo causar pequeno desconforto, como um pequeno hematoma, ou seja, extravasamento de sangue da veia para o tecido, no local da punção;
6. Esta pesquisa poderá não trazer benefícios imediatos para o meu acompanhamento clínico, mas poderá trazer conhecimento a respeito da associação entre sistemas de grupos sanguíneos e formas clínicas da doença de Chagas;
7. O material biológico coletado, após exames, será estocado por um período de pelo menos 5 anos, podendo ser usado posteriormente, em outras pesquisas com fins semelhantes, mas somente após a avaliação, pelo Comitê de Ética em Pesquisa, que poderá dispensar a assinatura de um novo Termo de Consentimento, todavia mantendo sempre a identidade do doador em sigilo. As amostras serão alíquotadas em tubos eppendorf e imediatamente congeladas a -20°C, ficando sob a responsabilidade da chefia da Agência Transfusional.

Se concordar em participar desta pesquisa, você será solicitado a rubricar todas as páginas e assinar no final duas vias deste termo de consentimento livre e esclarecido. Um membro da equipe do estudo e o pesquisador responsável também rubricarão todas as páginas e assinarão no final dessas duas vias. Uma dessas vias originais ficará com você e a outra no centro de pesquisa, a fim de evitar que o descumprimento dessa orientação venha a acarretar qualquer prejuízo/impedimento ao estudo.

Declaro estar ciente do conteúdo deste Termo de Consentimento, decidindo-me participar da investigação proposta, depois de ter formulado perguntas e de ter recebido respostas satisfatórias a todas elas, e ciente de que poderei voltar a fazê-las a qualquer momento.

Nome completo do voluntário: _____

Endereço: _____

Local: _____ Data: ___ / ___ / ___

Digital se paciente analfabeto

Ass. do Voluntário ou Responsável legal:

Ass. do Profissional membro da equipe que obteve o Termo:

