

MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

DOUTORADO EM PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

Impacto da repetição do tratamento com benznidazol na resposta imune humoral, parasitemia e cardiopatia de pacientes portadores da doença de Chagas crônica de Virgem da Lapa, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais.

PATRÍCIA LAGO ZAUZA

Rio de Janeiro
Dezembro de 2016

Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

PATRÍCIA LAGO ZAUZA

Impacto da repetição do tratamento com benznidazol na resposta imune humoral, parasitemia e cardiopatia de pacientes portadores da doença de Chagas crônica de Virgem da Lapa, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais.

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz
como parte dos requisitos para obtenção do
título de Doutor em Medicina Tropical

Orientador: Prof. Dr. José Borges Pereira

Rio de Janeiro
Dezembro de 2016

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

Z39

Zauza, Patrícia Lago

Impacto da repetição do tratamento com benznidazol na resposta imune humoral, parasitemia e cardiopatia de pacientes portadores da doença de Chagas crônica de Virgem da Lapa, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais / Patrícia Lago Zauza. – Rio de Janeiro, 2016.

xxii, 145 f. : il. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2016.

Bibliografia: f. 101-127

1. Doença de Chagas crônica. 2. Repetição do tratamento etiológico.
3. Benznidazol. 4. Virgem da Lapa-MG. I. Título.

CDD 616.9363

Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

AUTOR: Patrícia Lago Zauza

Impacto da repetição do tratamento com benznidazol na resposta imune humoral, parasitemia e cardiopatia de pacientes portadores da doença de Chagas crônica de Virgem da Lapa, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais.

Orientador: Prof. Dr. José Borges Pereira

Aprovada em: 15 de dezembro de 2016

EXAMINADORES:

Profa. Dra. Andréa Silvestre de Sousa - INI/FIOCRUZ

Profa. Dra. Helena Keiko Toma – UFRJ/RJ

Prof. Dr. José Rodrigues Coura – IOC/FIOCRUZ

Prof. Dr. Nelson Gonçalves Pereira – UFRJ/RJ

Prof. Dr. Sérgio Salles Xavier – INI/FIOCRUZ

SUPLENTES:

Prof. Dr. Alejandro Marcel Hasslocher-Moreno – INI/FIOCRUZ

Prof. Dr. Pedro Hernán Cabello Acero – IOC/FIOCRUZ

Rio de Janeiro, 15 de dezembro de 2016.

“Ninguém nasce odiando outra pessoa pela cor da sua pele, por sua origem ou ainda por sua religião. Para odiar, as pessoas precisam aprender e, se podem aprender a odiar, podem ser ensinadas a amar.”

NELSON MANDELA

18/07/1918 - 05/12/2013

DEDICATÓRIA

AOS MEUS AVÓS MATERNOS , GERSON E LÉA (IN MEMORIAN) E À MINHA MÃE MÁRCIA (IN MEMORIAN) POR TEREM ME DADO A BASE MORAL, EDUCACIONAL E O AMOR NECESSÁRIOS À MINHA FORMAÇÃO COMO SER HUMANO, MINHA ETERNA GRATIDÃO E AMOR....

A POPULAÇÃO DE VIRGEM DA LAPA PELA SUA CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO SOBRE SEU PRÓPRIO ALGOZ-A DOENÇA DE CHAGAS.

AGRADECIMENTOS

Esse trabalho é parte de 41 anos de ações desenvolvidas em Virgem da Lapa-MG pela população e por dezenas de profissionais de variadas qualificações, de diversas instituições públicas e privadas, entre as quais me incluo na perspectiva de produzir conhecimentos, estratégias e benefícios que auxiliem no controle da doença de Chagas e na melhoria da qualidade de vida das pessoas. Agradecemos a todos que contribuíram nessas quatro décadas para o controle da doença de Chagas em Virgem da Lapa, em especial na realização do presente trabalho, assim, destacamos:

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- CAPES, pelo apoio financeiro através do pagamento de bolsa.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz pelo apoio oferecido para a consecução das etapas do trabalho.

À população de Virgem da Lapa, guerreira em sua plenitude, que nessas quatro décadas de atividades esteve ativamente envolvida na construção das estratégias para o controle da doença de Chagas em toda sua dimensão.

Ao Prof. José Rodrigues Coura, criador do projeto Virgem da Lapa, incentivador daqueles que usam o conhecimento como instrumento de mudança da sociedade e pela acolhida no laboratório de Doenças Parasitárias.

Ao Dr. José Borges Pereira pela realização dos exames clínicos e eletrocardiográficos, como orientador por me apresentar ao princípio “de que pesquisar com ética é envolver a todos, pois todos somos determinantes dos agravos pesquisados”. Há 36 anos dedicando-se ao controle da doença de Chagas nessa região.

Ao Dr. Sérgio Salles Xavier pelas avaliações ecocardiográficas e eletrocardiográficas dos participantes, fundamentais no estudo do impacto do tratamento etiológico na cardiopatia. Ressaltemos seus 21 anos integrado ao projeto Virgem da Lapa, sempre com a responsabilidade médico-social para melhorar a qualidade de vida dessa população.

À **Dra. Andrea Silvestre de Sousa**, pelas sugestões fornecidas durante a revisão desse manuscrito. Ressaltemos seus 16 anos de participação no projeto Virgem da Lapa, doando tempo e conhecimento para o bem dessa população.

À **Dra. Semiramis Haddad, Rafael Melo Santos de Serpa Brandão e Amanda Miranda da Silva** pela realização da técnica da reação em cadeia da polimerase nas amostras de sangue.

À **Profa. Helena Keiko Toma e ao Prof. Alexandre Pyrrho**, pelo carinho e disponibilidade com que me aceitaram no estágio em docência no Fundão.

A **José Borges Pereira**, companheiro de vida, pelo incentivo em minha carreira acadêmica, por estar ao meu lado nessa jornada chamada vida e por ter compartilhado com o meu maior presente – nossa filha Luíza.... Te amo.

À **Luíza**, minha razão de viver – “Mainha te ama mais que tudo nessa vida”.

A **José de Souza Nogueira e Júlio César Miguel**, amigos pessoais e de trabalho, pelos ensinamentos laboratoriais, pela ajuda em todas as etapas da minha vida profissional e pelos agradáveis momentos de convivência nesses 23 anos no laboratório de Doenças Parasitárias.

A **Jorge Pinto da Silva**, grande colaborador, conduzindo-nos durante 15 horas até Virgem da Lapa, sempre com um sorriso no rosto e à disposição para ajudar no trabalho de campo e tratar com carinho e respeito a população.

À **Dra. Maria José Conceição**, pela amizade e por ter sempre uma palavra de incentivo e carinho.

À **minha irmã Luciana e meus sobrinhos Eduardo e Luís Felipe**, por me darem o privilégio de fazer parte da minha vida.

Às **amigas-irmãs Cristina Saraiva, Maria Celeste Dias Spata, Nédia Nehme, Verônica Marchon e Yeda Garcez**, pela amizade, cumplicidade, carinho e infinitas horas de conversas e alegrias.

Aos **amigos Danielle Misael, Karina Cabello e Maurício Nobre**, pela amizade, pelas boas conversas, risadas e desabafos nesses 4 anos de doutorado.

Ao **meu pai Paulo**, sempre com muito carinho e amor para dar.

Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Impacto da repetição do tratamento com benznidazol na resposta imune humoral, parasitemia e cardiopatia de pacientes portadores da doença de Chagas crônica de Virgem da Lapa, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais.

RESUMO

TESE DE DOUTORADO EM MEDICINA TROPICAL
PATRÍCIA LAGO ZAUZA

Com o objetivo de avaliar o impacto da repetição do tratamento com benznidazol na resposta imune humoral, parasitemia e cardiopatia em pacientes chagásicos crônicos, 129 pacientes de Virgem da Lapa-MG, com idade média de $52 \pm 7,5$ anos, 85 mulheres e 44 homens, foram avaliados no intervalo de 3,3 anos após um (grupo BZ1T=45), dois (BZ2T=47) e três (BZ3T =37) tratamentos com benznidazol, no esquema convencional. Todos foram avaliados pré e pós-tratamentos pelos testes sorológicos de imunofluorescência indireta (IFI) e ELISA recombinante; reação em cadeia da polimerase (PCR), eletrocardiograma e ecocardiograma. Os resultados mostraram queda significativa dos níveis de IgG anti-*T. cruzi* pelo teste de IFI e negatificação da parasitemia, não associadas aos grupos de tratamento. Não houve caso novo de cardiopatia, a progressão da cardiopatia ocorreu em 8,5% dos pacientes, significativamente maior no sexo masculino, não associada aos grupos de tratamento, com a incidência de extra-sístoles ventriculares, alteração primária da repolarização ventricular, desvio do eixo elétrico para a esquerda, hipocinesias e fração de ejeção < 45% e a regressão foi registrada entre os pacientes do grupo BZ1T pela deleção de extra-sístoles ventriculares. Diante desses resultados, conclui-se que a repetição do tratamento com benznidazol, no tempo do estudo, determinou a queda dos níveis de Ig G contra antígenos de superfície do *T. cruzi* e a negatificação da parasitemia, mas não determinou mudanças significativas na progressão da cardiopatia entre os pacientes chagásicos crônicos.

Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Impact of repetitive treatment with benznidazol in humoral immune response, parasitaemia and cardiopathy in chronic chagasic patients of Virgem da Lapa, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais.

ABSTRACT

PHD THESIS IN MEDICINA TROPICAL

PATRÍCIA LAGO ZAUZA

With the aim to evaluation the impact of repetitive treatment with benznidazol on humoral immune response, parasitaemia and cardiopathy in chronic chagasic patients, 129 patients with mean age of $52 \pm 7,5$ years, 85 females and 44 males, were evaluated an interval of 3,3 years after one (group BZ1T=45 patients), two (BZ2T= 47) and three (BZ3T=37) treatments with benznidazol in convencional scheme. All patients were evaluated, pre and post-treatments by serological tests of indirect immunofluorescence (IIF) and recombinant ELISA; polymerase chain reaction (PCR); electrocardiogram and echocardiogram. The results showed: significant decay of IgG anti-*T.cruzi* levels by IIF and parasitaemia's negativation, independently of groups of treatment; no new case of cardiopathy; cardiopathy's progression occurred in 8,5% of patients with incidence of ventricular extrasystoles, ventricular repolarization's disturbance, electric axis deviation, hypokinesis and ejection fraction $< 45\%$, significantly higher in men, independently of groups of treatment and regression occurred among BZ1T patients by ventricular extrasystoles deletion. This analysis revealed that repetition of treatment with benznidazol in a period of 3,3 years, determined decay of IgG anti-*T.cruzi* levels against surface antigens and parasitaemia's negativation but not determined significantly changes in cardiopathy's progression in chronic chagasic patients .

ÍNDICE

RESUMO	VIII
ABSTRACT	IX
1. INTRODUÇÃO	01
1.1. A doença de Chagas.....	01
1.1.1. Aspectos gerais.....	01
1.1.2. Áreas endêmicas: estudos e contribuições.....	06
1.1.2.1. Lassance-Minas Gerais	06
1.1.2.2. Bambuí-Minas Gerais.....	07
1.1.2.3. São Felipe-Bahia.....	08
1.1.2.4. Zona Sul do Rio Grande do Sul.....	08
1.1.2.5. Castro Alves-Bahia.....	09
1.1.2.6. Pains e Iguatama-Minas Gerais.....	10
1.1.2.7. Caatinga do Piauí.....	11
1.1.2.8. Mambaí-Goiás.....	13
1.1.2.9. Sertão da Paraíba.....	14
1.1.2.10. Berilo-Mina Gerais.....	15
1.1.2.11. Barcelos-Amazonas.....	16
1.1.2.12. Distrito Sanitário de Rio Verde - Mato Grosso do Sul.....	18
1.1.2.13. Jaguaruana-Ceará.....	20
1.1.2.14. Virgem da Lapa-Minas Gerais.....	21
1.1.3. Tratamento etiológico da doença de Chagas	27
1.1.4. Parasitemia na fase crônica.....	30
1.1.5. Resposta imune humoral na fase crônica.....	32
1.1.6. Evolução da cardiopatia chagásica crônica.....	33
1.2. Justificativas para o trabalho	34
1.2.1. Hipóteses.....	36
2. OBJETIVOS	37
2.1. Objetivo geral.....	37
2.2. Objetivos específicos	37

3. MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1. Área de estudo: 41 anos de pesquisas.....	38
3.2. Pacientes.....	44
3.3. Avaliação dos níveis séricos de Ig G anti- <i>Trypanosoma cruzi</i>	46
3.3.1. Imunofluorescência indireta (IFI).....	46
3.3.2. Ensaio imunoenzimático (ELISA).....	47
3.4. Avaliação da parasitemia.....	47
3.4.1. Reação em cadeia da polimerase (PCR).....	47
3.5. Avaliação da cardiopatia.....	48
3.6. Controle de efeitos colaterais ao tratamento.....	49
3.7. Análises estatísticas.....	50
3.8. Aspectos éticos.....	50
3.9. Critérios de inclusão.....	50
3.10. Critérios de exclusão.....	50
4. RESULTADOS.....	51
4.1. Pacientes	51
4.2. Avaliação dos níveis séricos de Ig G anti- <i>Trypanosoma cruzi</i>	55
4.2.1. Imunofluorescência Indireta (IFI).....	55
4.2.2. Ensaio Imunoenzimático – ELISA.....	58
4.3. Avaliação da parasitemia	62
4.3.1. Reação em cadeia da polimerase - PCR.....	62
4.4. Avaliação da cardiopatia	63
4.4.1. Manifestações clínicas cardiovasculares – MCCV.....	63
4.4.2. Avaliação eletrocardiográfica.....	66
4.4.3. Avaliação ecocardiográfica.....	69
4.4.4. Evolução da cardiopatia.....	74
4.5. Efeitos colaterais ao tratamento com benznidazol.....	76
4.5.1. Manifestações clínicas.....	76
4.5.2. Hemogramas	77
4.6. Comorbidades	79

5. DISCUSSAO.....	82
5.1. Impacto nos níveis de Ig G anti- <i>Trypanosoma cruzi</i>	83
5.2. Impacto na parasitemia	86
5.3. Impacto na cardiopatia.....	89
5.4. Efeitos colaterais.....	92
5.5. Comorbidades	93
6. CONCLUSÕES.....	96
7. DIFICULDADES, SUGESTÕES E PERSPECTIVAS	98
8. CONTRIBUIÇÕES.....	99
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
10. ANEXOS.....	127

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Localização da área de estudo	39
Figura 2.	Aspectos das habitações na Comunidade do Buriti -Zona Rural	39
Figura 3.	Aspectos das habitações da Comunidade de São João do Vacarias - Zona Rural.	40
Figura 4.	Aspectos das habitações do Programa Minha Casa Minha Viva na Comunidade de Cansação - Zona Rural.	40
Figura 5.	Aspectos das habitações no Bairro Bela Vista - Zona Urbana	41
Figura 6.	Aspectos das habitações no Centro ou “Baixinha” - Zona Urbana	41
Figura 7.	Paciente sorteando seu grupo de tratamento durante consulta médica	46
Figura 8.	Distribuição dos pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa-MG, tratados com benznidazol no período de 2013-2016, de acordo com a atividade laborativa	55
Figura 9.	IFI - distribuição dos inversos dos títulos de IgG anti- <i>T. cruzi</i> em soros da fase pré-tratamento com benznidazol de 129 pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa-MG	56
Figura 10.	IFI - distribuição dos inversos dos títulos de IgG anti- <i>T. cruzi</i> em soros da fase pós-tratamento com benznidazol de 129 pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa-MG	56
Figura 11.	IFI - evolução das médias dos inversos dos títulos de Ig G anti- <i>T. cruzi</i> em soros de 129 pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da, Lapa-MG, 2013-2016	57
Figura 12.	IFI - médias dos inversos dos títulos de Ig G anti- <i>T. cruzi</i> identificadas em soros de pacientes chagásicos crônicos, de acordo com os grupos de tratamento com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016	57
Figura 13.	ELISA - distribuição das densidades ópticas de Ig G anti- <i>T. cruzi</i> em soros da fase pré-tratamento com benznidazol de 129 pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa-MG	59

- Figura 14. ELISA - distribuição das densidades ópticas de Ig G anti-*T. cruzi* em soros da fase pós-tratamento com benznidazol de 129 pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa-MG 59
- Figura 15. ELISA - médias das densidades ópticas de Ig G anti-*T. cruzi* identificadas em soros obtidos pré e pós-tratamento de 129 pacientes chagásicos crônicos com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016 60
- Figura 16. ELISA -evolução das médias das densidades ópticas medidas em soros de pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016 60
- Figura 17. Gel de agarose demonstrando na primeira e terceira linha a qualidade do DNA por *Citocromo b* e as reações das mesmas amostras com os *primers* específicos para Chagas, na segunda e quarta linha. Neste gel, obtivemos resultados positivos para as amostras 28, 32 e 35 coletadas na fase pré-tratamento com benznidazol em 2013 62
- Figura 18. Percentagem de pacientes chagásicos crônicos com manifestações clínicas cardiovasculares (MCCV), de acordo com o grupo de tratamento com benznidazol. Virgem da Lapa, MG, 2013-2016 63
- Figura 19. Número de alterações eletrocardiográficas pré e pós-tratamento com benznidazol de pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa-MG, de acordo com os grupos de tratamento 67
- Figura 20. Número de alterações ecocardiográficas em pacientes chagásicos crônicos, de acordo com o grupo de tratamento com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016. 70
- Figura 21. Evolução do número de pacientes com manifestações clínicas cardiovasculares (MCCV), eletrocardiogramas alterados (ECG) e ecocardiogramas alterados (ECO) em 129 pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016 72

- Figura 22. Evolução das percentagens de pacientes com manifestações clínicas cardiovasculares (MCCV), eletrocardiogramas alterados (ECG) e ecocardiogramas alterados (ECO) nos grupos de pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016. 73
- Figura 23. Alterações nos hemogramas em 127 pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol que realizaram controle pós-tratamentos, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016 78
- Figura 24. Hemogramas alterados em pacientes chagásicos crônicos, de acordo com o número de tratamentos realizados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016. 79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Aspectos gerais dos municípios estudados na Zona Sul do RS	08
Tabela 2.	Aspectos gerais dos municípios estudados no Sertão da Paraíba	15
Tabela 3.	Aspectos gerais dos municípios estudados no DSRV-MS	20
Tabela 4.	Número de mulheres e homens em cada grupo de estudo	45
Tabela 5.	Estadiamento do comprometimento miocárdico na cardiopatia chagásica crônica	49
Tabela 6.	Histórico dos pacientes integrantes do estudo sobre o tratamento com benznidazol em Virgem da Lapa-MG, no período de 3.3 anos (2013-2016)	51
Tabela 7.	Distribuição dos grupos de pacientes portadores da doença de Chagas crônica submetidos ao tratamento com benznidazol, de acordo com as variáveis demográficas e sociais, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016	53
Tabela 8.	Distribuição dos pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa-MG, tratados com benznidazol no período de 2013-2016, de acordo com a comunidade rural de moradia	54
Tabela 9.	IFI - tipos de evolução sorológica de acordo com os títulos de Ig G anti- <i>T. cruzi</i> identificadas em soros de pacientes tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016	58
Tabela 10.	ELISA* - tipos de evolução sorológica das densidades ópticas de Ig G anti- <i>T. cruzi</i> identificadas em soros de pacientes tratados com benznidazol no período de 2013-2016, Virgem da Lapa-MG	61
Tabela 11.	Características dos pacientes com soronegativação no período 2013-2016, Virgem da Lapa-MG	61
Tabela 12.	Frequência das manifestações clínicas cardiovasculares (MCCV) nos grupos de pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016	65
Tabela 13.	Frequência das alterações eletrocardiográficas nos grupos de pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016	68

Tabela 14. Frequência das alterações ecocardiográficas nos grupos de pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016	71
Tabela 15. Achados do ECG e ECO de pacientes com evolução progressiva e regressiva, tratados com benznidazol, Virgem da Lapa, MG, 2013-2016	75
Tabela 16. Evolução da cardiopatia de acordo com o estágio inicial, grupo de tratamento e sexo dos pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa, MG, 2013-2016	76
Tabela 17. Reações adversas apresentadas pelos pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2103-2016	77
Tabela 18. Frequência de comorbidades nos grupos de pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016	80
Tabela 19. Medicamentos mais usados pelos pacientes tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016	81

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. Lista de Pacientes.....	127
ANEXO 2. Ficha Clínica	133
ANEXO 3. Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos (CEP)	137
ANEXO 4. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	142

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- AA – Aneurisma Apical
- AC - Acinesia
- APRV – Alteração primária da repolarização ventricular
- BAV II – Bloqueio aurículo-ventricular grau II
- BAV III - Bloqueio aurículo-ventricular grau III
- BENEFIT – Benznidazol Evaluation for Interrupting Trypanosomiasis
- BHC – Hexacloro-ciclo-hexano
- BRD III – Bloqueio completo do ramo direito
- BRE III – Bloqueio de ramo esquerdo grau III
- BS – Bradicardia sinusal
- BZ1T – Um tratamento com benznidazol
- BZ2T – Dois tratamentos com benznidazol
- BZ3T – Três tratamentos com benznidazol
- CBDC – Consenso Brasileiro em Doença de Chagas
- CCC – Cardiopatia chagásica crônica
- CEP – Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos
- CNPq- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- CODEVALE - Coordenação de Desenvolvimento do Vale do Jequitinhonha
- CRA - Cytoplasmic Repetitive Antigen
- DEE – Desvio do eixo elétrico
- DENERu - Departamento Nacional de Endemias Rurais
- DNA - Ácido desoxirribonucleico
- DO – Densidade óptica
- DSRV - Distrito Sanitário de Rio Verde
- ECG – Eletrocardiograma
- ECO – Ecocardiograma
- ELISA - Ensaio Imunoenzimático
- EVf – Extra-sístole ventricular frequente
- EVi – Extra-sístole ventricular isolada
- FA – Fibrilação atrial

- FC - Fixação do complemento
- FE – Fração de ejeção
- FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz
- FRA - Flagellar Repetitive Antigen
- HAI - Hemaglutinação Indireta
- HBAE – Hemibloqueio anterior esquerdo
- HC - Hemocultura
- HIP – Hipocinesia
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- ICC – Insuficiência cardíaca congestiva
- IDHM – Índice de Desenvolvimento Humano do Município
- IFI - Imunofluorescência Indireta
- IFN γ - Interferon gama
- Ig G - Imunoglobulina G
- Ig M - Imunoglobulina M
- Il - Interleucinas
- IOC - Instituto Oswaldo Cruz
- IR – Índice de reatividade
- LAFEPE - Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco Governador Miguel Arraes
- LD – Função ventricular levemente deprimida
- LIB - Laboratório de Imunogenética e Biologia Molecular
- MCCV – Manifestações clínicas cardiovasculares
- MD – Função ventricular moderadamente deprimida
- MLEE – Multilocus Enzyme Electrophoresis
- NH $_2$ – Grupo Amino
- NK - Natural Killers
- NO $_2$ – Grupo Nitro
- NYHA – New York Heart Association
- OPAS - Organização Panamericana de Saúde
- PCR - Reação em cadeia da polimerase

- PIDE - Programa integrado de Doenças Endêmicas
- PNUD - Plano das Nações Unidas para o desenvolvimento
- QBC – Quantitative Buffy Coat
- RAPD – Randomly Amplified Polymorphic DNA
- SD – Função ventricular severamente deprimida
- SESAPI - Secretaria de Estado de Saúde do Piauí
- SUCAM - Superintendência de Campanhas
- SVE – Sobrecarga ventricular esquerda
- T – Tratamento
- *T. cruzi* - *Trypanosoma cruzi*
- TESA Blot – Immunoblotting with Trypomastigote Excreted-Secreted Antigens of *T. cruzi*
- VE – Ventrículo esquerdo
- XD – Xenodiagnóstico
- Z1 – Zimodema 1

1. INTRODUÇÃO

1.1. A DOENÇA DE CHAGAS

1.1.1. Aspectos gerais. A tripanossomíase americana foi descrita por Carlos Chagas em 1909, em Lassance, no nordeste de Minas Gerais. Sabe-se hoje que acomete mais de uma centena de espécies de mamíferos: marsupiais, roedores, carnívoros, edentados ou *Xenarthra* (tatus), *Lagomorpha* (coelhos e lebres), morcegos e primatas, podendo infectar mais de 130 espécies de triatomíneos do sul dos Estados Unidos ao sul da Argentina e Chile. Como anunciou Carlos Chagas, que descobriu além da doença, seu agente etiológico, vetores e reservatórios, fato único na literatura mundial, “*onde há vetores existe a doença*”, que se distribuiu como endemia em toda a América Latina (Chagas 1909, 1911).

A história natural da instalação da enfermidade de Chagas teve início como uma enzootia de animais silvestres, o que ainda ocorre em regiões como a amazônica. Quando o homem adentrou os ecótopos naturais da infecção, ela passou a ser transmitida acidentalmente para o homem como uma antropozoonose. Em decorrência do desmatamento para a agricultura e pecuária extensiva nos últimos 200 a 300 anos na América Latina, os triatomíneos, afastados dos animais silvestres, passaram a colonizar o peridomicílio e o domicílio humano, adaptando-se a esse novo nicho, inclusive à alimentação com o sangue humano e de animais domésticos.

O *Trypanosoma cruzi*, os triatomíneos e seus reservatórios existem na natureza há milhões de anos. São conhecidos desde o século XVI, porém sua adaptação ao domicílio é mais recente. Embora se conheça a infecção humana em múmias de 9.000 anos (Aufderheide et al 2004; Araújo et al 2009), a endemia chagásica humana se instalou nos últimos dois a três séculos. Com a iniciativa do Cone Sul, a partir de 1991, para o controle do *Triatoma infestans* e da transmissão nos bancos de sangue na Argentina, Brasil, Chile, Uruguai e Paraguai, houve uma acentuada redução da transmissão da infecção principalmente no Brasil, Chile e Uruguai, onde o *Triatoma infestans* e a transmissão por transfusão sanguínea foram consideradas controladas, porém há países como Bolívia e México nos quais o controle necessita de estratégias intensas e contínuas (Schofield & Dias 1991; Silveira 2000). Atualmente estima-se que 10 milhões de pessoas estejam cronicamente infectadas pelo *Trypanosoma cruzi* na América Latina, 12.000 morrem ao ano devido à doença e 25 milhões estão expostos ao risco de contrair a infecção (Sguassero et al 2015).

A doença de Chagas é causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastidae, Tripanosomatidae) que é transmitido principalmente por insetos vetores chamados triatomíneos (Hemiptera, Heteroptera, Reduviidae, Triatominae), principalmene dos gêneros *Rhodnius*, *Panstrongylus* e *Triatoma*. Pode ser ainda transmitido por via oral através de alimentos contaminados com dejeções desses insetos ou com o próprio inseto; por transfusão sanguínea; por transmissão congênita; por transplante de órgão; por acidentes de laboratório e compartilhamento de seringas entre usuários de drogas (Sguassero et al 2015).

O *Trypanosoma cruzi* apresenta dois ciclos evolutivos, um no invertebrado (triatomíneo) e outro no vertebrado (hospedeiro) (Chagas 1909). No vertebrado, o parasito (tripomastigota metacíclico) ao penetrar na pele ou nas mucosas produz reações inflamatórias denominadas “chagomas de inoculação”, quando na mucosa ocular é denominado “sinal de Romaña” (conjuntivite, edema palpebral unilateral e adenopatia satélite) (Romaña 1935). Nas células do hospedeiro, os tripomastigotas se diferenciam em amastigotas as quais se multiplicam por divisão binária, de 12 em 12 horas, podendo alcançar 50 a 500 parasitos por célula, que progressivamente se diferenciam em tripomastigotas, rompem a célula, invadem a corrente sanguínea e linfática e vão se localizar em novas células-alvo de acordo com seus receptores e tropismo tissular (Andrade & Magalhães 1997). A partir do 30º dia, a parasitemia se reduz progressivamente pela ação do sistema imune do hospedeiro, até 60 ou no máximo 90 dias, quando o paciente entra na fase crônica da doença, durante a qual continua o processo, com baixa parasitemia, reação inflamatória crônica, cicatrização, fibrose dos tecidos comprometidos e destruição neuronal do sistema cardíaco e mioentérico, por duplo mecanismo: ação direta dos parasitos nas fases aguda e crônica e por mecanismo autoimune na fase crônica mediado por linfócitos CD4⁺ e CD8⁺ e interleucinas, principalmente IL-2, IL-4 e IFN γ , em um complexo processo de interação (Cunha-Neto et al 2009).

A doença apresenta-se com duas fases clínicas bem distintas: a fase aguda ou inicial, que se caracteriza pelo encontro do *Trypanosoma cruzi* no sangue periférico por exames diretos ou por métodos de concentração, e a fase crônica quando a circulação de parasitos no sangue periférico reduz-se conduzindo o diagnóstico para a aplicação de métodos indiretos como o xenodiagnóstico, a hemocultura e a reação em cadeia da polimerase (PCR). Clinicamente, na fase aguda, ocorre em menor frequência, a forma aparente caracterizada por manifestações como febre, linfadenopatia generalizada,

hepatoesplenomegalia, miocardite e meningoencefalite podendo chegar ao óbito em até 10% das pessoas acometidas, principalmente em crianças e jovens. Nas áreas endêmicas nas quais a transmissão vetorial predomina, ocorre em maior percentual a forma inaparente, caracterizada pela ausência de manifestações clínicas como demonstrado por Teixeira (1977), em sua dissertação de mestrado.

Na fase crônica, a forma clínica indeterminada tem sido identificada em 40% a 90% dos chagásicos dependendo da área geográfica e populações estudadas (Borges-Pereira 1983; Coura et al 1984; Borges-Pereira et al 1985; Borges-Pereira & Coura 1987; Brum-Soares et al 2010). A forma clínica indeterminada, com definição ratificada por expertos na I Reunião de Pesquisa Aplicada sobre a Doença de Chagas em Araxá-MG (1985), se caracteriza pela ausência de sinais e sintomas, eletrocardiograma sem alterações, exame radiológico do coração, esôfago e cólons anatômica e fisiologicamente normais, reações sorológicas positivas para a infecção chagásica, podendo apresentar xenodiagnóstico, hemocultura e PCR positivos repetidamente durante anos mostrando um verdadeiro equilíbrio entre o parasito e o hospedeiro (Borges-Pereira 1997). A forma cardíaca crônica é a mais expressiva manifestação clínica da doença de Chagas, principalmente pela sua gravidade capaz de desestabilizar o paciente e causar-lhe a morte. Ela é identificada, principalmente, entre a 2^a e a 4^a década da vida, após 5 a 15 anos da infecção inicial. Os sinais e sintomas da cardiopatia chagásica crônica estão associados às arritmias, à insuficiência cardíaca, aos bloqueios dos feixes de His-Purkinje e aurículo-ventriculares e aos fenômenos tromboembólicos (Laranja et al 1956; Prata 1959; Kloetzel & Dias 1968; Dias & Kloetzel 1968; Borges-Pereira 1983; Coura et al 1985; Sousa et al 2008). Na forma digestiva crônica da doença as manifestações clínicas decorrem da disperistalse do esôfago e do cólon, devido à destruição dos plexos mioentéricos, levando conseqüentemente ao megaesôfago e megacólon. As manifestações clínicas mais frequentes no megaesôfago são dificuldades à deglutição (disfagia) principalmente de alimentos secos ou pegajosos (farinha, arroz) e dor à deglutição (odinofagia) (Rezende et al 1960). No megacólon o paciente pode apresentar constipação de uma a quatro semanas e às vezes até mais (Rezende 1979), com a formação de fecalomas, exigindo intervenções médicas de urgências.

O diagnóstico da doença de Chagas deve ser feito por evidências epidemiológicas, clínicas e exames laboratoriais. É de fundamental importância a história clínica e patológica progressiva do indivíduo ressaltando-se a origem, contato com os triatomíneos, migração e atividade laborativa. O exame clínico deve focalizar os

aparelhos cardiovascular e digestivo. Os exames complementares básicos são eletrocardiograma de repouso, radiografia de tórax em pósterio-anterior e perfil com esôfago contrastado (Rezende et al 1960) e radiografia do cólon contrastado (enema opaco) (Rezende 1979). O exame complementar de maior eficácia depois do eletrocardiograma é o ecocardiograma, que avalia as condições anatômicas e funcionais do coração, fundamentais na indicação de tratamento e prognóstico (Xavier 1999; Xavier et al 2005, 2006; Sousa et al 2008). O diagnóstico laboratorial da doença de Chagas na fase crônica pode ser realizado através de técnicas sorológicas, parasitológicas e bioquímico-moleculares. Os principais testes sorológicos utilizados são a imunofluorescência indireta (IFI), a hemaglutinação indireta (HAI) e ensaio imunoenzimático do tipo ELISA. O diagnóstico parasitológico pode ser feito pelo xenodiagnóstico (XD), pela hemocultura (HC) e pela reação em cadeia da polimerase (PCR).

O tratamento etiológico visa à cura parasitológica da infecção chagásica e evitar a evolução para as formas graves da doença. Mais de uma centena de medicamentos foram testados durante cinquenta anos (1912 a 1962), sem resultados efetivos. Em 1961 foi verificado o efeito curativo de nitrofuranos na infecção experimental de camundongos pelo *Trypanosoma cruzi* e a partir de 1962 iniciaram-se as experiências com essas drogas em seres humanos. Posteriormente alguns nitroimidazólicos mostraram-se com atividade na infecção experimental pelo *Trypanosoma cruzi*. Duas drogas mostraram-se ativas e são empregadas no tratamento específico da doença de Chagas atualmente: o nifurtimox (Lampit®) a partir de 1969 e o benznidazol (Rochagan®) a partir de 1976 (Cançado 1985, 1997). O nifurtimox foi retirado do mercado farmacêutico do Brasil, mas continua a ser usado em outros países da América Latina como Argentina, Bolívia e México. De acordo com o Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (2005) e o II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (2015), o benznidazol ou nifurtimox estão indicados para o tratamento dos casos agudos da infecção chagásica por qualquer forma de transmissão, nas reativações da infecção crônica por imunossupressão, nos casos crônicos recentes em crianças menores de 12 anos de idade ou adultos infectados a menos de 10 anos e casos na forma crônica indeterminada ou sintomáticos leves visando evitar a evolução da doença. No caso de acidentes de laboratório, o acidentado deve ser imediatamente tratado com benznidazol ou nifurtimox durante 10 dias, colhendo uma amostra de soro antes do tratamento e

outra, 30 dias após, para controle sorológico. Os efeitos colaterais mais frequentes durante o tratamento com benznidazol são:

a) dermatite de hipersensibilidade tipo doença-do-soro, caracterizada por erupção cutânea, ocasionalmente acompanhada de edema generalizado, enfartamento ganglionar, dores articulares e musculares. Os casos mais leves podem ser contornados com o uso de anti-histamínicos e corticosteróides por curtos períodos (2 a 3 dias) e nos casos mais graves tendentes à síndrome de Stevens-Johnson o tratamento deve ser suspenso imediatamente; b) depressão da medula óssea, com neutropenia, agranulocitose e púrpura trombocitopênica; nos casos com tendência a agranulocitose e púrpura o medicamento deve ser suspenso e iniciado corticosteróide por curto período; c) polineuropatia periférica, manifestação relativamente comum, que pode ser contornada com analgésicos não salicílicos e anti-histamínicos. A droga é bem tolerada em crianças e jovens e as reações colaterais mencionadas são mais frequentes em adultos (Cançado 1997, 1998, 1999).

A evolução e o prognóstico da doença de Chagas dependem da forma clínica e das complicações durante o seu curso. Na fase aguda depende da idade do paciente, da intensidade e da localização das lesões. Em geral a fase aguda é muito grave em crianças menores de dois anos de idade, sendo quase sempre fatal naquelas com miocardite, insuficiência cardíaca e meningoencefalite. O prognóstico pode ser também muito grave na forma congênita levando, além do aborto e da prematuridade, há lesões no fígado, baço, coração e sistema nervoso central, com sequelas neurológicas e deficiência mental (Prata 1959). Muitos casos podem permanecer na forma indeterminada por toda a vida. Na forma cardíaca crônica o prognóstico varia consideravelmente de caso a caso. Pacientes com lesões mínimas, como bloqueio de ramo direito isolado, extra-sístoles auriculares ou ventriculares unifocais, tendem a ficar estáveis e, a maioria, sobrevive durante um longo tempo, vindo a falecer muitas vezes de outras causas (Borges-Pereira 1997). Pacientes com arritmias complexas, extra-sístoles multifocais, taquicardia paroxística, fibrilação auricular, bloqueio aurículo-ventricular de 3º grau e insuficiência cardíaca, têm um prognóstico muito grave (Laranja et al 1956; Kloetzel & Dias 1968; Dias & Kloetzel 1968). Um terceiro grupo de pacientes com discreto aumento da área cardíaca, mutabilidade eletrocardiográfica e com manifestações clínicas do tipo palpitações e dor precordial sem esforço têm um prognóstico incerto (Coura & Borges-Pereira 1984; Dias 1998).

Estudos de campo realizados em áreas do estado de Minas Gerais mostraram a

mortalidade por cardiopatia chagásica aumentando progressivamente dos 30 a 59 anos de idade; a morte súbita ocorreu em dois terços dos casos e o terço restante faleceu de insuficiência cardíaca. O prognóstico da forma digestiva e indeterminada é em geral bom, exceto naqueles casos de forma digestiva com complicações (câncer de esôfago, obstrução com torção e necrose dos cólons). Nenhum caso da forma digestiva ou da forma indeterminada observado durante 6 e 10 anos evoluiu para o óbito (Abreu 1977; Borges-Pereira et al 1985; Coura et al 1985).

1.1.2. Áreas endêmicas: estudos e contribuições:

Decidimos avaliar e ressaltar os estudos realizados em áreas endêmias do Brasil, abordando a prevalência da infecção, morbidade cardio-digestiva, mortalidade, parasitemia, resposta imune humoral e tratamento específico da doença de Chagas crônica, nos quais os pesquisadores aliaram-se às populações para modificar os determinantes da doença. Seguindo Carlos Chagas, esses pesquisadores ampliaram o conhecimento e produziram impacto sobre a cadeia epidemiológica, produzindo reduções significativas nos índices de prevalências, morbidade, mortalidade, melhorando as condições de vida das populações dessas áreas. O caráter longitudinal desses estudos é um fator propulsor dessa interação pesquisador-população, resultando em consciência e parceria no engajamento para o controle da doença de Chagas.

1.1.2.1. Lassance-Minas Gerais – município situado na região norte do Estado de Minas Gerais, na microrregião de Pirapora, a 280 Km da capital Belo Horizonte, com uma população estimada em 6.500 habitantes (IBGE 2010), índice de desenvolvimento humano municipal (IDHM) de 0,629 – médio (PNUD – Plano das Nações Unidas para o Desenvolvimento 2010) e soroprevalência da infecção chagásica de 37,1% da população rural investigada durante o inquérito sorológico nacional realizado de 1975-1980 (Camargo et al 1984). A “Nova Tripanozomíase humana” descoberta em Lassance, Minas Gerais, por Carlos Chagas (1909) apresentou-se associada a péssimas condições de moradia da população, elevadas taxas de analfabetismo e de pobreza. Durante seus estudos, Chagas (1910, 1911, 1918) e Chagas & Villela (1922) descreveram o agente etiológico, sua morfologia, ciclos evolutivos em vertebrados e invertebrados, susceptibilidade em animais de laboratório e os aspectos clínicos e anatomopatológicos, principalmente da forma cardíaca. Chamaram a atenção para a possibilidade do controle da transmissão vetorial da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* ao modificar os determinantes sociais na direção da melhoria habitacional e educacional, produzindo impacto na qualidade de vida das populações. Não

identificamos ações de tratamento específico em grupo populacional dessa área, provavelmente porque não havia na época substância ativa contra o *Trypanosoma cruzi*.

1.1.2.2. Bambuí-Minas Gerais – município situado na região Oeste do Estado de Minas Gerais, microrregião de Piumhi, próximo à [Serra da Canastra](#), onde nasce o [Rio São Francisco](#), a 270 km da capital Belo Horizonte, com população estimada de 23.000 habitantes (IBGE 2010), IDHM de 0,788 – alto (PNUD 2010) e soroprevalência da infecção chagásica de 35,6% da população rural investigada durante o inquérito sorológico nacional realizado de 1975-1980 (Camargo et al 1984). No caminho da descoberta e dos achados de Carlos Chagas, pesquisadores, especialmente do Instituto Oswaldo Cruz, a partir de 1943, instalaram um centro avançado de pesquisas clínico-epidemiológicas em Bambuí, a partir do qual se tem construído um dos maiores acervos de informações ao entendimento da história natural da doença de Chagas no Brasil, configurados por dezenas de trabalhos; entre os quais destacamos os de Lasmar (1944) e Dias (1946) relatando centenas de casos agudos e ressaltando a meningoencefalite e insuficiência cardíaca como principais causas de morte nessa fase clínica; Dias (1945) anuncia plano de controle da doença combatendo os vetores com inseticida, induzindo a melhoria das habitações e promovendo educação sanitária; Laranja et al (1948) confirmando o bloqueio de ramo direito (BRD III) identificado através do eletrocardiograma (ECG) como a principal alteração da miocardiopatia chagásica crônica; Laranja (1953) definindo o mau prognóstico de pacientes portadores de cardiomegalia, BRD III com hemibloqueio anterior esquerdo (HBAE) associado a extra-sístolia ventricular, bloqueio aurículo-ventricular completo (BAV III) e insuficiência cardíaca congestiva (ICC); Laranja et al (1956) confirmando o mau prognóstico das alterações citadas acima e ressaltando o peso social da infecção em função da morbidade e mortalidade em crianças na fase aguda e adultos jovens na fase crônica e Dias (1982) que em estudo evolutivo da doença no intervalo de 40 anos, a partir da fase aguda, observou significativa correlação entre a gravidade do quadro clínico da cardiopatia e megas digestivos na fase crônica e a gravidade do quadro clínico na fase aguda, ressaltando também a persistência da forma indeterminada em cerca de 40% dos pacientes nesse período de estudo. Dias et al (1983) ressaltam a ocorrência de megasôfago atribuído a tripanossomíase em cerca de 7 % da população chagásica adulta do município, mais acentuada em homens. Não encontramos publicações sobre o tratamento específico realizado em grupos populacionais dessa área.

1.1.2.3. São Felipe-Bahia – município localizado na microrregião de Santo Antônio de Jesus, a 178 km da capital Salvador, com cerca de 20.000 habitantes (IBGE 2010), IDHM de 0,616 – médio (PNUD 2010) e soroprevalência da infecção chagásica de 13% da população rural investigada durante o inquérito sorológico nacional realizado de 1975-1980 (Camargo et al 1984). São Felipe se destaca pelos estudos longitudinais de Macedo (1976) que no intervalo de cinco anos identificou maior gravidade do quadro clínico da doença entre os moradores expostos a reinfecção. Enquanto Teixeira (1977) mostrou que em uma área com o risco de infecção vetorial a ocorrência da forma aguda inaparente (sem manifestação clínica) da doença era duas vezes maior do que da forma aguda aparente (com manifestação clínica). Batista et al (1980) ao entrevistarem 227 mulheres chagásicas e não chagásicas da área concluíram que havia uma associação significativa entre a doença de Chagas, abortamento e prematuridade. Antes do tratamento específico da doença de Chagas, Macedo (1980) promoveu um estudo evolutivo de 10 anos com 400 pacientes na forma indeterminada, observando progressão para as formas determinadas em 24% dos pacientes, sendo 22,8% para a cardíaca e 1,2% para a forma digestiva. Sobre o tratamento específico da doença de Chagas na população dessa área encontramos as publicações de Macedo et al (1985) e Macedo & Silveira (1987) as quais apresentam resultados indicando a não influência do tratamento específico da infecção chagásica na prevalência de pacientes que evoluíram da forma indeterminada para as formas cardíaca e digestiva no período de 5 anos.

1.1.2.4. Zona Sul do Rio Grande do Sul – representada pelos municípios de Canguçu, Pedro Osório, Pinheiro Machado e Piratini, todos localizados na mesorregião do Sudeste rio-grandense (Tabela 1).

Tabela 1. Aspectos gerais dos municípios estudados na Zona Sul do RS

<i>Município da Zona Sul do RS</i>	<i>Microrregião</i>	<i>População estimada*</i>	<i>Distância da capital**</i>	<i>IDHM / PNUD 2010</i>	<i>Soroprevalência 1975-1980***</i>
<i>Canguçu</i>	<i>Pelotas</i>	<i>53.000 hab</i>	<i>274 km</i>	<i>0,743 – alto</i>	<i>39,5%</i>
<i>Pedro Osório</i>	<i>Pelotas</i>	<i>8.000 hab</i>	<i>357 km</i>	<i>0,769 – alto</i>	<i>10,6%</i>
<i>Pinheiro Machado</i>	<i>Serras de sudeste</i>	<i>13.000 hab</i>	<i>370 km</i>	<i>0,752 – alto</i>	<i>54,9%</i>
<i>Piratini</i>	<i>Serras de sudeste</i>	<i>21.000 hab</i>	<i>347 km</i>	<i>0,756 – alto</i>	<i>21,6%</i>

* IBGE 2010, ** Porto Alegre, *** Camargo et al 1984.

Nessa região foram desenvolvidos estudos seccionais e longitudinais que inicialmente evidenciaram prevalência da infecção humana acima de 20%, com maior

incidência entre os homens (Baruffa & Alcântara 1974); sinal de Romaña e presença de *Trypanosoma cruzi* ao exame direto do sangue em 17 adultos e jovens avaliados na fase aguda com importante e precoce comprometimento cardíaco (Baruffa 1977); mostraram que a participação do componente etiológico exclusivamente chagásico na prevalência da cardiopatia crônica entre os chagásicos era significativamente maior do que a participação das demais etiologias (Baruffa et al 1983); no período de 10 anos de evolução observaram progressão da cardiopatia significativamente maior entre os chagásicos crônicos do que entre os controles não-chagásicos (Baruffa et al 1985) e trouxeram os resultados de um estudo seccional do tipo grupo controle pareado por idade e procedência no qual a prevalência de alterações eletrocardiográficas foi significativamente maior entre os pretos, tanto soropositivos quanto soronegativos. As alterações eletrocardiográficas consideradas sugestivas de miocardiopatia chagásica predominaram significativamente entre os positivos pretos. E mesmo entre os pretos negativos as alterações foram mais numerosas e de maior gravidade com respeito aos negativos brancos. Na opinião dos autores a maior prevalência e severidade das alterações eletrocardiográficas entre os pretos, podem ser atribuídos a vários fatores entre os quais se destacariam: a pobreza e marginalidade das pessoas de cor que implicam trabalhos mais pesados; habitações com maior risco de infestação triatomínica; alimentação mais pobre quantitativa e qualitativamente. Outro fator negativo seriam os valores mais elevados de pressão arterial encontrados entre os pretos que, associados a possíveis influências de ordem racial, podem contribuir e/ou criar condições de patologia miocárdica” (Baruffa et al 1987). Não encontramos publicações sobre o tratamento específico em grupos populacionais dessa área.

1.1.2.5. Castro Alves-Bahia – município localizado no Recôncavo baiano, na microrregião de Santo Antônio de Jesus, a 191 km da capital Salvador, com população estimada em 27.000 habitantes (IBGE 2010), IDHM de 0,613 – médio (PNUD 2010) e soroprevalência da infecção chagásica de 18,5% da população rural investigada durante o inquérito sorológico nacional realizado de 1975-1980 (Camargo et al 1984). Em 1938, em nota prévia, Azevedo anunciou o primeiro caso de doença de Chagas aguda diagnosticado no município. Mas somente a partir de 1973, dez fazendas foram avaliadas através de estudos como os de Mott et al (1976) revelando uma prevalência da infecção chagásica em 44% dos 879 indivíduos examinados através dos testes de fixação do complemento (FC) e imunofluorescência indireta (IFI), sem diferença em relação ao sexo. Hoff et al (1979) em estudo da soroprevalência através de fixação do

complemento e imunofluorescência indireta e da parasitemia por hemocultura e xenodiagnóstico na Fazenda Sapé, encontraram 39 (33,7%) indivíduos soropositivos em 116 examinados e 23 (19,8%) com parasitemia positiva, destacando-se que dos 23 com parasitemia positiva apenas um apresentou-se soronegativo para ambas as técnicas. Maguire et al (1982) reexaminaram 106 indivíduos da Fazenda Sapé três anos depois e identificaram a progressão da cardiopatia chagásica com maior percentual de alterações eletrocardiográficas entre os soropositivos (13,2%) comparado com os soronegativos. Maguire et al (1983) estudaram a prevalência de alterações eletrocardiográficas entre os chagásicos e não chagásicos das 10 Fazendas estudadas por Hoff et al (1979) e encontraram 20,2% de ECG alterados entre os chagásicos contra 6% entre os não chagásicos, destacando a prevalência de ECG alterados entre os chagásicos de 25 a 44 anos, 9,6 vezes maior do que entre os soronegativos dessa faixa etária e significativamente maior entre os homens.

A presença de megaesôfago nessa área foi inicialmente relatada por Bittencourt et al (1984) em criança de 5 meses de idade com positividade sorológica para Ig M e presença de *Trypanosoma cruzi* no sangue, identificado por exame direto. Em seguida, Mota et al (1984) encontraram megaesôfago 3,6 vezes mais frequente entre chagásicos do que entre os não chagásicos com idade média de 51 anos e elevada associação de megaesôfago e cardiopatia em 47,7% dos pacientes com disfagia. Mota (1989) em estudo longitudinal de nove anos encontrou indicações de que indivíduos chagásicos com ECG normal ou levemente alterados apresentam baixo risco de morte em comparação com indivíduos com ECG gravemente alterado. Até o momento, não encontramos publicações sobre o tratamento específico da infecção chagásica nessa área.

1.1.2.6. Pains e Iguatama-Minas Gerais – ambos os municípios integram a região Oeste de Minas Gerais, sendo que Pains integra a microrregião de Formiga, situado a 217 km da capital Belo Horizonte, com uma população estimada em 8.000 habitantes (IBGE 2010), IDHM de 0,783 - alto (PNUD 2010) e soroprevalência da infecção chagásica de 9,8% da população rural investigada durante o inquérito sorológico nacional realizado de 1975-1980 (Camargo et al 1984), enquanto Iguatama integra a microrregião de Piumhi, situado a 258 km de Belo Horizonte, com uma população estimada em 8.000 habitantes (IBGE 2010), IDHM de 0,786 - alto (PNUD 2010) e soroprevalência da infecção chagásica de 36,6% da população rural investigada durante o inquérito sorológico nacional realizado de 1975-1980 (Camargo et al 1984).

Essas áreas, próximas de Bambuí, em 1974 foram consideradas com transmissão vetorial interrompida há mais de 5 anos quando ocorreu a instalação das atividades do projeto apresentado por Coura (1973) para o estudo seccional e longitudinal sobre a doença de Chagas, com financiamento do Programa Integrado de Doenças Endêmicas (PIDE - CNPq). Os estudos foram iniciados em 1974 por Abreu (1977) que apresentou resultados nos quais a mortalidade na população de Pains era cinco vezes maior do que a mortalidade na população do município de Cordeiro no Rio de Janeiro, área não endêmica para doença de Chagas, principalmente quando atribuída à cardiopatia; em seguida Coura et al (1984) observaram um gradiente em torno de 20% a mais de cardiopatia entre os pacientes soropositivos em comparação com os soronegativos pareados por idade e sexo de Pains e Iguatama, identificando-as como áreas de elevada morbidade cardíaca. Schlemper Jr (1982) em estudo experimental sobre a virulência de amostras de *Trypanosoma cruzi* isoladas de pacientes crônicos dessas áreas não observou correlação entre as formas clínicas e a virulência das amostras, ressaltando o encontro de uma amostra resistente ao benznidazol e nifurtimox; Coura et al (1985) em estudo evolutivo de 10 anos em uma coorte de 264 pares, por idade e sexo, de chagásicos e não-chagásicos observaram evolução progressiva da cardiopatia chagásica em 38,5% dos pacientes, inalterada em 57,3% e normalização do ECG em 8,2%; mortalidade em 23%, letalidade de 17% e nenhum óbito entre os 130 casos inicialmente na forma indeterminada. Coura et al (1991) aplicaram três xenodiagnósticos (XD) por paciente crônico a intervalos de 30 dias, de ambos os municípios e identificaram 50,7% de exames positivos, indicando elevado nível de parasitemia nessa região. Houve um ensaio terapêutico específico para a doença de Chagas na área, no qual Coura et al (1997) evidenciaram efeito supressivo do nifurtimox e benznidazol sobre a parasitemia em pacientes na fase crônica da doença tratados durante 30 dias, sem, no entanto, atribuir-lhes poder de cura três meses depois do uso da medicação. Devera et al (2002) em estudo sobre o comportamento biológico de isolados de *Trypanosoma cruzi* em camundongos não encontraram relação entre o biodema da cepa de *Trypanosoma cruzi* (Andrade & Magalhaes 1997) e a gravidade da doença em pacientes, confirmando os achados de Schlemper Jr (1982).

1.1.2.7. Caatinga do Piauí – foi representada inicialmente pelo município de Oeiras, primeira capital do Piauí, localizada na microrregião de Picos, a 313 km da atual capital Teresina, com uma população estimada em 36 mil habitantes (IBGE 2010), IDHM de 0,625 – médio (PNUD 2010) e soroprevalência da infecção chagásica de

7,7% da população rural investigada durante o inquérito sorológico nacional realizado de 1975-1980 (Camargo et al 1984). No projeto de Coura (1973), Oeiras foi definida como área de estudo sobre a doença de Chagas envolvendo as localidades de Colônia e Oitis. Inicialmente, Figueiredo et al (1975) anunciaram os três primeiros casos autóctones de doença de Chagas no estado do Piauí sendo um caso crônico com megaloesôfago. Em seguida Correia-Lima (1976), em dissertação de mestrado, mostrou prevalência da infecção de 7,8%, predominando entre as mulheres, soropositividade em crianças menores de 5 anos indicando transmissão ativa, 12% dos domicílios infestados por *Triatoma brasiliensis*, sendo 5% infectados pelo *Trypanosoma cruzi*, 23,5% de cardiopatia de etiologia exclusivamente chagásica e 9% de megaloesôfago em chagásicos crônicos. Junqueira et al (1996) empregando a técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) em pacientes crônicos não submetidos ao tratamento específico, detectaram DNA de *Trypanosoma cruzi* no sangue de 59,4% dos soropositivos. Considerando os resultados clínico-epidemiológicos que mostravam diferenças regionais na morbidade entre chagásicos da Caatinga do Piauí e do Sertão da Paraíba, Castro (1997) isolou por xenodiagnósticos amostras de *Trypanosoma cruzi* de 10 pacientes de cada área, pareados por idade, sexo e forma clínica e avaliou as características biológicas, bioquímicas e moleculares, concluindo que a maioria das amostras era de baixa virulência, com elevado grau de semelhança entre si, sem diferenças capazes de separá-las geograficamente pelas análises bioquímica e molecular. Ampliando a área de estudo na Caatinga do Piauí, Borges-Pereira et al (2002) realizaram estudos sobre a soroprevalência e morbidade cardiológica na região da Serra da Capivara nos municípios de João Costa e São João do Piauí, ambos localizados na microrregião do Alto Médio Canindé, a cerca de 510 km de Teresina com populações estimadas em 2.900 e 22.500 habitantes (IBGE 2010), IDHMs de 0,561 – baixo e de 0,645 – médio, respectivamente (PNUD 2010) e soroprevalências da infecção chagásica de 9,8 e 28,6% respectivamente da população rural investigada durante o inquérito sorológico nacional realizado de 1975-1980 (Camargo et al 1984). Nesses municípios, em 1999, foi identificada soropositividade para anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* em cerca de 12% da população estudada, participação do componente etiológico chagásico de 25% na prevalência da cardiopatia, positividade do teste da PCR de 74,5% e do xenodiagnóstico de 15,1% (Borges-Pereira et al 2002).

Em 2002, a Secretaria de Estado de Saúde do Piauí (SESAPI) convidou pesquisadores, professores e agentes públicos de todos os municípios para fornecer um

quadro epidemiológico da infecção chagásica no Estado. Nessa direção, Borges-Pereira et al (2006) ao promoverem o inquérito sorológico em 2002 examinando 36.399 moradores da zona rural de 216 dos 222 municípios do Piauí, encontraram uma soroprevalência de 1,9%, configurando uma queda significativa no intervalo 1975-2002 (de 4% para 1,9%), indicando a eficácia das medidas de controle vetorial implementadas nesse período. Após esse inquérito sorológico no qual os municípios de João Costa e São João do Piauí integraram a área de maior soroprevalência do Estado, Borges-Pereira et al (2007) realizaram uma investigação sobre aneurismas do ventrículo esquerdo, identificando tais anormalidades em 8,8% dos 261 pacientes examinados, ressaltando maior prevalência e presença de trombos entre os chagásicos de São João do Piauí. Sobre o tratamento específico da doença de Chagas não encontramos estudos sistematizados em grupos populacionais dessas áreas ou mesmo publicações envolvendo outras áreas do Piauí. Contudo, Borges-Pereira durante os estudos sobre a morbidade no período 2002 a 2007 nos municípios de João Costa e São João do Piauí refere a prescrição de benznidazol para 28 pessoas em diferentes momentos (dados não publicados).

1.1.2.8. Mambaí-Goiás – município localizado no leste Goiano, na microrregião de Vão do Paranã, a 530 km de Goiânia capital do estado, com uma população estimada em 18.000 habitantes (IBGE 2010), IDHM de 0.647 – médio (PNUD 2010) e soroprevalência da infecção chagásica de 26,3% da população rural investigada durante o inquérito sorológico nacional realizado de 1975-1980 (Camargo et al 1984). Em 1974 um grupo de pesquisadores liderados pelos Profs. Aluizio Prata e Cleudson de Castro, com financiamento do PIDE-CNPq instalaram em Mambaí-Goiás, região central do Brasil, uma nova área de estudo sobre a doença de Chagas. São muitas as contribuições advindas das pesquisas realizadas nessa área, com destaque para os resultados obtidos por Castro (1980) em dissertação de mestrado, anunciando 48% de pacientes chagásicos crônicos com xenodiagnósticos positivos em uma série de três exames para cada paciente no intervalo de 18 meses, 9% dos pacientes foram classificados como portadores de alta parasitemia e o quadro clínico não estava associado aos níveis da parasitemia. Confirmando os resultados desse estudo seccional, Castro (1993), em tese de doutorado, avaliando uma coorte de 190 pacientes chagásicos crônicos no intervalo de 13 anos constatou que a evolução da doença cardíaca e digestiva não estavam associadas aos níveis da parasitemia. Mais recentemente, Silveira et al (2000) publicaram os resultados do tratamento realizado 8 e 20 anos atrás em 12 crianças de 7 a

12 anos a época do tratamento, todas na forma indeterminada, sendo 2 tratadas com nifurtimox e 10 com benznidazol por 60 dias. Nesse intervalo de evolução, somente um paciente apresentou-se com todos os testes sorológicos e parasitológicos negativos, mantendo-se na forma indeterminada, os demais persistiram soropositivos ou com oscilações nos testes (positivos/duvidosos/negativos), sendo que 7 mantiveram-se na forma indeterminada e quatro progrediram clinicamente para cardiopatia grau II e/ou esofagopatia, a despeito do tratamento específico.

1.1.2.9. Sertão da Paraíba – Foi representado inicialmente pelos municípios de Aguiar e Boqueirão dos Cochos, ambos inseridos na microrregião do Vale do Piancó, estando Aguiar a 262 km da capital João Pessoa, com população estimada em 5.600 habitantes (IBGE 2014), IDHM de 0,597 – baixo (PNUD 2010) e soroprevalência da infecção chagásica de 8,0% da população rural investigada durante o inquérito sorológico nacional realizado de 1975-1980 (Camargo et al 1984), enquanto Boqueirão dos Cochos, está 174 km da capital, com população estimada em 18.000 habitantes (IBGE 2010), IDHM de 0,607- médio (PNUD 2010) e soroprevalência da infecção chagásica de 5,5% da população rural investigada durante o inquérito sorológico nacional realizado de 1975-1980 (Camargo et al 1984). Integrando o projeto de Coura (1973), em 1974, iniciaram-se nesses municípios os estudos sobre a doença de Chagas, e com os resultados obtidos por Arruda Jr (1981) foi composta sua dissertação de mestrado, fornecendo-nos um conjunto de informações resumidas na soroprevalência para infecção chagásica em 4,2% da população desses municípios, sem diferença quanto ao sexo e uma participação do componente etiológico exclusivamente chagásico de 12% na prevalência da cardiopatia, considerada baixa em comparação com os achados nas demais áreas já mencionadas de Minas Gerais, Goiás e Piauí. Diante da baixa morbidade referida por Arruda Jr (1981), refletindo em diferença regional importante, Borges-Pereira & Coura (1987) ampliaram a área de estudo para oito municípios do Sertão Paraibano assinalados na tabela 2, nos quais confirmaram a menor morbidade cardíaca e digestiva e o baixo percentual de xenodiagnóstico positivo, em comparação com os valores registrados nas áreas acima mencionadas. Para avaliar o potencial evolutivo da doença nessa área, Borges-Pereira et al (1990) promoveram um estudo longitudinal de 125 pares de chagásicos e não-chagásicos no intervalo de 4,5 anos, concluindo que a letalidade por cardiopatia foi de 1,6% no grupo de chagásicos e de zero no grupo de não-chagásicos e consideraram esses dados sobre a morbimortalidade significativamente inferiores aos encontrados em áreas endêmicas de Minas Gerais,

Goiás e Piauí, expressando provavelmente o menor poder patogênico da infecção humana pelo *Trypanosoma cruzi* no Sertão da Paraíba. Sobre o tratamento etiológico nessa área, não encontramos estudos sistematizados, embora Arruda Jr refira a prescrição de benznidazol para mais de uma dezena de pacientes (dados não publicados).

Tabela 2. Aspectos gerais dos municípios estudados no Sertão da Paraíba

<i>Município do Sertão da Paraíba</i>	<i>Microrregião</i>	<i>População estimada*</i>	<i>Distancia da capital **</i>	<i>IDHM/ PNUD 2010</i>	<i>Soroprevalência 1975-1980***</i>
<i>Catingueira</i>	<i>Piancó</i>	<i>5.000 hab</i>	<i>317 km</i>	<i>0,555 - baixo</i>	<i>14,0%</i>
<i>Emas</i>	<i>Piancó</i>	<i>3.500 hab</i>	<i>268 km</i>	<i>0,560 - baixo</i>	<i>14,2%</i>
<i>Olho d'Água</i>	<i>Piancó</i>	<i>7.000 hab</i>	<i>267 km</i>	<i>0,559 - baixo</i>	<i>12,6%</i>
<i>Piancó</i>	<i>Piancó</i>	<i>16.000 hab</i>	<i>395 km</i>	<i>0,634 - médio</i>	<i>16,9%</i>
<i>São José de Caiana</i>	<i>Itaporanga</i>	<i>6.000 hab</i>	<i>454 km</i>	<i>0,561 - baixo</i>	<i>36,0%</i>
<i>Mãe d'Água</i>	<i>Patos</i>	<i>4.000 hab</i>	<i>283 km</i>	<i>0,580 - baixo</i>	<i>16,0%</i>
<i>Imaculada</i>	<i>Serra do Teixeira</i>	<i>12.000 hab</i>	<i>370 km</i>	<i>0,542 - baixo</i>	<i>19,5%</i>
<i>Água Branca</i>	<i>Serra do Teixeira</i>	<i>10.000 hab</i>	<i>309 km</i>	<i>0,572 - baixo</i>	<i>11,7%</i>

*IBGE 2010, ** João Pessoa, *** Camargo et al 1984

1.1.2.10. Berilo-Minas Gerais – município localizado na mesorregião do Vale do Jequitinhonha, a 545 km da capital Belo Horizonte, com população estimada em 15.000 habitantes (IBGE 2010), IDHM de 0,680 – médio (PNUD 2010) e soroprevalência da infecção chagásica de 30,9% da população rural investigada durante o inquérito sorológico nacional realizado de 1975-1980 (Camargo et al 1984). Inicialmente foi desenvolvido um estudo sobre a soroprevalência da infecção chagásica e morbidade envolvendo a população urbana e os resultados integraram a dissertação de mestrado de Velasco (1988). Nessa pesquisa, verificou-se soropositividade em 12,9% dos moradores urbanos examinados e ECG alterados em 52% dos pacientes soropositivos, concluindo que a doença de Chagas em Berilo representava um importante fator determinante de absenteísmo e morte. Dez anos depois, Montoya (1998) desenvolveu um estudo seccional e longitudinal sobre a cardiopatia chagásica crônica com resultados que confirmaram o caráter progressivo da patologia chagásica tanto para cardiopatia como para megaesôfago, assim como o elevado índice de

xenodiagnósticos positivos para a região. Santos et al (2012) em avaliação dos perfis de IgG total, IgG1, IgG2 e IgG3 anti-*Trypanosoma cruzi* em soros de pacientes chagásicos crônicos nas diferentes formas clínicas, não submetidos ao tratamento específico, observaram níveis significativamente mais elevados de IgG total no grupo de pacientes na forma digestiva/mista e IgG3 mais elevada no grupo de pacientes na forma indeterminada. Lana et al (2009) reavaliando clinicamente, nove anos depois, 28 pacientes chagásicos crônicos submetidos ao tratamento específico com benznidazol observaram evolução clínica inalterada em 95,4% dos pacientes tratados na forma indeterminada, 82,1% dos pacientes na forma cardíaca e em 33,3% dos pacientes na forma mista (cardio-digestiva). A taxa de evolução clínica foi de 2% /ano para todo o grupo, sendo 0,5% /ano para os que estavam na forma indeterminada e de 7,4% /ano para os que estavam na forma cardíaca. A evolução sorológica revelou redução significativa na reatividade dos testes, especialmente nos pacientes tratados na forma indeterminada, sem identificar negatização. Os autores concluem que os resultados desse estudo confirmam os achados da literatura, principalmente aqueles que mesmo não demonstrando a cura depois do tratamento específico, mostram benefícios na redução do processo evolutivo, especialmente nos pacientes na forma indeterminada. Treze anos depois do tratamento com benznidazol, Machado-de-Assis et al (2013) promoveram uma revisão dos pacientes e publicaram os resultados da evolução clínica e laboratorial de 29 chagásicos tratados e 29 não-tratados, ressaltando a ausência de soroconversão em todos os pacientes, contudo revelam a queda dos títulos de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* no grupo de tratados. Sobre a parasitemia observaram hemocultura positiva em 6,9% dos tratados e 27,6% dos não-tratados, enquanto a PCR positiva foi detectada em 44,8% e 13,8%, respectivamente. Sobre a evolução clínica, a progressão da doença foi evidenciada em 17,4% dos tratados e em 56,5% dos não-tratados, com isso os autores concluem, do mesmo modo que Lana et al (2009), recomendando o uso de benznidazol na fase crônica, principalmente na forma indeterminada, diante do benefício de menor evolução progressiva da doença.

1.1.2.11. Barcelos-Amazonas - município localizado na região Norte amazonense, microrregião do Rio Negro, a 405 km da capital Manaus, com população estimada em 27.000 habitantes (IBGE 2010), IDHM de 0,500 – baixo (PNUD 2010) e soroprevalência da infecção chagásica de 6,3% da população rural investigada durante o inquérito sorológico nacional realizado de 1975-1980 (Camargo et al 1984). Constitui-

se em importante área de estudos para a doença de Chagas, induzida pelo índice de prevalência sorológica para infecção pelo *Trypanosoma cruzi* encontrado durante o inquérito sorológico nacional, valor este acima da média nacional em torno de 4,5% (Camargo et al 1984) e de alguns estados com elevada morbidade e mortalidade. Desse modo, a região apresentou-se como um desafio para pesquisadores. Assim, o Prof. José Rodrigues Coura (1990), em editorial, anuncia inquietações sobre o risco da doença de Chagas consolidar-se como uma endemia na Amazônia brasileira. Seguindo a perspectiva científica reuniu pesquisadores e foram em busca de respostas para inúmeras questões, com abordagem inicial sobre a soroprevalência. A partir dos resultados contidos em artigos publicados em 1994 (Coura et al 1994a e 1994b) reafirmaram o risco da doença de Chagas se transformar em uma endemia na população da Amazônia Brasileira, observando o ataque noturno dos triatomíneos nos piaçabais como uma nova forma de transmissão da infecção chagásica e o desequilíbrio dos nichos de reservatórios e vetores decorrentes de ações antrópicas desordenadas. Em publicações posteriores, Coura et al 1995 estimaram a soroprevalência para infecção chagásica de 12,5% em 710 amostras de soros testadas, ressaltando a possibilidade de reações cruzadas com outras afecções da região como infecção humana pelo *Trypanosoma rangeli* (Coura et al 1996).

Em nova abordagem sorológica confirmatória em 886 amostras de soros, Coura et al (2002) identificaram 6,8% de soropositividade para os testes de imunofluorescência indireta (IFI) e ELISA com antígenos purificados de *Trypanosoma cruzi*. Mais recentemente, Coura et al (2013) promoveram uma nova investigação sorológica pesquisando IgG anti-*Trypanosoma cruzi* através do teste de imunofluorescência indireta (IFI) em 4.880 amostras de sangue coletado em papel de filtro de moradores da área urbana de Barcelos e encontraram na triagem 523 amostras com IFI positiva (221 consideradas fortes e 302 fracas ou duvidosas). No estudo confirmatório de 315 soros desses indivíduos com IFI positiva na triagem, confirmaram a soropositividade para infecção chagásica em 13,7% das amostras aplicando IFI, ELISA convencional e ELISA recombinante, ratificando que o diagnóstico sorológico da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* na região amazônica seja realizado utilizando pelo menos duas técnicas diferentes, a semelhança do que é preconizado pelo Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (2005; 2016). Coura et al (1995), encontraram 8% de alterações eletrocardiográficas compatíveis com a cardiopatia chagásica crônica em 112 pessoas soropositivas e xenodiagnósticos positivos para *Trypanosoma cruzi* em dois

pacientes de 82 examinados, indicando baixa parasitemia na área. Continuando os estudos na área, Albajar et al (2003) descreveram os óbitos de dois indivíduos adultos autóctones soropositivos para doença de Chagas com insuficiência cardíaca congestiva associada a alterações eletrocardiográficas do tipo BAV III, bloqueio completo do ramo esquerdo (BRE III) e extra-sístoles ventriculares. Xavier et al (2006) relataram os três primeiros casos autóctones de miocardiopatia chagásica crônica com padrão ecocardiográfico sugestivo da doença de Chagas (com aneurisma apical e acinesia). Brum-Soares et al (2010) em estudo clínico-epidemiológico envolvendo 38 indivíduos soropositivos pareados por idade e sexo com 38 soronegativos observaram alterações eletrocardiográficas e ecocardiográficas, respectivamente, em 36,8% e 31,6% dos soropositivos e em 21,5% e 18,4% dos soronegativos, indicando a infecção pelo *Trypanosoma cruzi* como fator determinante de maior prevalência de cardiopatia nessa área. Nas avaliações clínica e radiológicas não houve registro de megasôfago ou sinais de megacólon. Sobre o tratamento etiológico da doença de Chagas crônica nessa área temos o relato do Prof. Coura de prescrições em casos com indicações de acordo com os Consensos Brasileiros em doença de Chagas (2005; 2016) (dados não publicados).

1.1.2.12. Distrito Sanitário de Rio Verde (DSRV) – Mato Grosso do Sul. Em 1998, pesquisadores do então Departamento de Medicina Tropical do IOC/FIOCRUZ e da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul decidiram investigar o comportamento da doença de Chagas na área de abrangência desse Distrito Sanitário (Tabela 3) por apresentar baixa prevalência da infecção chagásica (< 2%) constituída predominantemente por moradores emigrantes de áreas com elevada prevalência como Rio Grande do Sul e Minas Gerais e por apresentar o *Triatoma sordida* como o principal triatomíneo capturado em domicílios em toda a série histórica da Fundação Nacional de Saúde. Inicialmente, Borges-Pereira et al (2001) realizaram a pesquisa de Ig G anti-*Trypanosoma cruzi* pela imunofluorescência indireta em amostras de sangue obtidas em papel de filtro de 14.709 moradores da área urbana dos 12 municípios do DSRV (Tabela 3 - Alcínópolis, Bandeirantes, Camapuã, Corguinho, Coxim, Jaraguari, Pedro Gomes, Rio Negro, Rio Verde, Rochedo, São Gabriel e Sonora), com posterior confirmação pelos testes de IFI, HAI e ELISA recombinante em soros. A parasitemia foi avaliada por xenodiagnóstico indireto em 134 chagásicos crônicos e a cardiopatia por anamnese, exame físico e eletrocardiograma (ECG) em 191 pares de chagásicos/não-chagásicos. Os resultados mostraram: soropositividade de 1,83% (0,93% em autóctones e 5,01% em alóctones), positividade do xenodiagnóstico de

17,2% (12,3% em autóctones e 20,8% em alóctones) e proporção de cardiopatia chagásica crônica de 24,6% (19,1% em autóctones e 27,8% em alóctones). A análise dos dados indicou a população de alóctones como a principal responsável pelas características da infecção e morbidade da doença de Chagas na área estudada. Seguindo-se essa investigação, em 1999/2000, 63 pacientes chagásicos crônicos foram selecionados, reexaminados e submetidos ao tratamento específico com benznidazol por 60 dias e 47 chagásicos crônicos, por recusa e contra-indicações (alcooolismo, gravidez e neoplasias) não foram submetidos ao tratamento, compondo o grupo controle. Em 2010/2011, onze anos depois, 28 pacientes tratados e 22 não tratados foram reavaliados. Os resultados mostraram queda significativa da parasitemia avaliada pela PCR e dos níveis séricos de IgG anti-*Trypanosoma cruzi* avaliados por IFI e ELISA recombinante, menor percentual de evolução progressiva da cardiopatia avaliada pelo ECG e de óbitos no grupo de tratados em comparação com o grupo de não tratados. Não foi identificada negatização sorológica em pacientes de ambos os grupos, contudo os resultados indicam que o uso do benznidazol contribuiu para reduzir o agravamento da cardiopatia, promovendo melhor qualidade de vida para os pacientes, o que ratifica sua indicação durante a fase crônica (Oliveira 2013).

Tabela 3. Aspectos gerais dos municípios estudados no DSRV-MS.

<i>Município do Distrito Sanitário de Rio Verde – MS</i>	<i>Microrregião</i>	<i>População estimada*</i>	<i>Distancia da capital **</i>	<i>IDHM PNUD 2010</i>	<i>Soroprevalência 1975-1980***</i>
<i>Alcinópolis</i>	<i>Alto Taquari</i>	<i>5.000 hab</i>	<i>379 km</i>	<i>0,745- alto</i>	<i>0,9 %</i>
<i>Bandeirantes</i>	<i>Campo Grande</i>	<i>7.000 hab</i>	<i>70 km</i>	<i>0,733 - alto</i>	<i>0,5 %</i>
<i>Camapuã</i>	<i>Alto Taquari</i>	<i>14.000 hab</i>	<i>137 km</i>	<i>0,761 - alto</i>	<i>1,0 %</i>
<i>Corguinho</i>	<i>Campo Grande</i>	<i>5.000 hab</i>	<i>96 km</i>	<i>0,723 - alto</i>	<i>0,9 %</i>
<i>Coxim</i>	<i>Alto Taquari</i>	<i>33.000 hab</i>	<i>245 km</i>	<i>0,703 - alto</i>	<i>0,9 %</i>
<i>Jaraguari</i>	<i>Campo Grande</i>	<i>7.000 hab</i>	<i>44 km</i>	<i>0,734 - alto</i>	<i>1,0 %</i>
<i>Pedro Gomes</i>	<i>Alto Taquari</i>	<i>8.000 hab</i>	<i>307 km</i>	<i>0,723 – alto</i>	<i>0,5 %</i>
<i>Rio Negro</i>	<i>Campo Grande</i>	<i>5.000 hab</i>	<i>144 km</i>	<i>0,723 - alto</i>	<i>0,9 %</i>
<i>Rio Verde</i>	<i>Alto Taquari</i>	<i>20.000 hab</i>	<i>204 km</i>	<i>0,752 - alto</i>	<i>1,9 %</i>
<i>Rochedo</i>	<i>Campo Grande</i>	<i>5.000 hab</i>	<i>74 km</i>	<i>0,731 - alto</i>	<i>1,0 %</i>
<i>São Gabriel do Oeste</i>	<i>Alto Taquari</i>	<i>25.000 hab</i>	<i>137 km</i>	<i>0,812 - alto</i>	<i>1,9 %</i>
<i>Sonora</i>	<i>Alto Taquari</i>	<i>15.000 hab</i>	<i>363 km</i>	<i>0,769 - alto</i>	<i>0,9 %</i>

*IBGE 2010, ** Campo Grande, *** Camargo et al 1984

1.1.2.13. Jaguaruana-Ceará - município localizado na [mesorregião do Jaguaribe](#), a 183 km da capital Fortaleza, com população estimada em 33.000 habitantes (IBGE 2010), IDHM de 0,654 – médio (PNUD 2010) e soroprevalência da infecção chagásica de 6,1% da população rural investigada durante o inquérito sorológico nacional realizado de 1975-1980 (Camargo et al 1984). Essa área de estudo foi estabelecida pela Dra. Marli Maria Lima, após noticiário na imprensa nacional sobre a elevada infestação por triatomíneos nos peridomicílios de localidades rurais no Ceará (Sarquis et al 2004). Em seguida, Sarquis et al (2006) confirmaram a presença de *Triatoma brasiliensis* (n=2.204 exemplares com 15,3% de infecção por *Trypanosoma cruzi*), *Triatoma pseudomaculata* (n=340 exemplares com 18% de infecção), *Rhodnius nasutus* (n=121 exemplares com 27,2% de infecção) e *Panstrongylus lutzi* (n=5 exemplares, não infectados). Pacheco et al (2006) promoveram análise por Multilocus Enzyme Electrophoresis (MLEE) e por Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) de 18 amostras de *Trypanosoma cruzi* isoladas desses triatomíneos naturalmente infectados e distinguiram por MLEE dois perfis isoenzimáticos e por

RAPD 10 genótipos diferentes circulantes na área, concluindo que as cepas poderiam ser tipadas como variantes isoenzimáticas do zimodema de *Trypanosoma cruzi* Z1. Em continuação aos estudos nas localidades, Borges-Pereira et al (2008) realizaram uma avaliação transversal sobre a infecção chagásica, parasitemia e morbidade envolvendo os moradores e identificaram: soroprevalência de 3,1% (17/541), sem diferença em relação ao sexo; xenodiagnóstico indireto positivo em 11,8% dos soropositivos (2/17), PCR positiva em 75% (9/12) e cardiopatia em 41% (7/17) dos soropositivos e em 11,8% (2/17) dos soronegativos. Os autores concluíram que as prevalências de parasitemia positiva e de cardiopatia chagásica crônica (CCC) não diferem das observadas na Caatinga do Piauí, mas são maiores do que as do Sertão da Paraíba, ressaltando que em todas essas áreas os *Triatoma brasiliensis* e *Triatoma pseudomacuta* são considerados os principais vetores da infecção chagásica. Sobre o tratamento específico, o benznidazol foi prescrito pelo Dr. José Borges Pereira para dois pacientes na ocasião do estudo da morbidade (dados não publicados).

1.1.2.14. Virgem da Lapa-Minas Gerais - município situado na região do Vale do Jequitinhonha, microrregião de Araçuaí, a 570 km da capital Belo Horizonte, com população estimada em 14.000 habitantes (IBGE 2010), IDHM de 0,664 – médio (PNUD 2010) e soroprevalência da infecção chagásica de 28,9% da população rural investigada durante o inquérito sorológico nacional realizado de 1975-1980 (Camargo et al 1984). Constitui-se na área do presente estudo, com propósito geral de adicionar mais uma contribuição do grupo de pesquisadores e técnicos do Laboratório de Doenças Parasitárias/IOC/FIOCRUZ ao controle da doença de Chagas na região através do tratamento específico. Historicamente, a área foi selecionada para estudos seccionais e longitudinais sobre a doença de Chagas a partir do projeto apresentado pelo Prof. José Rodrigues Coura (1973). Dubois (1977) realizou um estudo piloto, que teve início em 1974, envolvendo 5% da população urbana para avaliar a situação da soroprevalência da infecção chagásica, encontrando cerca de 16% de soropositivos, com o registro de menores de 5 anos, indicando a possibilidade de transmissão vetorial ativa na região. Em prosseguimento a esse estudo piloto, Dubois ampliou os estudos envolvendo toda população urbana, para pesquisas sobre a soroprevalência da infecção chagásica, morbidade cardíaca e digestiva através de exames clínico, eletrocardiográfico e radiológico em 274 chagásicos pareados por idade e sexo com 274 não chagásicos e a parasitemia através de xenodiagnósticos diretos. Os dados obtidos foram apresentados

na forma de dissertação de mestrado cujo resumo apresenta soroprevalência da infecção chagásica em 12% da população investigada, significativamente maior entre as mulheres e crescente com a idade; proporção do componente etiológico exclusivamente chagásico na cardiopatia em 35% dos chagásicos; prevalência de megaesôfago em 8% dos chagásicos e xenodiagnósticos positivos em 25% dos chagásicos. A partir dos estudos de Dubois (1977), iniciou-se a composição de uma coorte para estudos longitudinais. Em 1981, seis anos depois, Borges-Pereira (1983) promoveu um novo estudo transversal sobre a soroprevalência, parasitemia, morbidade e mortalidade envolvendo a população da zona urbana (n=2.787 pessoas - 88% da população), com a mesma metodologia empregada por Dubois (1977), constituindo-se também em avaliação longitudinal de 124 pares de chagásicos crônicos e não-chagásicos, cujos resultados compuseram sua dissertação de mestrado, assim resumidos: quadro clínico inalterado em 62,1% dos pacientes chagásicos, a maioria na forma indeterminada, 32,3% evoluíram com progressão da doença e 5,6% apresentaram normalização do eletrocardiograma, a evolução progressiva da cardiopatia foi 7 vezes maior do que de megaesôfago; a letalidade da cardiopatia foi de 8,9%, mais precoce nos homens; a morte súbita foi mais frequente do que a morte por insuficiência cardíaca congestiva. Não houve óbitos entre os pacientes na forma indeterminada e na forma digestiva indicando bom prognóstico para essas formas clínicas. A maior incidência de alterações eletrocardiográficas foi do tipo extra-sístoles ventriculares, bloqueio completo do ramo direito e alterações primárias da repolarização ventricular em comparação com as demais alterações (Borges-Pereira et al 1985). Com esses estudos transversais de 1975 e 1981 foi composta um coorte de 529 chagásicos crônicos pareados por idade e sexo com não-chagásicos, a qual completou 41 anos em março de 2016 devendo ser avaliada para dimensionar o processo evolutivo da doença de Chagas crônica no intervalo de quatro décadas.

Prosseguindo a análise histórica dos estudos realizados em Virgem da Lapa, Borges-Pereira et al (1989) encontraram maior prevalência da cardiopatia entre os indivíduos negros em comparação com os brancos, resultados semelhantes aos de Baruffa et al (1987) na Zona Sul do Rio Grande do Sul, enquanto a prevalência de megaesôfago foi maior entre os brancos em comparação com os negros, sem explicação pelos autores. Em trabalho sobre a parasitemia avaliada pelo índice de infecção das ninfas aplicadas em uma série de três xenodiagnósticos (XD), no período de 12 meses, Borges-Pereira et al (1989) observaram 9,2% dos pacientes com parasitemia alta e

persistente, percentual semelhante ao encontrado entre os chagásicos crônicos de Mambaí-GO, também com uma série de três XD no intervalo de 18 meses (Castro 1980). Em mais um estudo sobre a parasitemia em chagásicos de Virgem da Lapa, Borges-Pereira et al (1992) observaram que no intervalo de oito anos não houve associação entre a progressão da cardiopatia crônica e a parasitemia medida pelo xenodiagnóstico, resultado semelhante ao observado por Castro (1993) em pacientes de Mambaí-GO, no intervalo de 13 anos. Ávila et al (1993) e Wincker et al (1994) empregando a técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) para identificar a infecção pelo *Trypanosoma cruzi* em chagásicos crônicos dessa área encontraram percentuais de 100% e 96,5%, respectivamente, de positividade da técnica, configurando a elevada persistência da parasitemia em pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa, contrastando com os menores índices encontrados em pacientes das áreas da Caatinga do Piauí e Sertão da Paraíba. Outra contribuição importante oriunda dos estudos envolvendo os pacientes dessa área foi a demonstração de que as ninfas dos estádios III e IV de *Panstrongylus megistus* são mais susceptíveis à infecção pelo *Trypanosoma cruzi* do que as ninfas desses estádios de *Triatoma infestans* aplicadas em xenodiagnósticos (Borges-Pereira et al 1996), confirmando os resultados encontrados em estudos experimentais por Perlowagora-Szumlewicz & Muller (1987) e Perlowagora-Szumlewicz et al (1988, 1990).

Em estudo longitudinal sobre a infecção chagásica crônica humana, morbidade e mortalidade no período 1976-1996, Borges-Pereira (1997) compôs e apresentou os dados na forma de tese de doutorado ao curso de Medicina Tropical/IOC/FIOCRUZ. Nesse trabalho confirmou-se a maior prevalência da infecção entre as mulheres, aumento dos percentuais com a idade com queda significativa entre os menores de 20 anos, indicando a interrupção da transmissão vetorial, enquanto a positividade do xenodiagnóstico, em torno de 35%, não mostrou diferenças quanto ao sexo, forma clínica ou cor da pele, aumentando com o número de exames realizados, porém com tendência à queda nos últimos 10 anos do estudo. A cardiopatia crônica exclusivamente chagásica, avaliada pelos exames clínico, eletrocardiográfico, radiográfico e ecocardiográfico, foi diagnosticada em 37,5% dos pacientes, aumentou com idade até 59 anos, foi maior entre os homens e os negros, evoluiu progressivamente em 45,1% dos pacientes ao longo de 17 anos, diretamente associada à persistência da positividade do xenodiagnóstico e com o aparecimento de extra-sístoles ventriculares, alteração primária da repolarização ventricular, bloqueio completo do ramo direito e

hemibloqueio anterior esquerdo. O aneurisma de ventrículo esquerdo foi identificado em 18,8% dos chagásicos predominantemente na região apical. O megaesôfago foi diagnosticado pelo exame radiológico em 7,5% dos chagásicos, aumentou com a idade, predominou entre os homens e evoluiu progressivamente em 13,6% dos pacientes no período de 17 anos. A mortalidade por todas as causas e por cardiopatia avaliada a partir das informações fornecidas por familiares, registros em cartórios e atestados de óbitos foi, respectivamente, 3,4 e 5,3 vezes maior no grupo de chagásicos do que no grupo de não-chagásicos, aumentou com a idade e foi significativamente maior entre os homens. O risco de morte aumentou com a presença de cardiomegalia e extra-sístoles ventriculares. A morte súbita foi mais frequente do que a morte por insuficiência cardíaca congestiva.

Com o objetivo de avaliar as características clínicas e epidemiológicas do aneurisma ventricular esquerdo na doença de Chagas crônica, 388 indivíduos não selecionados: 298 chagásicos e 90 não chagásicos realizaram estudo ecocardiográfico com Dr. Sérgio Salles Xavier (Borges-Pereira et al 1998). A função ventricular foi avaliada ao modo M através do cálculo da fração de ejeção e ao bidimensional através da análise subjetiva da função sistólica global e a contratilidade regional foi avaliada pelo modelo da Sociedade Americana de Ecocardiografia (Schiller et al 1989). Foram diagnosticados 56 (18,8%) aneurismas do ventrículo esquerdo, todos entre os chagásicos, sendo 38 (12,7%) no segmento apical, 10 (3,4%) no septo interventricular, 2 (0,7%) ápico-septal, 2 (0,7%) na parede posterior, 2 (0,7%) na parede inferior e 2 (0,7%) no segmento ínfero-posterior. Não houve diferença significativa nas frequências dos aneurismas em relação à faixa etária, ao sexo e à etnia. Não houve associação entre aneurismas e hipertensão arterial. Dos 56 indivíduos com aneurismas, 55 (98,2%) eram sintomáticos com predominância de palpitações, 53 (94,6%) apresentaram ECG anormais, com predominância de extra-sístoles ventriculares, seguidas de alterações da condução e 34 (60,7%) apresentaram comprometimento da função ventricular, sem diferença quanto ao segmento acometido. Diante destes resultados o aneurisma ventricular esquerdo, principalmente apical, foi considerado como um marcador de doença de Chagas e um indicador da alta morbidade da infecção humana pelo *Trypanosoma cruzi* em Virgem da Lapa.

Sobre a resposta imune humoral em chagásicos crônicos de Virgem da Lapa encontramos o trabalho de Llinares (1991) avaliando o padrão de imunoglobulinas cinco anos após o tratamento específico com benznidazol de 12 pacientes com 12 a 15

anos de idade, no qual observou: negatização dos testes sorológicos convencionais (IFI, HAI e ELISA) em um paciente, a persistência da lise mediada pelo complemento nos pacientes com a sorologia convencional positiva, maiores níveis de IgG1 em comparação as demais subclasses G, sem relação com a parasitemia determinada pelo XD antes do tratamento e com o comprometimento cardíaco; concluindo pela predominância do insucesso do tratamento específico da infecção chagásica em jovens dessa área no tempo de acompanhamento, admitindo possíveis mudanças de padrões com maiores intervalos de tempo na análise pós-tratamento. Teixeira et al (1994) em estudo utilizando a técnica de “Western blot” em um painel de 160 soros de pacientes chagásicos crônicos, observaram que 75% desses soros identificavam as bandas com pesos moleculares de 14, 19, 27, 30, 34, 37 e 75 kilodaltons, estabelecendo que a positividade para a infecção chagásica poderia ser confirmada pelo reconhecimento de três ou mais dessas bandas. Borges-Pereira (1997) em estudo sobre os títulos de Ig G anti-*Trypanosoma cruzi* e resultados dos xenodiagnósticos observou aumento dos títulos de Ig G com a idade dos pacientes não submetidos ao tratamento específico e o aumento da positividade do XD com o aumento dos títulos de Ig G pelo teste de IFI. Zauza & Borges-Pereira (2001) com o objetivo de investigar a relação entre os níveis de anticorpos (IgG) anti-*Trypanosoma cruzi* e a evolução da cardiopatia chagásica crônica, no período de 10 anos, realizaram um estudo envolvendo soros de 140 pacientes (92 mulheres e 48 homens com idades de 10 a 70 anos - média = $38 \pm 13,7$ anos) não submetidos ao tratamento específico. Os níveis de anticorpos foram estimados pelas médias dos títulos registrados através dos testes de imunofluorescência indireta (IFI) e hemaglutinação indireta (HAI) e pelo índice de reatividade (densidade óptica da amostra / cut-off) indicado nos testes ELISA convencional e recombinante CRA+FRA (cytoplasmic repetitive antigen + flagellar repetitive antigen). No período, 49 (35%) pacientes se mantiveram sem cardiopatia, 29 (20,7%) desenvolveram cardiopatia, 33 (23,6%) mantiveram o grau inicial da cardiopatia, 25 (17,8%) evoluíram com agravamento da cardiopatia inicial e 4 (2,8%) normalizaram o eletrocardiograma. A análise dos resultados de todos os testes sorológicos mostrou aumento estatisticamente significativo dos níveis de IgG anti-*Trypanosoma cruzi* no grupo de pacientes com evolução progressiva da cardiopatia principalmente na faixa etária de 20 a 59 anos, independentemente do sexo. Estes resultados indicaram uma associação direta entre os níveis séricos desses anticorpos e a evolução progressiva da cardiopatia chagásica crônica.

Amostras de soros de pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa, ao longo dessas quatro décadas de estudos, têm sido utilizadas em pesquisas confirmadoras e inovadoras, principalmente no campo do diagnóstico e controle da doença de Chagas, assim as identificamos nos trabalhos de Krieger et al (1992) testando a acurácia dos antígenos recombinantes CRA e FRA no diagnóstico da doença de Chagas; Carvalho et al (1993), avaliando a sensibilidade e especificidade de testes sorológicos (imunofluorescência indireta, hemaglutinação indireta e ensaio imunoenzimático – ELISA) para triagem em banco de sangue; Teixeira et al (1994) no desenvolvimento e avaliação da técnica de Western blot para estabelecer o painel de bandas imunogênicas indicativas no diagnóstico da infecção chagásica crônica; Peralta et al (1994) testando o uso de peptídeos sintéticos como antígenos na técnica de ensaio imunoenzimático (ELISA) para o diagnóstico da infecção chagásica; Umezawa et al (1996) avaliando a eficiência do TESA blot (Immunoblotting with Trypomastigote Excreted-Secreted Antigens of *Trypanosoma cruzi*) como método para diagnóstico da doença de Chagas aguda, crônica e congênita; Sáez-Alquézar et al (1997) avaliando o desempenho de onze conjuntos diagnósticos (Kits) de hemaglutinação indireta existentes no mercado brasileiro para diagnóstico sorológico da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, atendendo solicitação do Ministério da Saúde; Oelemann et al (1998) avaliando a acurácia de três conjuntos diagnósticos (Kits) comerciais no diagnóstico da doença de Chagas; Oelemann et al (1999) testando sete peptídeos recombinantes como antígenos na otimização do diagnóstico sorológico da doença de Chagas na técnica Line Immunoassay; Bulhões et al (2004) avaliando o desempenho dos biodemas de *Trypanosoma cruzi* I (cepa Y), II (cepa São Felipe) e III (cepa colombiana) como antígenos nas técnicas de imunofluorescência indireta (IFI) e ensaio imunoenzimático (ELISA); Bottino et al (2013) utilizando-os na caracterização e mapeamento de epítomos dos antígenos recombinantes CRA e FRA.

Em suma, o Projeto Virgem da Lapa de estudos seccionais e longitudinais sobre a doença de Chagas completou 41 anos de atividades em março de 2016 e os resultados nesse período, dependentes da mobilização e participação das comunidades rural e urbana, configuram a interrupção da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* via vetorial, a expressiva melhoria habitacional com erradicação de casas de taipa, aumento da expectativa de vida da população diante do tratamento clínico e cirúrgico dos agravos cardiovasculares e digestivos, treinamento de mestres, doutores e pesquisadores ligados a instituições nacionais e internacionais, produção de conhecimento sobre a progressão

da cardiopatia chagásica crônica associada à parasitemia e aos níveis séricos de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi*, participação em projetos de inovações tecnológicas como a aplicação da técnica da reação em cadeia da polimerase e o emprego de antígenos recombinantes e peptídeos sintéticos no diagnóstico sorológico da infecção chagásica. Cabe-nos agora avaliar de que modo a repetição do tratamento específico influi na evolução clínica e laboratorial da doença de Chagas crônica no curto prazo de quatro anos.

1.1.3. Tratamento etiológico da doença de Chagas

Em 1968, o Prof. Romeu Cançado (Cançado 1968) assim expressou-se: “Ao entrarmos no tratamento clínico da doença de Chagas, há que fazê-lo com certa humildade, diante a afirmação categórica e autorizada, mas ainda hipotética, de que *o destino do chagásico se define na fase aguda*, depois da qual é impossível curar a moléstia, razão por que Carlos Chagas não teria chegado a descobrir-lhe também a cura. Cautela nos impõe as extremas dificuldades que cercam o ensaio terapêutico *in animali nobili*, que tem de obedecer a normas rigorosas, hoje bem estabelecidas, dentre as quais sobrepõem as exigências de ordem ética. Tais dificuldades aumentam, no caso em tela, devido às peculiaridades biológicas do *Trypanosoma cruzi*. Demais, o ensaio terapêutico clínico bem conduzido pode dirimir para sempre uma dúvida; mal feito, como infelizmente é a regra, é perigoso, por causa da falsa segurança dele oriunda.

Por outro lado, diante de um medicamento novo, é preciso lembrar que, embora estudos cuidadosos no laboratório lhe tenham determinado a ação e toxicidade, será afinal de contas no doente que seu valor será averiguado. O raciocínio teórico e o estudo *in vitro* ou no animal são preliminares úteis, não raro indispensáveis, mas nenhuma conclusão válida se alcança enquanto o tratamento não tenha sido ensaiado no homem”.

Em 1979, os Profs. Romeu Cançado e Zigman Brener (Cançado & Brener 1979) expressaram-se da seguinte maneira: “Até há poucos anos, o tratamento específico da doença de Chagas era uma página em branco. Encarregava-se o tempo de revelar a ineficácia dos medicamentos empíricos usados. Há na literatura um bom número de trabalhos sobre o tratamento clínico, usando diferentes compostos, mas na maioria das vezes a avaliação dos resultados não foi válida, ou porque o período de seguimento pós-terapêutico foi curto, ou porque usaram-se critérios clínicos impróprios ou se adotou interpretação tendenciosa. Por conseguinte, o tratamento específico da doença de Chagas acha-se ainda em fase de investigação, embora nos últimos anos tenha-se verificado algum progresso”.

Em 1997, Cançado (1997), mais uma vez expressou-se acerca do tratamento etiológico da doença de Chagas, assim: “A terapêutica etiológica da tripanosomíase *cruzi* já ultrapassou a fase experimental, estando em franco progresso e a aplicação clínica das conquistas alcançadas vai permitir ao médico, diante do chagásico, assumir atitude nova, isto é, abandonar a prática tradicional de mero expectador de um fenômeno sobejamente conhecido – a evolução natural da moléstia – para tentar modificá-lo, mediante um quimioterápico ativo, hoje acessível. Não quer isso dizer que consideramos resolvido o problema. Há ainda sérias dificuldades a vencer, a começar pela alta toxicidade dos medicamentos ativos e a incerteza ainda reinante na apreciação do grau de eficiência terapêutica na fase crônica. No entanto, o elevado índice de cura na fase aguda e a metodologia adequada para realizar ensaios clínicos comparáveis provam que estamos muito longe do niilismo terapêutico”.

Em 2005, especialistas em doença de Chagas reunidos pela Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde do Brasil através de consenso padronizaram estratégias de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle da doença. Considerando nossa proposta de trabalho e as recomendações do consenso sobre o tratamento etiológico na fase crônica, analisaremos resultados de alguns estudos considerados significativos empregando o benznidazol.

Contudo, inicialmente, cabe-nos ressaltar que o benznidazol, desenvolvido e produzido pela Roche até 2011, é a única droga, no momento, disponível no Brasil para o tratamento da doença de Chagas, com produção feita pelo Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco Governador Miguel Arraes (LAFEPE), em Recife, tem sua distribuição feita pelo Ministério da Saúde que o redistribui para as secretarias municipais de saúde. Ressalte-se que outras drogas, em fase experimental e com resultados inferiores em comparação com o benznidazol, têm-se mostrado tripanocidas através de testes realizados em humanos e/ou animais de experimentação, a exemplos de allopurinol (Lauria-Pires et al 1988, Galeano et al 1990), Ketoconazol (Brener et al 1993; De Castro 1993)), Fluconazol, Itraconazol (Sollari et al 1993; Apt et al 1998) e posoconazol (Urbina et al 1996, 1999, 2000; Molina et al 2000, 2001, Do Campo 2001).

O benznidazol, que era chamado comercialmente de *Rochagan*, tem sido empregado no tratamento da doença de Chagas desde 1973 com atividade anti-*Trypanosoma cruzi* incontroversa, conforme dados expressos em algumas revisões da literatura feitas por Cançado & Brener (1979), Coura & Castro (2002), Bern et al (2007), Dias et al (2009), Sguassero et al (2015), Fernández et al (2016) e em resultados

de estudos que exemplificaremos a seguir. Considerando fundamental ressaltar que seus índices de cura na fase aguda são significativamente maiores, 50 a 90%, do que na fase crônica que raramente ultrapassam 20% (Ferreira 1990; Cançado 1999; Coura & Castro 2002), exigindo novas estratégias de tratamento da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* na fase crônica (Coura & Borges-Pereira 2011).

Estudos bioquímicos têm evidenciado que o benznidazol atua através da formação de radicais livres e/ou metabólitos eletrofilicos. O grupo nitro (NO₂) presente nessa droga é reduzido ao grupo amino (NH₂) pela ação de enzimas do tipo nitroredutases. O radical nitro formado exerce seu efeito tripanocida através da formação de ligações covalentes com macromoléculas do *Trypanosoma cruzi*, como as de DNA, proteínas e lipídeos proporcionando a perda da capacidade de multiplicação do parasito; aumenta a fagocitose e lisa o *Trypanosoma cruzi* através de mecanismo dependente de interferon-gama (Diaz-de-Toranzo et al 1988). A metabolização do benznidazol ocorre no fígado e a excreção se dá através da urina e fezes.

Na literatura, os resultados sobre o tratamento etiológico da doença de Chagas na fase crônica empregando benznidazol em seres humanos destacam-se aqueles que evidenciam variações intra e inter-regionais na eficácia desse medicamento, as quais têm sido atribuídas, hipoteticamente, às diferenças metodológicas, a genética populacional ou a fatores relacionados com diferentes sensibilidades das cepas e clones de *Trypanosoma cruzi* circulantes nas áreas estudadas (Andrade & Magalhães 1997; Camandaroba et al 2003; Campos et al 2005; Portella & Andrade 2009). Essas variações regionais em populações humanas têm sido evidenciadas, no Brasil, em estudos realizados em áreas de Minas Gerais (Coura et al 1997; Cançado 2002; Lana et al 2009; Machado- de -Assis 2011, 2013) assim como em vários municípios do Rio Grande do Sul (Fernandes et al 2009), nos quais os percentuais de cura estão abaixo de 10%, enquanto em grupos de pacientes de áreas da Argentina (Viotti et al 1994, 2006) os resultados indicam percentuais entre 10% e 20%.

A eficácia do tratamento etiológico da doença de Chagas crônica está configurada na diversidade de resultados principalmente de acordo com a forma clínica e faixa etária dos pacientes. Em crianças e jovens na fase crônica recente, na forma clínica indeterminada, tratadas com benznidazol os resultados no tempo de evolução de 3 a 5 anos revelaram cura sorológica e parasitológica em até 60% dos tratados, mas não há referências ao processo evolutivo da ou para a cardiopatia (Andrade et al 1996, Sosa-Estani 1998, Estriba et al 2009). Em adultos tratados com benznidazol na forma

indeterminada, os resultados de seguimento de 5 a 17 anos mostraram que o emprego dessa droga causa impacto sobre o processo evolutivo da cardiopatia, reduzindo a progressão, melhorando a qualidade de vida e reduzindo a letalidade (Oliveira 2013; Machado-de-Assis 2013; Viotti et al 1994, 2006; Gallerano & Sosa-Estani 2001). Enquanto os resultados do projeto BENEFIT (Morillo et al 2015) do tratamento com benznidazol de pacientes com cardiopatia avançada não observaram redução da progressão da cardiopatia inicial.

1.1.4. Parasitemia na fase crônica

A presença de *Trypanosoma cruzi* na circulação sanguínea ou parasitemia na fase crônica da doença de Chagas tem sido investigada de modo direto e indireto através de diferentes métodos. Entre os métodos de observação direta, sempre com baixo desempenho, encontramos o exame direto de sangue a fresco através das técnicas de gota espessa, esfregaço e por métodos de concentração do parasito como o micro-hematócrito (WHO Technical Report Series 1991), método de concentração de Strout (Strout 1962), QBC- *Quantitative Buffy Coat* (Amato-Neto et al 1996) e de Ficoll-Hypaque (Budzko & Kierszenbaum 1974). Entre os métodos de observação indireta que apresentam melhor desempenho nessa fase da doença destacam-se o xenodiagnóstico (Brumpt 1914), a hemocultura (Chiari & Dias 1975) e a reação em cadeia da polimerase (PCR) (Mullis et al 1986; Moser et al 1989; Erlich et al 1991; Avila et al 1991, 1993). As pesquisas sobre a parasitemia nessa fase da doença exibem resultados com valores que variam de acordo com o método de investigação (Junqueira et al 1996; Portela-Lindoso & Shikanai-Yasuda 2003), a área de origem dos pacientes (Castro 1980 ;Coura et al 1984; Borges-Pereira et al 2001,2008), a idade dos pacientes (Castro 1993; Borges-Pereira 1997), as comorbidades (Rassi et al 1997; Sartori et al 2002; Santos-Neto et al 2003) e o tratamento etiológico realizado ou não (Coura et al 1991, 1997; Machado-de-Assis et al 2013; Oliveira 2013).

Analisando a literatura sobre a parasitemia no contexto da nossa proposta de trabalho encontramos estudos seccionais realizados em populações de diferentes áreas endêmicas do Brasil não submetidas ao tratamento etiológico mostrando positividade do xenodiagnóstico em torno de 10% em áreas da Paraíba (Coura et al 1984, Borges-Pereira & Coura 1987) e do Amazonas (Coura et al 1994), de 20% em áreas do Piauí (Coura et al 1984; Borges-Pereira et al 2002), Mato Grosso do Sul (Borges-Pereira et al 2001; Pompílio et al 2005) e Ceará (Borges-Pereira et al 2008) e acima de 30% em áreas de Minas Gerais (Coura et al 1984; Borges-Pereira et al 1989; Borges-Pereira

1997) e Goiás (Castro 1980; Castro et al 1999; Castro et al 2005), indicando ampla variação regional da parasitemia, identificada também pela reação em cadeia da polimerase (PCR) com percentuais mais elevados, variando entre 20,8% em Barcelos-Amazonas (Brum-Soares et al 2010), 44% no Sertão da Paraíba (Britto et al 1995), 74,5% em João Costa-PI (Borges-Pereira et al 2002) e 96% em Virgem da Lapa-MG (Wincker et al 1994). Encontramos também estudos longitudinais de 13 e 20 anos sobre a parasitemia avaliada por xenodiagnóstico em populações não submetidas ao tratamento específico da doença de Chagas em Mambai-GO por Castro (1980) e Castro et al (1999) e em Virgem da Lapa-MG por Borges-Pereira (1997), os quais observaram associação direta entre a positividade dos xenodiagnósticos e o aumento da idade dos pacientes. Enquanto Jesionek et al (2007) em estudo longitudinal da parasitemia avaliada pela reação em cadeia da polimerase (PCR), no intervalo de oito anos, envolvendo chagásicos crônicos não submetidos ao tratamento específico de João Costa-PI e do Distrito Sanitário de Rio Verde-MS, verificaram aumento da positividade da PCR entre os portadores da cardiopatia chagásica crônica, confirmando os achados dos estudos com xenodiagnósticos. Esses resultados configuram o aumento da parasitemia associado ao tempo da infecção chagásica em população adulta não submetida ao tratamento específico, fenômeno que tem sido atribuído à imunodepressão natural do processo de envelhecimento, em pessoas em uso de corticóides (Rassi et al 1997), infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Gutierrez et al 1999; Sartori et al 2002) ou portadora de lupus eritematoso sistêmico (Santos-Neto et al 2003).

Por outro lado, a análise dos resultados dos estudos sobre o comportamento da parasitemia em chagásicos crônicos submetidos ao tratamento específico com benznidazol mostra redução significativa da parasitemia, medida pelos xenodiagnósticos em pacientes de 6 a 12 anos de idade (Sosa-Estani et al 1998; Silveira et al 2000) ou entre pacientes com idades acima de 20 anos (Coura et al 1997; Cançado 1999; Britto et al 2001), validando o uso dessa droga para redução da parasitemia em chagásicos crônicos nas diferentes idades. Em estudos longitudinais sobre a parasitemia avaliada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em grupos de pacientes chagásicos crônicos submetidos ao tratamento etiológico, moradores do estado de Goiás (Galvão et al 2003; Andrade et al 2004), de Berilo-MG (Machado-de-Assis et al 2013), do Distrito Sanitário de Rio Verde-MS (Oliveira 2013), de áreas endêmicas da Argentina (Viotti et

al 2006) e da Bolívia (Wincker et al 1994) mostram queda da parasitemia após o tratamento etiológico com benznidazol.

1.1.5. Resposta imune humoral na fase crônica

A presença de tripomastigotas livres na corrente sanguínea e focos de amastigotas intracelulares induzem uma resposta imune complexa, inata (monócitos e células NK) e adaptativa envolvendo células CD4 e CD8, moléculas do complexo de histocompatibilidade classe I e anticorpos produzidos por linfócitos B (Carlier et al 2002; Cunha-Neto et al 2009). Os monócitos podem desenvolver ação tripanocida, via óxido nítrico, após ativação por interferon-gama e algumas quimiotoxinas. No campo da resposta imune humoral dois tipos principais de imunoglobulinas das classes M e G são capazes de lisar o parasito por meio de mecanismos ainda não totalmente conhecidos. Apesar de todos esses mecanismos possíveis de defesa no homem, o parasito não é totalmente eliminado do organismo, sendo raros os casos de cura espontânea (Dias 2000; Francolino et al 2003). Na fase aguda da infecção são crescentes os níveis de imunoglobulinas M e G no controle do parasito, em geral até 60 dias. Em seguida, se estabelece a fase crônica, na qual predomina as imunoglobulinas G e queda substancial da parasitemia, alcançando-se o equilíbrio parasito-hospedeiro, com pequenas variações ao longo do processo evolutivo.

Sobre o comportamento dos níveis de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* durante a infecção chagásica crônica em populações humanas não submetidas ao tratamento específico encontramos alguns estudos seccionais e longitudinais que revelam o aumento dos níveis com a idade dos pacientes e com a progressão da doença (Gusmão et al 1982; Borges-Pereira 1997; Zauza & Borges-Pereira 2001), do mesmo modo que o aumento da parasitemia observado nos estudos realizados por Borges-Pereira & Coura (1987), Borges-Pereira (1997) e Castro et al. (1999). Por outro lado, estudos longitudinais em populações chagásicas com idades abaixo de 14 anos submetidas ao tratamento com benznidazol mostraram queda significativa dos níveis de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* nos testes de imunofluorescência indireta e ELISA, assim como da parasitemia avaliada por xenodiagnóstico, ressaltando-se que nesses estudos os autores encontraram percentuais de cura indicada pela negatificação sorológica em torno de 60% das crianças de Goiás-Brasil (Andrade et al 1996, 2004) e de Salta e Santa Fé na Argentina (Sosa-Estani et al 1998; Streiger et al 2004).

Já o tratamento específico com o benznidazol realizado em populações de adultos cronicamente infectados mostra negatificação e queda dos níveis sorológicos

abaixo de 10% em pacientes de Minas Gerais (Cançado 1999; Lana et al 2009; Machado-de-Assis 2011) e do Rio Grande do Sul (Fernandes et al 2009), ressaltando-se que as diferenças metodológicas como intervalos de estudo podem influenciar nesses resultados. Álvarez et al (2012) analisando o comportamento sorológico de 81 adultos chagásicos crônicos da Argentina que fizeram uso de benznidazol no tempo médio de 10 dias observaram a negatificação dos testes sorológicos em 20% (16 pacientes), indicando a necessidade de revisão do tempo de administração do medicamento.

1.1.6. Evolução da cardiopatia chagásica crônica

Desde os estudos iniciais feitos por Chagas (1909, 1911) e Chagas & Villela (1916) a cardiopatia assumiu destaque pela sua importância no determinismo de elevados índices de incapacidade laborativa e morte em indivíduos jovens infectados pelo *Trypanosoma cruzi*. O seu caráter evolutivo progressivo com variações regionais está configurado nas diferentes prevalências registradas em estudos clínico-epidemiológicos realizados em áreas endêmicas do Brasil e de outros países da América Latina. Alguns desses estudos, apesar de evidenciarem a incidência da cardiopatia em parcelas dessas populações, não definem a perspectiva evolutiva individual ou do grupo.

Da literatura ressaltamos os trabalhos de Laranja et al (1956); Dias & Kloetzel (1968); Prata (1976); Castro (1980); Dias (1982); Coura & Borges-Pereira (1984); Coura et al (1984); Borges-Pereira et al (1990); Borges-Pereira (1997) que mostraram a evolução da cardiopatia chagásica crônica em grupos de pacientes não submetidos ao tratamento etiológico com aumento da prevalência e da gravidade associado com a idade dos pacientes, predominantemente do sexo masculino.

Por outro lado, estudos longitudinais sobre o tratamento da doença de Chagas crônica com benznidazol indicaram a interrupção ou a queda do processo de progressão da cardiopatia em alguns pacientes, independentemente da região de origem (Macedo & Silveira 1987; Viotti et al 1994; Andrade et al 2004; Streiger et al 2004; Viotti et al 2006; Machado-de-Assis 2013;Oliveira 2013), resultados esses que fortalecem a indicação do tratamento específico da doença de Chagas mesmo que não seja identificada a cura parasitológica e/ou sorológica, mas sim modificando a história natural da cardiopatia entre os chagásicos. No entanto, em recente publicação de estudo randomizado do benznidazol (BENEFIT) envolvendo 2.854 pacientes com cardiopatia chagásica crônica do Brasil, Colômbia, El Salvador, Argentina e Bolívia, os autores concluíram, considerando tempo médio de seguimento de 5,4 anos, que a terapia com essa droga não reduziu significativamente a deterioração cardíaca (Morillo et al 2015).

1.2. Justificativas para o trabalho

A despeito de 107 anos da descoberta e do conhecimento adquirido sobre o quadro clínico, epidemiológico e social da doença de Chagas, somente há pouco mais de 40 anos, estabeleceu-se no Brasil um programa de controle da transmissão da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, estribado em ações diretas sobre os triatomíneos domiciliados, aplicando-se inseticidas e em ações normativas sobre os bancos de sangue, exigindo-se o uso obrigatório de testes sorológicos para excluir indivíduos chagásicos candidatos à doação de sangue.

Com as medidas de controle vetorial, anuncia-se a erradicação do *Triatoma infestans* do território brasileiro, medida pela queda da prevalência da infecção especialmente na população jovem, indicador de interrupção da transmissão vetorial em caráter endêmico. E com as medidas de controle em bancos de sangue, verifica-se a redução do número de casos após hemotransusão (Moraes-Souza & Ferreira-Silva 2011). Por outro lado, o caráter crônico de longa duração da infecção chagásica é responsável pela existência de cerca de 3 milhões de brasileiros adultos com a doença de Chagas, entre os quais, 40% desenvolverão cardiopatia, fator determinante de baixa qualidade de vida e elevada letalidade.

Até o momento, desconhecem-se marcadores que indiquem quais os indivíduos cronicamente infectados pelo *Trypanosoma cruzi* desenvolverão doença cardiovascular e/ou digestiva. Essa indefinição impõe estudos sobre o impacto do tratamento etiológico no processo evolutivo da infecção para a doença. Nesse contexto, apesar do pequeno arsenal terapêutico constituído por benznidazol e nifurtimox durante cinco décadas, estudiosos têm promovido tratamentos etiológicos na tentativa de erradicar o parasito e interromper o processo evolutivo. Os resultados obtidos têm-se mostrado dependentes do momento da infecção: na fase aguda, os índices de cura parasitológica oscilam de 60 a 90%; na fase crônica recente, em pacientes menores de 14 anos, os índices de cura oscilam em torno de 60%, porém, em adultos, independente da forma clínica crônica, o índice de cura varia de zero a 10%, indicando elevado fracasso terapêutico para cura, considerando-se os critérios contidos nos Consensos Brasileiros em Doença de Chagas (CBDC) produzido pelo Ministério da Saúde do Brasil (2005,2016).

Não há evidências que expliquem o elevado fracasso terapêutico para a cura na fase crônica da doença de Chagas em comparação com o sucesso obtido na fase aguda. Entretanto, estudos longitudinais de curta ou longa duração têm revelado menor

percentual de evolução progressiva da cardiopatia entre os pacientes que usaram benznidazol e/ou nifurtimox em comparação com os pacientes que não usaram, associando-se à persistência da soropositividade com queda dos níveis séricos de IgG anti-*Trypanosoma cruzi* e da parasitemia patente. Estes resultados indicam que essas drogas têm ação tripanocida em parcela variável de chagásicos crônicos.

Os critérios de seleção dos pacientes chagásicos crônicos para receberem o tratamento etiológico foram estabelecidos pelo Ministério da Saúde em 1996 e resumidos nos Consensos Brasileiro em Doença de Chagas (CBDC) em 2005 e 2016, nos quais, recomenda-se o uso de benznidazol ou nifurtimox nas doses de 5 a 10 mg/Kg/dia, por 60 dias consecutivos, interrompendo-se diante de efeitos colaterais graves como dermatopatias do tipo exantema bolhoso, leucopenia com agranulocitose e neuropatia periférica. Essa “estratégia convencional” de tratamento etiológico em adultos na fase crônica vem sendo aplicada desde os primeiros ensaios terapêuticos na década de 60 com resultados sobre a cura considerados insatisfatórios, sugerindo a formatação de novas estratégias para melhores resultados.

Não existe um protocolo que defina o intervalo ideal para avaliar-se o impacto do uso do benznidazol sobre os níveis de IgG anti-*Trypanosoma cruzi*, na parasitemia e na cardiopatia. A literatura apresenta estudos com diferentes intervalos de tempo. Acreditamos que os pequenos intervalos possam ser úteis na avaliação de mudanças na imunoglobulinemia e na parasitemia, enquanto, os intervalos maiores de 10 anos possam ser ideais na identificação de mudanças na cardiopatia, considerando seu lento processo evolutivo.

Não encontramos publicações de estudos nos quais os chagásicos crônicos tenham sido tratados com essas drogas mais de uma vez de modo controlado. Diante desse cenário, aliado ao elevado fracasso para a cura do tratamento etiológico convencional e da extrema necessidade de bloquear a progressão da doença, em especial da cardiopatia, Coura & Borges-Pereira (2010, 2011, 2012) propuseram outras estratégias, entre as quais, a repetição do tratamento etiológico convencional.

Essa proposta de repetir o tratamento etiológico convencional originou-se no grupo de pesquisas do Laboratório de doenças parasitárias do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, a partir dos relatos de pacientes de Virgem da Lapa que obtiveram importantes melhoras clínicas (da dispneia, palpitações e dor precordial) após a ingestão de Rochagan (benznidazol) na dosagem da bula por 60 dias consecutivos, por três vezes

ou mais, a intervalos de 1 a 4 anos entre as séries do medicamento (dados em publicação).

Em suma, se a estratégia convencional indicada para o tratamento etiológico em uma série de 60 dias de benznidazol produz resultados clinicamente considerados insatisfatórios, repeti-la se impõe na tentativa de melhorá-los. Nesse sentido, estamos oferecendo aos pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa, selecionados com base nos critérios do Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (2005), a opção do tratamento convencional (benznidazol por 60 dias consecutivos/ano), por uma, duas e três vezes consecutivas a intervalos de um ano, na expectativa de obter redução na morbidade cardíaca, melhores condições para as atividades laborais, afastando-os do absenteísmo e da mortalidade precoce e integrando-os no combate à miséria.

1.2.1. Hipóteses

Nossa hipótese de trabalho está fundamentada nos resultados de estudos relatados e referenciados que evidenciam a queda dos níveis de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi*, da parasitemia e da progressão da cardiopatia após o tratamento etiológico convencional (uma vez) com benznidazol, independentemente da fase clínica da infecção, da área de origem, da idade dos pacientes e de afecções associadas (Rassi et al 1997, 1999; Zauza & Borges-Pereira 2001; Santos-Neto et al 2003). Enquanto a proposta do trabalho está ancorada na ausência de estudos sobre o comportamento evolutivo dos níveis séricos da IgG total anti-*Trypanosoma cruzi*, da parasitemia, do padrão clínico-eletrocardiográfico e ecocardiográfico em chagásicos crônicos tratados com benznidazol mais de vez (tratamento alternativo) com intervalo de um ano entre os tratamentos. Assim construímos as hipóteses:

Principal: haverá maior redução dos níveis de IgG anti-*Trypanosoma cruzi*, da parasitemia e da progressão da cardiopatia no grupo de chagásicos crônicos tratados com benznidazol por mais de uma vez em comparação com o grupo tratado uma única vez.

Alternativa: não haverá maior redução dos níveis de IgG anti-*Trypanosoma cruzi*, da parasitemia e da progressão da cardiopatia no grupo de chagásicos crônicos tratados com benznidazol por mais de uma vez em comparação com o grupo tratado uma única vez.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Avaliar a resposta imune humoral, a parasitemia e a cardiopatia em pacientes chagásicos crônicos, após um, dois e três tratamentos consecutivos.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar a variação dos níveis séricos de IgG anti-*Trypanosoma cruzi* através dos testes de imunofluorescência indireta (IFI)
- Determinar a variação dos níveis séricos de IgG anti-*Trypanosoma cruzi* através do ensaio imunoenzimático (ELISA).
- Determinar o índice de negatificação sorológica.
- Determinar a variação qualitativa da parasitemia através da reação em cadeia da polimerase (PCR).
- Determinar o índice de negatificação parasitológica.
- Determinar o percentual de evolução clínica-eletrocardiográfica e ecocardiográfica em função do número de tratamentos com benznidazol.
- Determinar a prevalência de reações adversas ao tratamento com benznidazol.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de estudo: Virgem da Lapa-MG, 41 anos de pesquisas

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE 2010) a história registra que o município de Virgem da Lapa foi fundado por um rico português de nome Antônio Pereira dos Santos (capitão-mor), senhor de numerosa escravatura, que se estabeleceu no lugar denominado "Água Suja", do município de Minas Novas. A fundação de Virgem da Lapa se deu em 1729, conforme descreveu Leopoldo Pereira, em seu livro intitulado "O Município de Arassuahy", escrito em 1913. Naquela época, em 1729, por carta régia, obteve por doação extensos terrenos na margem esquerda do rio Arassuaí e direita do Jequitinhonha, transferindo, então, para o lugar denominado "Pega", com fazenda de lavoura e criação. Foi, portanto, Antônio Pereira dos Santos, o primeiro colonizador de Virgem da Lapa, "ex-São Domingos". Deixou numerosa família. Uma de suas filhas casou-se com o Dr. José Pereira Freire de Moura, formado em direito e matemática pela Universidade de Coimbra, advogado então em Minas Novas. Por ocasião da Inconfidência Mineira, ele, que fora colega de Cláudio Manoel da Costa e outros homens eminentes em Coimbra, implicou-se na revolta. Consta que antigamente, quando pelas ruas passava o prestito do rei do rosário, os negros, em vez de flores, lhe atiravam folhetas de ouro. Virgem da Lapa já exportou, antigamente, em escala regular, para a Bahia, os célebres cobertores denominados de "Minas Novas" e o pano de algodão tecido em teares de mão, que no interior naquele Estado servia para roupas de escravos e para ensacar sal. A paróquia foi criada pela lei 167 de 1840. Foi suprida pela lei 1578 de 1868 e seu território incorporado à freguesia de Santo Antônio de Salinas, sendo depois esta lei revogada pela de N° 1663 de 1870. Virgem da Lapa foi elevada à categoria de vila pela lei estadual N° 2, de 14/09/1891, desmembrada do município de Minas Novas e anexada ao de Araçuaí. Em 1948, pela lei estadual N° 336 de 27/12/1948, foi elevada à categoria de cidade. Nessa época é que Virgem da Lapa perdeu o seu antigo nome de "São Domingos do Arassuaí". Virgem da Lapa recebeu esse nome em homenagem a Senhora da Lapa. Quem nasce em Virgem da Lapa é virgolapense.

O município está situado na região Nordeste do estado de Minas Gerais, no médio Vale do Jequitinhonha, integra a microrregião Pastoril de Pedra Azul. Limita-se com os municípios de Grão-Mogol, Rubilita, Coronel Murta, Araçuaí, Francisco Badaró

e Berilo. Tem uma superfície de 605 km², altitude de 719 m e coordenadas geográficas de 16^o 47' 54" de Latitude Sul e 42^o 20' 30" de Longitude Oeste. Fica a 570 km de distância de Belo Horizonte, capital do Estado, por via rodoviária e a 980 km da cidade do Rio de Janeiro (Figura 1). Está dividido em área urbana e rural representada por 52 grupos populacionais ou comunidades (Figuras 2 a 6).



Figura 1. Localização da área de estudo

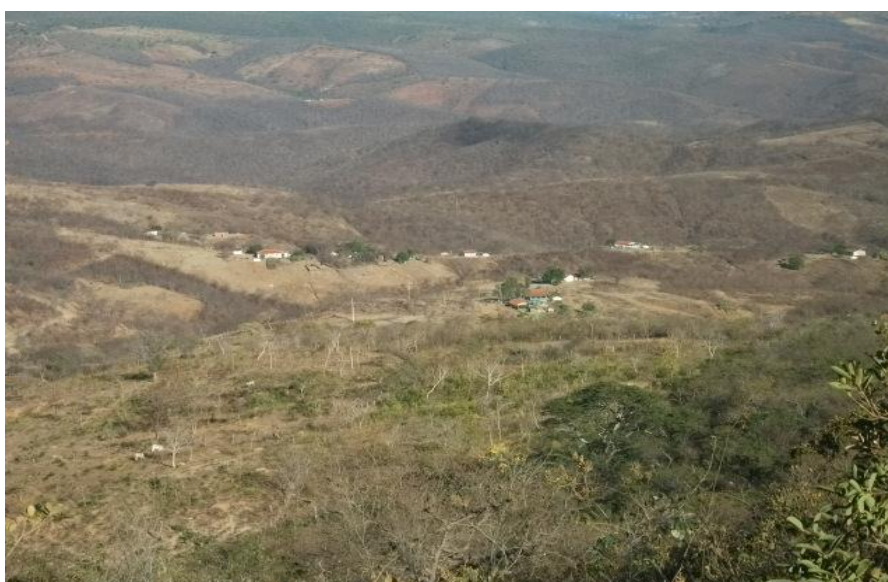


Figura 2. Aspectos das habitações na Comunidade do Buriti -Zona Rural.
(Foto de J Borges-Pereira em 2010)



Figura 3. Aspectos das habitações da Comunidade de São João do Vacarias - Zona Rural. *(Foto de J Borges-Pereira em 2013)*



Figura 4. Aspectos das habitações do Programa Minha Casa Minha Vida na Comunidade de Cansação - Zona Rural. *(Foto de J Borges-Pereira em 2013)*



Figura 5. Aspectos das habitações no Bairro Bela Vista - Zona Urbana.
(Foto de J Borges-Pereira em 2013)



Figura 6. Aspectos das habitações no Centro ou “Baixinha” - Zona Urbana.
(Foto de J Borges-Pereira em 2013)

A análise evolutiva da população do município no período 1970-2010 mostra pequenas variações quantitativa e qualitativa (IBGE 2010), revelando baixa taxa de crescimento de 0,1 a 1% habitante/mil/ano. As mulheres sempre foram maioria na população do município. A proporção de moradores da área urbana aumentou de modo

significativo (16% para 50%), provavelmente em decorrência da concentração dos serviços essenciais na sede do município. Na composição étnica, os brancos representam 40%, pardos ou mestiços 40% e negros 20%. Houve redução significativa do analfabetismo em maiores de 10 anos (de 56% para 25%), ressaltando que o maior percentual de portadores de doença de Chagas está entre os analfabetos (Borges-Pereira 1997)

A infra-estrutura e os serviços básicos nesse período mostram na área urbana aumento significativo de edificações de 574 para cerca de 1.200, exclusivamente de alvenaria, consideradas de boa qualidade para moradia; extensão da rede de esgoto por cerca de 90% dos logradouros e conectada a aproximadamente 80% dos domicílios; pavimentação com asfalto ou lajotas em 90% das ruas; rede elétrica ligada a 100% dos domicílios; água potável fornecida para 90% dos domicílios; ampliação da rede escolar fundamental e implantação de uma escola de ensino médio; há duas companhias de ônibus intermunicipais (Viações Gontijo e Vale do Rio Doce). O acesso ao município pode ser feito através de estradas de Araçuaí (asfaltada) e de Diamantina (parcialmente asfaltada). O sistema de saúde conta com uma unidade hospitalar para atendimentos ambulatoriais, emergências, internações (60 leitos) e cirurgias; quatro unidades básicas realizando assistência com base no programa de saúde da família, além da disponibilidade para grandes procedimentos realizados através do consórcio intermunicipal (8 municípios).

A população economicamente ativa oscila em torno de 40% nos maiores de 15 anos, ressaltando a elevada participação de indivíduos com idades abaixo de 50 anos na população inativa por incapacidade física para o trabalho, especialmente na lavoura, amparadas pelo sistema público de previdência social. Da população economicamente ativa, 62% trabalham na agricultura e pecuária, 31% na área de serviço e 7% na indústria. A agricultura é de subsistência tendo como principais produtos: arroz, milho, feijão, mandioca, cana-de-açúcar e algodão. A pecuária representada pela criação de bovinos, fornece animais para o consumo interno e externo, além de garantir a atividade industrial com a produção de queijo e manteiga. Outros ramos da atividade industrial são a produção de aguardente e mineração com extração de ouro e pedras preciosas. O comércio de alimentos e de vestuários representa a atividade na área de serviço. O município conta com duas agências bancárias e dois pontos de caixas eletrônicos. A renda per capita gira em torno de um salário mínimo.

Antes de 1975 a primeira informação sistematizada sobre a existência da doença de Chagas em Virgem da Lapa foi obtida através do inquérito sorológico realizado pela Secretaria Estadual de Saúde de Minas Gerais em conjunto com o Departamento Nacional de Endemias Rurais (DNERu) em 1950, no qual foi registrada a porcentagem de 34,32% de infecção chagásica humana pelo teste de fixação do complemento. Na mesma década, Pinto et al (1952) relataram a captura de 290 exemplares de *Panstrongylus megistus* com 8,57% de infecção natural pelo *Trypanosoma cruzi*, 183 exemplares de *Triatoma sordida* com 7,59% de infecção e 1 exemplar de *Triatoma infestans* não infectado. Em 1975, Dubois (1977) realizou um estudo piloto sobre a prevalência da infecção chagásica envolvendo 5% da população residente na zona urbana do município, no qual foram encontrados 16,4% de indivíduos positivos para anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* através do teste de imunofluorescência indireta em eluato de sangue colhido em papel de filtro

O controle dos triatomíneos teve início de maneira sistematizada em 1973 pela ação conjunta da Superintendência de Campanhas (SUCAM) e Coordenação do Desenvolvimento do Vale do Jequitinhonha (CODEVALE), através do expurgo dos domicílios com a aplicação do Hexacloro-ciclo-hexano (BHC), seguido de expurgo seletivo a partir de denúncias. Em 1975, o informe do Centro Regional de Saúde de Diamantina registra a captura de 858 exemplares de triatomíneos no interior de domicílios na zona rural, predominando *Panstrongylus megistus* e *Triatoma sordida*, ressaltando a ausência de triatomíneos nos domicílios da zona urbana. Em 1982, outro informe do Centro Regional de Saúde de Diamantina registra a captura de 538 exemplares dos mesmos triatomíneos nos domicílios da zona rural, sem referência aos índices de infecção. Com a municipalização do controle dos triatomíneos, o serviço de vigilância epidemiológica de Virgem da Lapa tem feito a pesquisa entomológica no município e nos informa a captura, após denúncia, de dezenas de exemplares de *Triatoma sordida* não infectados no peridomicílio nos últimos cinco anos.

O projeto Virgem da Lapa sobre a doença de Chagas teve sua origem em 1973, quando o Prof. José Rodrigues Coura apresentou ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) o projeto “Estudos seccionais e longitudinais sobre a doença de Chagas em diferentes áreas do Brasil”. Um dos objetivos do projeto era avaliar o comportamento da doença de Chagas em áreas endêmicas com transmissão da infecção por triatomíneos interrompida há, pelo menos, 5 anos. Informações sobre a alta prevalência da infecção chagásica em Virgem da Lapa

obtidas através do inquérito sorológico realizado em Minas Gerais, de julho de 1958 a junho de 1960, promovido pelo Instituto Nacional de Endemias Rurais (Salgado & Pellegrino 1968), os informes do Centro Regional de Saúde de Diamantina mostrando a ausência desses vetores na área urbana e as facilidades operacionais compartilhadas, determinaram a escolha de Virgem da Lapa como a área número 2 do projeto. Em 1975, foram iniciadas as atividades que resultaram em estudos sobre a morbimortalidade, terapêutica específica (Llinares 1991) e desenvolvimento de novas técnicas de diagnóstico (Almeida et al 1990; Peralta et al 1994; Oelemann et al 1999) por pesquisadores e alunos de pós-graduação de diversas instituições nacionais e internacionais; orientação e treinamento do pessoal local da área de saúde sobre o manejo do paciente chagásico; reuniões com grupos comunitários e autoridades locais visando a necessidade de manter a interrupção da transmissão por triatomíneos; criar condições para controle da transmissão transfusional e garantir a assistência aos indivíduos doentes.

3.2. Pacientes

A partir de uma coorte de 293 pacientes chagásicos crônicos, homens e mulheres, sem cardiopatia ou com cardiopatia leve, foram selecionados 150 pacientes de 31 a 67 anos (média = $52,4 \pm 7,5$ anos) por sorteio empregando a tabela de números aleatórios e os 143 não sorteados foram inseridos no programa de saúde da família do município para seu adequado manejo clínico-terapêutico, ressaltando que os pacientes sorteados não foram tratados com benznidazol antes do presente trabalho. A não inclusão de todos os integrantes da coorte no presente estudo se deveu ao não financiamento do projeto de pesquisa apresentado ao CNPq (Processo: 403627/2012-5). Diante dessa negativa, decidimos realizar as pesquisas com recursos próprios de pesquisadores e colaboradores ligados ao Laboratório de Doenças Parasitárias e Instituto Nacional de Infectologia (FIOCRUZ-RJ) para comprar o benznidazol, kits diagnósticos, custear viagens e hemogramas de controles do tratamento.

Para atender a proposta do presente trabalho foram compostos três grupos de 50 pacientes (Tabela 4), de acordo com o número de tratamentos recebidos: BZ1T = um tratamento convencional (n=50 pacientes, idade média = $52,4 \pm 8,4$ anos), BZ2T = dois tratamentos convencionais (n=50 pacientes, idade média = $52,8 \pm 7,4$ anos) e BZ3T = três tratamentos convencionais (n=50 pacientes, idade média = $51,8 \pm 6,7$ anos) (anexo 1). A composição de cada grupo se deu através de sorteio simples, no qual cada paciente sorteava uma etiqueta correspondente ao seu grupo de tratamento, utilizando-se uma

urna contendo as etiquetas identificadas com as siglas dos grupos (Figura 7). Cada tratamento foi administrado anualmente conforme protocolo dos Consensos Brasileiros em Doença de Chagas (2005), ou seja, para cada paciente foi administrado, via oral, comprimidos de benznidazol, na dose diária de 5 mg/Kg, fracionada de 12/12 h por 60 dias, não ultrapassando 350 mg por dia. O monitoramento clínico-laboratorial dos pacientes foi realizado em parceria com a Secretaria Municipal de Saúde, fornecendo recursos humanos (médicos, enfermeiros e agentes de saúde) e espaços físicos, utilizando-se do Programa de Saúde da Família (PSF) no qual todos os pacientes estão inseridos e acompanhados com a periodicidade estabelecida para cada patologia (comorbidade) como exemplo, a hipertensão arterial com mínimo de duas consultas/ano.

Todos os pacientes tratados com benznidazol foram avaliados anualmente através de exame clínico e eletrocardiográfico, sendo o ecocardiograma realizado pré em 2013 e pós-tratamentos em 2016. Nessas consultas era dimensionada a adesão de cada paciente ao tratamento, ou seja, se fez uso de toda a medicação prescrita, enquanto os hemogramas controles do uso de benznidazol foram realizados no laboratório LAPRATES (privado), situado na sede do município, com envio dos resultados eletronicamente (e-mail) para avaliação pelos responsáveis pelo trabalho e decisão acerca da continuidade ou não do tratamento.

Tabela 4. Número de mulheres e homens em cada grupo de estudo

Grupo de estudo	Mulheres	Homens	Total
BZ1T	33	17	50
BZ2T	32	18	50
BZ3T	35	15	50
TOTAL	100	50	150



Figura 7. Paciente sorteando seu grupo de tratamento durante consulta médica.
(Foto de Jorge Pinto em 2013).

3.3. Avaliação dos níveis séricos de IgG Anti-*Trypanosoma cruzi*

De cada paciente tratado com benznidazol foram coletadas duas amostras de 10 ml de sangue venoso em tubo vacutainer estéril, sem anticoagulante *pré-tratamento* em abril de 2013 e *pós-tratamentos* em julho de 2016. O soro foi obtido por centrifugação, armazenado em tubo de polietileno de 2 ml e conservado em freezer na temperatura de -20°C nos laboratórios da Unidade de Saúde em Virgem da Lapa-MG e de Doenças Parasitárias/IOC-Rio de Janeiro, até o momento de realização dos testes sorológicos. As amostras foram processadas no Setor de sorologia do Laboratório de Doenças Parasitárias /IOC um a dois meses após a coleta.

3.3.1. Imunofluorescência indireta (IFI- Fife & Muschel 1959; Souza & Camargo 1966) – foi realizada utilizando-se kit comercial IFI Chagas do fabricante Bio-Manguinhos, com antígeno das formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* da cepa Y. As amostras de soros foram testadas a partir da diluição de 1:40 e demais diluições na razão 2 até a diluição máxima definida pela presença de IgG anti-*Trypanosoma cruzi*. A leitura foi feita imediatamente após a montagem final da lâmina por dois observadores e o título final foi aquele do consenso. Classificamos a evolução da variação do nível de IgG nas duas amostras de soros nos seguintes tipos: *inalterada* - manutenção da positividade ou com variação de uma diluição entre as duas amostras; *regressiva* - queda da positividade de dois ou mais títulos observados entre as duas amostras e

progressiva - aumento da positividade de dois ou mais títulos observados entre as duas amostras. (Zauza & Borges-Pereira 2001)

3.3.2. Ensaio imunoenzimático (ELISA - Voller et al 1975) – foi realizado utilizando-se kit comercial Chagatest Elisa recombinante 3.0 do laboratório Wiener. Foram obedecidas todas as recomendações do fabricante acerca da conservação, preparo dos componentes e das amostras, leitura e interpretação dos resultados. A leitura foi feita em equipamento automático marca MINDRAY MR-96, fabricante Shenzhen Mindray Bio-medical Electronics Co. Ltd - China, com filtro de 450-630 nm. Na interpretação dos resultados foram consideradas reagentes ou positivas as amostras com densidade óptica igual ou maior do que o “cut-off” e não reagentes as amostras com densidade óptica menor do que o “cut-off” definido pela equação expressa no informe técnico do fabricante. Arbitrariamente foi considerado como índice de reatividade (IR) da amostra o resultado da razão entre a densidade óptica obtida e o “cut-off” calculado para cada placa, assim expresso: $IR = D.O \text{ (densidade óptica) da amostra} / \text{“cut-off”}$. Para esse teste, classificamos a evolução da variação no nível de IgG nos seguintes tipos: *inalterada* - manutenção nos IR; *regressiva* - queda nos IR de 1,5 vezes ou mais entre as duas amostras e *progressiva* - aumento nos IR de 1,5 vezes ou mais entre as duas amostras (Zauza & Borges-Pereira 2001).

3.4. Avaliação da parasitemia

Foi feita através da reação em cadeia da polimerase (PCR). No pré-tratamento em 2013 e no pós-tratamento em 2016 foram coletadas amostras de sangue de cada paciente para a realização de PCR no total de duas amostras por paciente. A detecção de DNA do parasita pela técnica em qualquer amostra indicou parasitemia positiva e negativa quando não detectado.

3.4.1. Reação em cadeia da polimerase (PCR) – Em 2013, pré-tratamento e em 2016, pós-tratamento, de cada paciente foi coletada amostra de 10 ml de sangue venoso em sistema vacutainer com EDTA. Nos dois momentos, os tubos foram mantidos em geladeira de 2 °C a 8 °C nos laboratórios da Unidade de Saúde de Virgem da Lapa e de Doenças Parasitárias/IOC Rio de Janeiro, em seguida acondicionados e encaminhados para o laboratório de Imunogenética e Biologia Molecular (LIB) da Universidade Federal do Piauí, no qual foram realizadas extrações de DNA empregando-se QIAGEN REPLIG Midi Kit e reações de PCR empregando-se QIAGEN Fast Cyncling PCR Kit. Para cada amostra foram executadas duas reações de PCR, uma

com os primers específicos 121 e 122 para o diagnóstico de Chagas e a outra com os primers específicos B1 e B2 para a região do *citocromo B*. Este último é utilizado para assegurar que as amostras possuem DNA.

3.5. Avaliação da cardiopatia

Foi realizada a partir dos resultados do exame clínico, eletrocardiograma (ECG) de repouso e ecocardiograma (ECO) obtidos e analisados no período do estudo pelos mesmos pesquisadores: Dr. José Borges Pereira do laboratório de Doenças Parasitárias do Instituto Oswaldo Cruz/ FIOCRUZ e Dr. Sérgio Salles Xavier do Instituto Nacional de Infectologia - INI / FIOCRUZ, ambos ao realizarem os exames clínicos, ECG e ECO não sabiam a que grupo de tratamento o paciente pertencia.

O exame clínico cardiovascular consistiu de anamnese e exame físico (anexo 2) com base nas recomendações contidas no documento produzido por especialistas reunidos pela OPAS (1974). A pressão arterial foi medida após repouso de no mínimo 15 minutos, considerando hipertensão para os valores maiores de 95 mm Hg (diastólica) e 160 mm Hg (sistólica) – Sociedade Brasileira de Cardiologia (2010). O eletrocardiograma foi obtido em repouso com o registro de no mínimo 3 complexos para cada uma das doze derivações clássicas mais D2 longo no caso de arritmias. A leitura do ECG foi realizada considerando normais as frequências de 60 a 120 bpm e as arritmias sinusais (NYHA 1973). Para obtenção das imagens ecocardiográficas no campo utilizou-se um equipamento portátil marca VIVID I do fabricante GE. O exame ecocardiográfico, cujo os dados foram registrados em ficha específica incluiu cortes convencionais paraesternais, supra esternais, apicais e subcostais e variações dos cortes convencionais, com o objetivo de identificar alterações segmentares localizadas (geralmente pequenos aneurismas). A função sistólica global do ventrículo esquerdo (VE) foi avaliada ao modo M através do cálculo da fração de ejeção segundo Teicholz et al (1976) e ao bidimensional especialmente pelo caráter segmentar do acometimento miocárdico na doença de Chagas. O tipo de acometimento miocárdico foi definido como segmentar quando em pelo menos um segmento o déficit contrátil era significativamente mais acentuado do que nos demais, ou difuso quando todos os segmentos apresentavam déficit contrátil semelhante. Na análise segmentar foi utilizado o modelo de 16 segmentos preconizado pela Sociedade Americana de Ecocardiografia (Schiller et al 1989) e os segmentos foram classificados como normais, hipocinéticos, acinéticos e discinéticos (aneurismas) de acordo com os critérios convencionais. Com base nos resultados do ECG e do ECO, os Consensos Brasileiros em Doença de Chagas

(2005, 2015) definem a insuficiência cardíaca na cardiopatia chagásica crônica nos estádios a seguir (Tabela 5), os quais adotamos na análise evolutiva.

Tabela 5. Estadiamento do comprometimento miocárdico na cardiopatia chagásica crônica.

Estádios	Eletrocardiograma	Ecocardiograma	Insuficiência cardíaca
A	Alterado	Normal	Ausente
B1	Alterado	Alterado FEVE* $\geq 45\%$	Ausente
B2	Alterado	Alterado FEVE $< 45\%$	Ausente
C	Alterado	Alterado	Compensável
D	Alterado	Alterado	Refratária

*FEVE = fração de ejeção do ventrículo esquerdo

Consideramos os seguintes tipos de evolução para a cardiopatia: *evolução inalterada* - quando não houver mudança no padrão eletrocardiográfico e ecocardiográfico; *evolução progressiva* - quando o ECG e/ou o ECO migrar de normal para alterado ou houver agravamento do padrão inicial e *evolução regressiva* - quando houver normalização ou redução do padrão de gravidade no ECG e/ou do ECO.

3.6. Controle de efeitos colaterais ao tratamento

Durante o tratamento com benznidazol os efeitos colaterais foram monitorados por avaliação clínica e hemogramas. A avaliação clínica foi realizada por médicos do Programa de Saúde da Família do município capacitados pelos responsáveis pelo projeto, diante de demanda livre de cada paciente, ou seja, queixar-se de manifestações dermatológicas, digestivas e/ou neurológicas assinaladas no anexo 3. Sendo condição para a suspensão do tratamento, temporária ou definitiva, a presença de exantemas bolhosos.

Os hemogramas foram realizados, obrigatoriamente 20 a 30 dias após início da medicação, anualmente. Todos os hemogramas resultaram de processamento automatizado com equipamento marca APX Micros 60 pelo método de citometria de fluxo com valores de referência adotados de acordo com Nicoll et al (2007). Todos os resultados foram transmitidos via e-mail para nossa avaliação e tomada de decisão sobre a permanência ou interrupção do tratamento. A presença de leucopenia com neutropenia ou de agranulocitose foram condições para suspensão, temporária ou definitiva, do tratamento.

3.7. Análises estatísticas

O estudo é descritivo, experimental, longitudinal de coorte, no qual se deseja avaliar o impacto do benznidazol nos níveis séricos de Ig G anti-*Trypanosoma cruzi*, na

parasitemia e na cardiopatia. Os dados foram inseridos no programa Excel e analisados em parte pelo programa Epi-info 7.0. Para atender os objetivos consideramos 5% como nível de significância ($p \leq 0,05$). De acordo com o objetivo da avaliação foram adotados os resultados do teste qui-quadrado Mantel-Haenszel e exato de Fisher para comparar os percentuais de positividade da parasitemia e da cardiopatia; análise de variância para comparar as médias de Ig G anti-*Trypanosoma cruzi* e método de Sheps (1959) para estimar a proporção de participação da hipertensão arterial na prevalência de cardiopatia.

3.8. Aspectos éticos

Esta proposta é parte integrante do projeto: “Estudos seccionais e longitudinais sobre a doença de Chagas em diferentes áreas endêmicas do Brasil” apresentado e aprovado pelo CNPq e instalado no município de Virgem da Lapa em 1975, pelos Prof. José Rodrigues Coura e Dr. Luc Elza Dubois. A atual proposta foi apresentada ao CEP FIOCRUZ em 27/12/2012 e aprovada em 17/06/2013 com parecer nº 304.607(anexo 3). Ressalte-se que somente integrou o trabalho o paciente que aceitou livremente realizar os procedimentos propostos e assinou o “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” (anexo 4).

3.9. Critérios de inclusão

Ser morador (a) do município de Virgem da Lapa-MG; ser soropositivo (a) para anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* pelas técnicas de IFI e ELISA; estar dentro dos critérios de seleção estabelecidos no Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (2005); aceitar participar da pesquisa; assinar termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE); não ter sido tratado com benznidazol anteriormente ao presente estudo.

3.10. Critérios de exclusão

Apresentar-se com insuficiência cardíaca, lesões cardíacas associadas à outras doenças, alterações hepáticas e renais, alcoolismo, gravidez, lactação.

4. RESULTADOS

4.1. Pacientes

Dos 150 pacientes sorteados para esse trabalho (50 do grupo BZ1T, 50 do grupo BZ2T e 50 do grupo BZ3T), 129 (86%) concluíram e 21 (14%) não concluíram todos os procedimentos estabelecidos no protocolo da investigação (Tabela 6), redução essa expressiva, diante do curto tempo de 3,3 anos de estudo, ou seja, média anual de redução de 7 (4,6%) pacientes. Em relação ao sexo, dos 129 pacientes que completaram a pesquisa, 85 (65,9%) são mulheres e 44 (34,1%) são homens (Tabela 7).

Dos 129 pacientes que concluíram o estudo, 45 são do grupo BZ1T, 47 do grupo BZ2T e 37 do grupo BZ3T, números que mostram a menor participação dos pacientes do grupo BZ3T de modo significativo, em comparação com os pacientes dos grupos BZ1T ($X^2 = 7.36$; $p = 0,006$) e BZ2T ($X^2 = 4.29$; $p = 0,03$) (Tabela 6).

Entre os 21 (14%) pacientes que não concluíram os procedimentos, o que consideramos abandono, 11 migraram para outras regiões e 10 desistiram do tratamento, sendo 3 sem explicações e 7 alegando medo de novos efeitos colaterais (todos de BZ3T).

Tabela 6. Histórico dos pacientes integrantes do estudo sobre o tratamento com benznidazol em Virgem da Lapa-MG, no período de 3,3 anos (2013-2016)

Histórico dos pacientes	Grupos de tratamento*			
	BZ1T	BZ2T	BZ3T	Total
Concluíram o estudo	45 (90%)	47 (94%)	37 (74%)	129 (86%)
Migraram	3 (6%)	2 (4%)	6 (12%)	11 (7,3%)
Desistiram	2 (4%)	1 (2%)	7 (14%)	10 (6,7%)
Total	50 (100%)	50 (100%)	50 (100%)	150 (100%)

*BZ1T- um tratamento com benznidazol, BZ2T-dois tratamentos com benznidazol e BZ3T- três tratamentos com benznidazol; Análises: (37 vs 47: $X^2 = 7.36$; $p = 0,006$) - (37 vs 45: $X^2 = 4.29$; $p = 0,03$)

A análise dos dados expressos na Tabela 7 mostra que: o percentual de mulheres é significativamente maior que o de homens no total e nos grupos de pacientes BZ1T, BZ2T e BZ3T; o percentual de moradores na zona rural é significativamente maior do que o de moradores na zona urbana (sede do município); o percentual de alfabetizados é significativamente maior que o de analfabetos; o percentual de pacientes não

aposentados é significativamente maior que o de pacientes aposentados; o percentual de casados é significativamente maior que o de não casados; o percentual de não fumantes é significativamente maior que o de fumantes e o percentual dos que não ingerem bebidas alcoólicas é significativamente maior do que os que ingerem. Em relação aos grupos etários, observa-se que no grupo BZ3T não há diferença significativa nos percentuais de pacientes com mais de 50 anos e com igual ou menos de 50 anos e, em relação a cor da pele, observa-se predomínio de não-brancos nos grupos BZ2T e BZ3T e diferença não significativa nos percentuais de não-brancos e brancos no grupo BZ1T.

A distribuição dos pacientes de acordo com a moradia nas localidades rurais do município (Tabela 8), mostra maior número de participantes das localidades de São João do Vacarias, Rosário e Bravo, distantes 42 km, 6 km e 16 Km da sede do município, respectivamente. Ressalte-se a importante participação de moradores das comunidades Quilombolas de Virgem da Lapa.

No conjunto das profissões ou atividades laborativas (Figura 8) observa-se o predomínio significativo da atividade na lavoura, mesmo sendo o município integrante do polígono das secas.

Tabela 7. Distribuição dos grupos de pacientes portadores da doença de Chagas crônica submetidos ao tratamento com benznidazol, de acordo com as variáveis demográficas e sociais, Virgem da Lapa- MG, 2013-2016

<i>Variáveis demográficas e sociais</i>	Grupo BZ1T (n=45)	Grupo BZ2T (n=47)	Grupo BZ3T (n=37)	TOTAL** (n=129)	Análise estatística p ≤ 0,05**
	Num (%)	Num (%)	Num (%)	Num (%)	
Gênero					
Feminino	30 (66,7)	30 (63,8)	25 (67,6)	85 (65,9)	Sim
Masculino	15 (33,3)	17 (36,2)	12 (32,4)	44 (34,1)	
Faixa etária (anos)					
≤ 50	11 (24,4)	20 (42,5)	18 (48,6)	49 (38,0)	
> 50	34 (65,6)	27 (57,5)	19 (51,4)	80 (62,0)	Sim
Cor da pele					
Branca	22 (48,9)	14 (29,8)	6 (16,2)	42 (32,5)	
Não-branca	23 (51,1)	33 (70,2)	31 (83,8)	87 (67,5)	Sim
Profissão					
Aposentados/pensionistas	9 (20,0)	4(29,8)	6 (16,2)	29 (22,5)	
Não aposentados	36 (80,0)	33 (70,2)	31 (83,8)	100 (77,5)	Sim
Escolaridade					
Alfabetizados	28 (62,2)	33 (70,2)	22 (59,4)	83 (64,3)	Sim
Não alfabetizados	17 (37,8)	14 (29,8)	15 (40,6)	46 (35,7)	
Moradia					
Zona Rural	39 (86,7)	38 (80,8)	31 (83,8)	108 (83,7)	Sim
Zona Urbana	6 (13,3)	9 (19,2)	6 (16,2)	21 (16,3)	
Estado civil					
Casados	36 (80,0)	38 (80,8)	29 (78,4)	103 (79,8)	Sim
Não casados	9 (20,0)	9 (19,2)	8 (21,6)	26 (20,2)	
Tabagismo					
Não	43 (95,5)	44 (93,6)	36 (97,3)	123 (95,3)	Sim
Sim	2 (4,5)	3 (6,4)	1 (2,7)	6 (4,7)	
Etilismo					
Não	42 (93,3)	44 (93,6)	34 (91,9)	120 (93,0)	Sim
Sim	3 (6,7)	3 (6,4)	3 (8,1)	9 (7,0)	

*BZ1T- um tratamento com benznidazol, BZ2T- dois tratamentos com benznidazol e BZ3T - três tratamentos com benznidazol, ** Teste qui-quadrado

Tabela 8. Distribuição dos pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa-MG, tratados com benznidazol no período de 2013-2016, de acordo com a comunidade rural de moradia

<i>COMUNIDADES RURAIS</i>	Grupos de pacientes			
	BZ1T	BZ2T	BZ3T	TOTAL
<i>Almas – Quilombola</i>	0	0	1	1
<i>Barbosa</i>	2	2	0	4
<i>Bravo</i>	5	2	3	10
<i>Buriti</i>	0	2	0	2
<i>Burú</i>	2	0	0	2
<i>Cansanção</i>	3	0	3	6
<i>Chácara</i>	1	0	0	1
<i>Córrego Bonito</i>	0	1	0	1
<i>Curral Novo- Quilombola</i>	1	1	1	3
<i>Funil</i>	1	1	0	2
<i>Gravatá – Quilombola</i>	2	1	2	5
<i>Lambari</i>	1	0	0	1
<i>Malhada Branca</i>	2	2	0	4
<i>Marimbondo - Quilombola</i>	2	5	0	7
<i>Onça do meio - Quilombola</i>	0	1	2	3
<i>Paiol</i>	0	1	0	1
<i>Piedade</i>	2	1	2	5
<i>Rosário – Quilombola</i>	5	2	4	11
<i>Santa Rita</i>	0	1	1	2
<i>Santana</i>	4	2	2	8
<i>Sapé</i>	0	1	1	2
<i>Tamanduá</i>	0	2	1	3
<i>São João do Vacarias</i>	4	6	7	17
<i>Vai-vi</i>	2	4	1	7
TOTAL	39	38	31	108

*BZ1T - um tratamento com benznidazol, BZ2T - dois tratamentos com benznidazol e BZ3T - três tratamentos com benznidazol

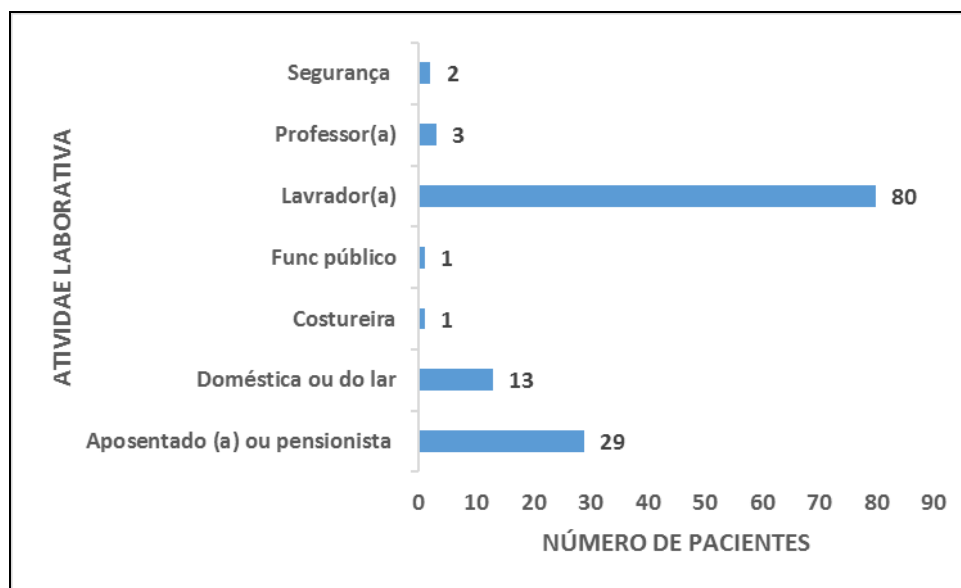


Figura 8. Distribuição dos pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa-MG, tratados com benznidazol no período de 2013-2016, de acordo com a atividade laborativa

4.2. Avaliação dos níveis séricos de Ig G anti-*Trypanosoma cruzi*

4.2.1. Imunofluorescência indireta (IFI). No total de 129 pacientes examinados, o teste mostrou-se positivo ou reagente em todas as amostras coletadas pré-tratamento em 2013 (Figura 9), enquanto no pós-tratamento em 2016 (Figura 10), o teste mostrou-se negativo ou não reagente (soronegativação) em amostras de 2 (1,5%) pacientes: ambos do grupo BZ2T (Tabela 11). Na análise evolutiva das médias dos inversos dos títulos de Ig G anti-*T. cruzi* no total de soros coletados nos momentos pré-tratamento (691 ± 583) e pós-tratamento (414 ± 423) configurou-se uma queda significativa dos níveis dessas imunoglobulinas nesse período ($p < 0,05$) (Figura 11). Considerando-se a evolução das médias dos inversos dos títulos em cada grupo de tratamento com benznidazol foram identificadas, respectivamente, nos momentos pré e pós-tratamentos, as médias de 809 ± 506 e 480 ± 347 ($p = 0,0005$) entre os pacientes do grupo BZ1T; de 590 ± 578 e 370 ± 434 ($p = 0,03$) entre os pacientes de BZ2T e de 677 ± 504 e 387 ± 318 ($p = 0,004$) entre os pacientes de BZ3T, indicando uma queda significativa dos níveis desses anticorpos em todos os grupos de pacientes (Figura 12). Por outro lado, ao considerar-se o tipo de evolução dos títulos de Ig G anti-*T. cruzi* nos grupos de tratamento com benznidazol, observa-se tendência de maior percentual de pacientes com regressão dos títulos no grupo BZ3T, sem atingir nível de significância estatística ($p = 0,55$) (Tabela 9).

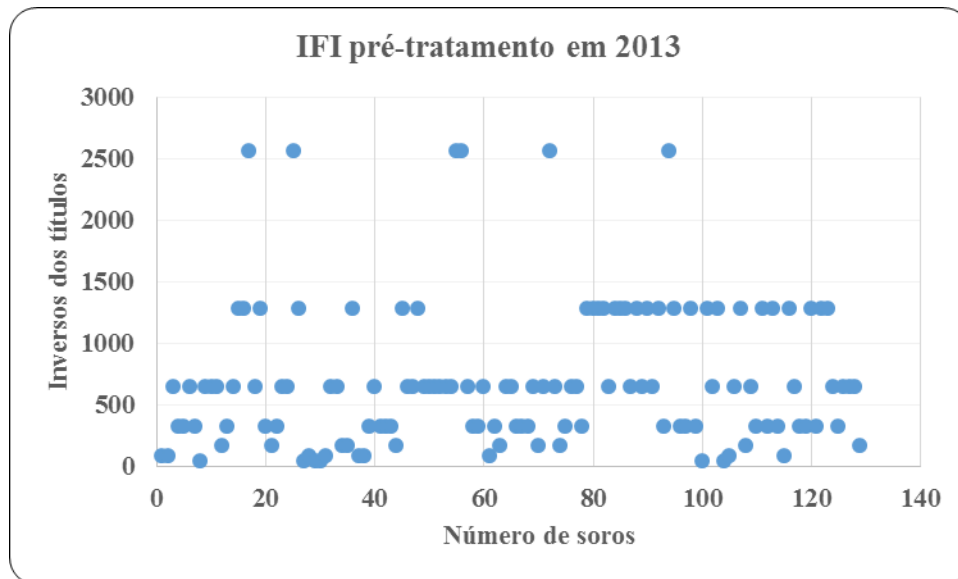


Figura 9. IFI - distribuição dos inversos dos títulos de IgG anti-*T. cruzi* em soros da fase pré-tratamento com benznidazol de 129 pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa-MG

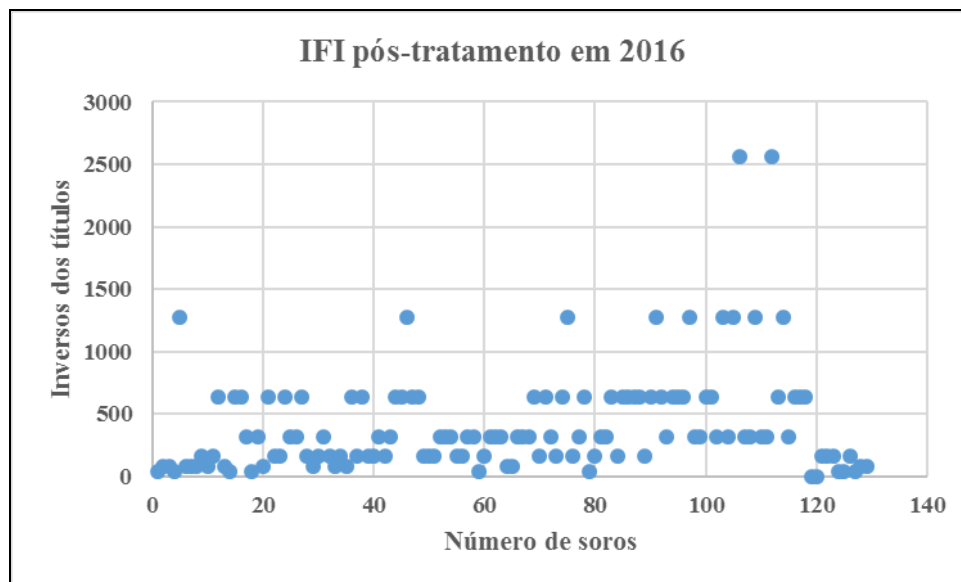


Figura 10. IFI - distribuição dos inversos dos títulos de IgG anti-*T. cruzi* em soros da fase pós-tratamento com benznidazol de 129 pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa-MG

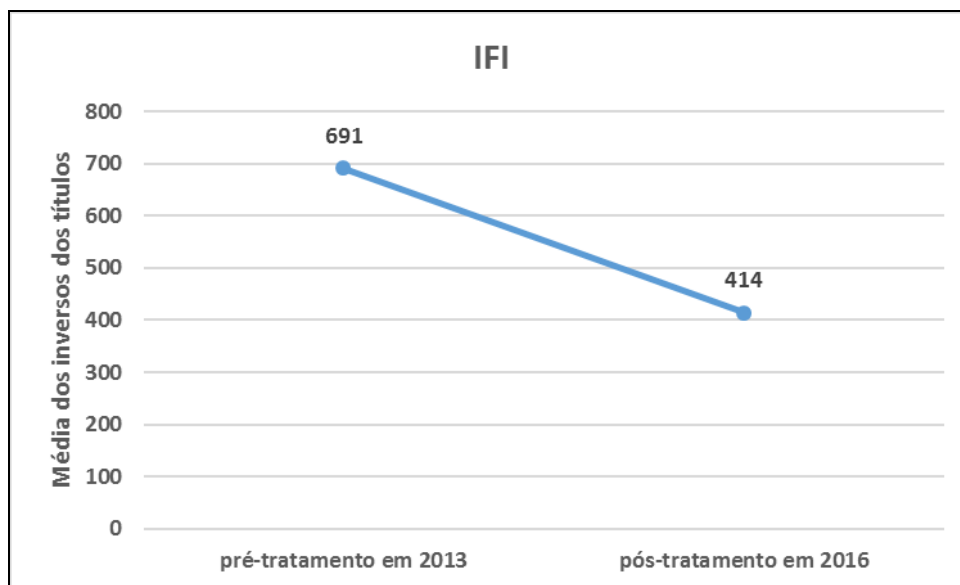


Figura 11. IFI - evolução das médias dos inversos dos títulos de Ig G anti-*T. cruzi* em soros de 129 pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da, Lapa-MG, 2013-2016

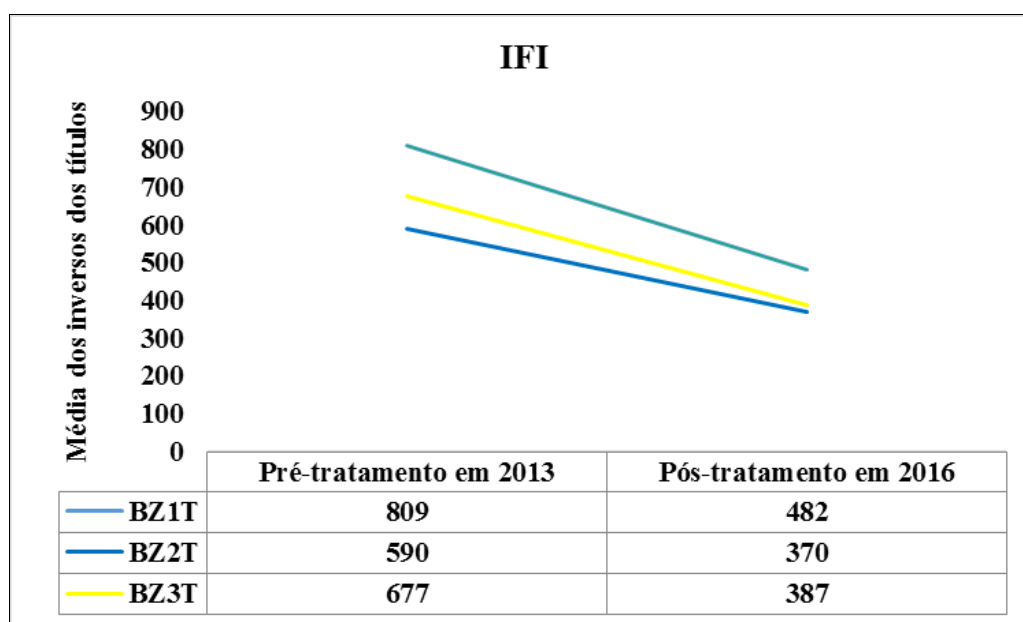


Figura 12. IFI - médias dos inversos dos títulos de Ig G anti-*T. cruzi* identificadas em soros de pacientes chagásicos crônicos, de acordo com os grupos de tratamento com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016. BZ1T- um tratamento com benznidazol, BZ2T-dois tratamentos com benznidazol e BZ3T- três tratamentos com benznidazol

Tabela 9. IFI - tipos de evolução sorológica de acordo com os títulos de Ig G anti-*T. cruzi* identificadas em soros de pacientes tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016

Grupos de Tratamentos	Tipos de evolução sorológica pela IFI			Total de pacientes
	Inalterada	Regressiva*	Progressiva	
BZ1T	32 (71%)	12 (27%)	1 (2%)	45
BZ2T	30 (64%)	14 (30%)	3 (6%)	47
BZ3T	23 (62%)	13 (35%)	1 (3%)	37
TOTAL	85 (66%)	39 (30%)	5 (4%)	129

BZ1T- um tratamento com benznidazol, BZ2T-dois tratamentos com benznidazol e BZ3T- três tratamentos com benznidazol, * ($p = 0,55$).

4.2.2. Ensaio imunoenzimático-ELISA. No total de 129 pacientes examinados o teste se mostrou positivo ou reagente nas amostras de todos os pacientes coletadas no pré-tratamento (Figura 13), enquanto no pós-tratamento, o teste mostrou-se negativo ou não-reagente (soronegativação) em amostras de soros de 4 (3,1%) pacientes, todos do grupo BZ2T (Figura 14 / Tabela 11), ou seja, com densidade óptica abaixo do ponto de corte (“cut-off”). A análise das médias das densidades ópticas do total de amostras nas fases pré (2.447 ± 351) e pós-tratamento (2.550 ± 509) ($p = 0,06$), indica diferença estatisticamente não significativa (Figura 15), do mesmo modo que o observado na análise das médias pré e pós-tratamentos, respectivas, nos grupos específicos: BZ1T (2.431 ± 373 e 2.553 ± 483 ; $p = 0,18$); BZ2T (2.424 ± 384 e 2.486 ± 505 ; $p = 0,50$) e BZ3T (2.494 ± 278 e 2.617 ± 547 ; $p = 0,22$), apesar da tendência de aumento das médias no período do estudo (Figura 16).

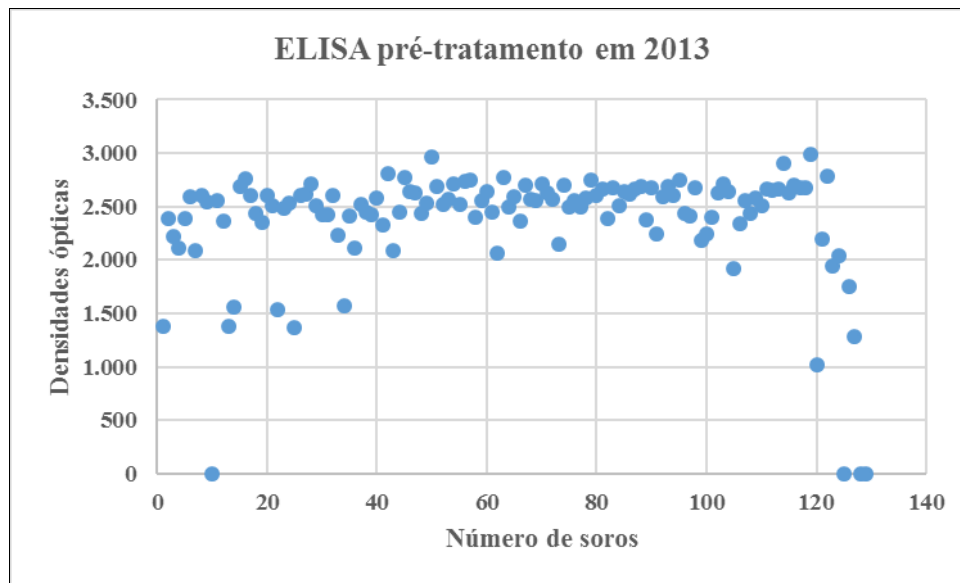


Figura 13. ELISA - distribuição das densidades ópticas de Ig G anti-*T. cruzi* em soros da fase pré-tratamento com benznidazol de 129 pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa-MG

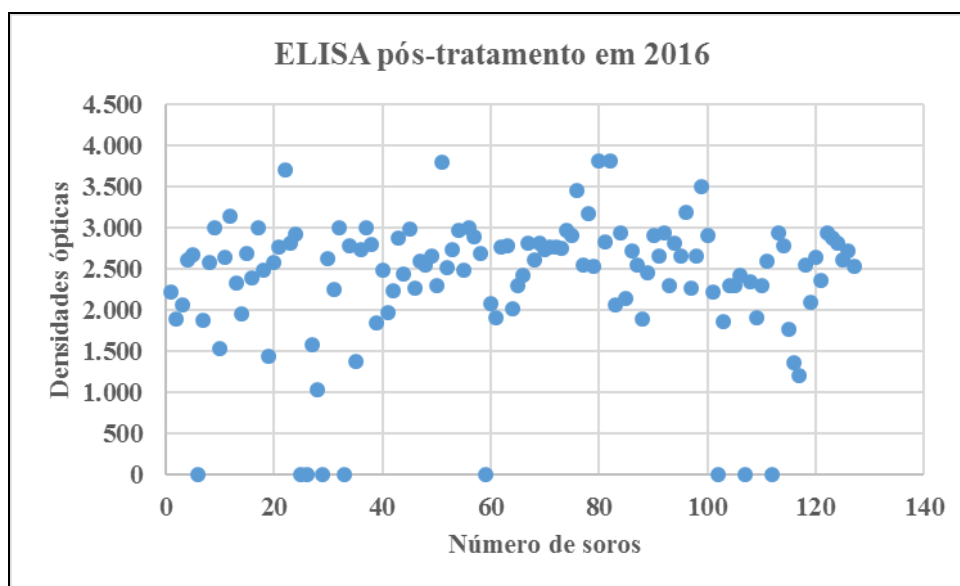


Figura 14. ELISA - distribuição das densidades ópticas de Ig G anti-*T. cruzi* em soros da fase pós-tratamento com benznidazol de 129 pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa-MG

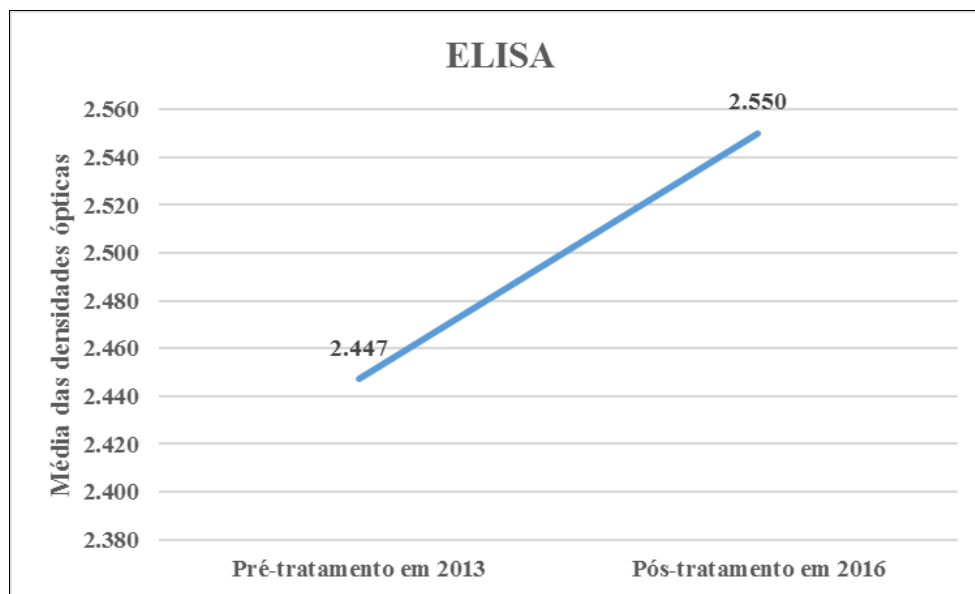


Figura 15. ELISA - médias das densidades ópticas de Ig G anti-*T. cruzi* identificadas em soros obtidos pré e pós-tratamento de 129 pacientes chagásicos crônicos com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016

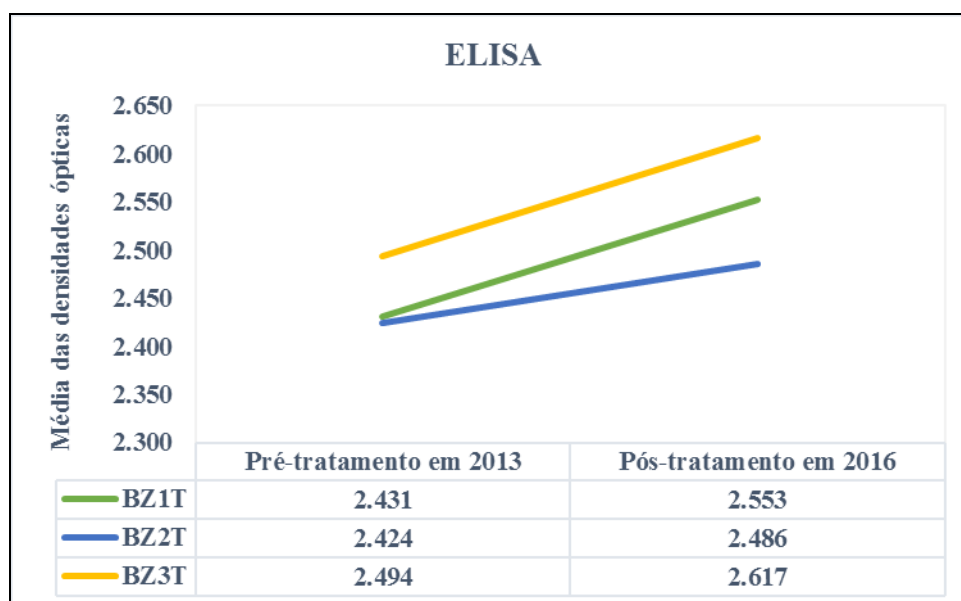


Figura 16. ELISA -evolução das médias das densidades ópticas medidas em soros de pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016. BZ1T- um tratamento com benznidazol, BZ2T-dois tratamentos com benznidazol e BZ3T- três tratamentos com benznidazol

Considerando-se a evolução das médias das densidades ópticas das amostras entre os pacientes de cada grupo (Tabela 10), não se verifica diferença significativa no percentual de pacientes com regressão em função do número de tratamentos ($p = 0,15$).

Considerando a regressão dos níveis de Ig G no total de 129 pacientes, verifica-se percentual de pacientes significativamente maior no teste de IFI (30%) em comparação com o teste de ELISA (7%) ($X^2 = 22,9$; $p = 0,000001$), indicando que a IFI apresenta maior sensibilidade para identificar regressão dos níveis de Ig G anti-*T. cruzi*, no tempo de investigação desse estudo.

Tabela 10. ELISA* - tipos de evolução sorológica das densidades ópticas de Ig G anti-*T. cruzi* identificadas em soros de pacientes tratados com benznidazol no período de 2013-2016, Virgem da Lapa-MG

Grupos de Tratamentos**	Tipos de evolução sorológica pela ELISA			Total de pacientes
	Inalterada	Regressiva [#]	Progressiva	
BZ1T	40 (89%)	2 (4,4%)	3 (6,6%)	45
BZ2T	40 (85%)	6 (12,8%)	1 (2,1%)	47
BZ3T	36 (97,3%)	1 (2,7%)	0 (...)	37
TOTAL	116 (90%)	9 (7%)	4 (3%)	129

*fabricante Wiener 3.0 **BZ1T- um tratamento com benznidazol, BZ2T- dois tratamentos com benznidazol e BZ3T- três tratamentos com benznidazol; [#] $p = 0,15$

Tabela 11. Características dos pacientes com soronegativação no período 2013-2016, Virgem da Lapa-MG

Grupo	Reg	Sexo	Idade	Cor	IFI.i	ELISA.i	IFI.f	ELISA.f	Card/Evo
BZ2T	2777	F	48	Mulata	Pos	Pos	Neg	Neg	Sim/ Inalt
BZ2T	3557	F	51	Branca	Pos	Pos	Pos	Neg	Sim/ Inalt
BZ2T	4207	F	44	Mulata	Pos	Pos	Pos	Neg	Não / Inalt
BZ2T	5105	F	63	Branca	Pos	Pos	Neg	Neg	Não / Inalt

BZ2T- dois tratamentos com benznidazol, Reg = registro, i = inicial, f = final, Evo = evolução; Card = cardiopatia; Inalt = inalterada

4.3. Avaliação da parasitemia

4.3.1. Reação em cadeia da polimerase (PCR) – Do total de 129 pacientes com amostras de sangue examinadas, a PCR apresentou-se positiva em 44 (34,1%) amostras da fase pré-tratamento, sendo 19 (42,2%) entre os 45 pacientes do grupo BZ1T, 13 (27,6%) entre os 47 pacientes do grupo BZ2T e 12 (32,4%) entre os 37 pacientes do grupo BZ3T ($X^2 = 0,82$; $p = 0,36$), enquanto na fase pós-tratamento todas as amostras foram negativas, indicando negativação da parasitemia pós-tratamento com benznidazol, no tempo de 3,3 anos do presente estudo em decorrência da eficácia da droga. A Figura 17 exibe imagem revelada de gel de agarose com amostras de sangue negativas e positivas para Chagas.

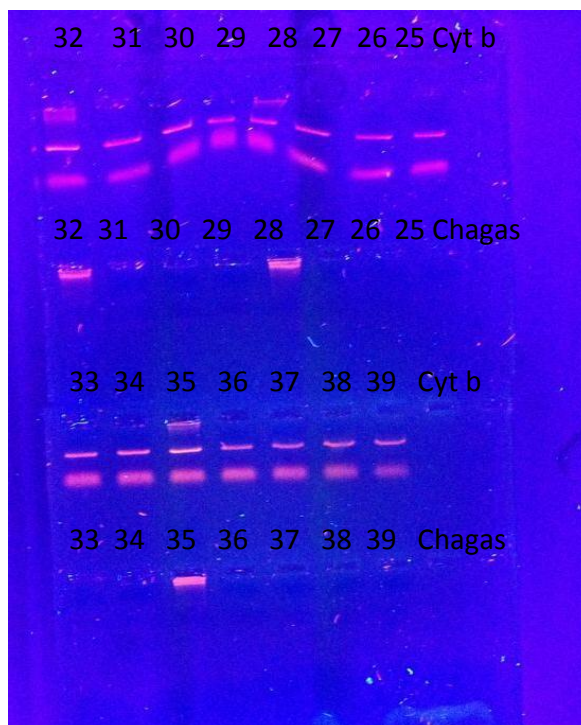


Figura 17. Gel de agarose demonstrando na primeira e terceira linha a qualidade do DNA por *Citocromo b* e as reações das mesmas amostras com os *primers* específicos para Chagas, na segunda e quarta linha. Neste gel, obtivemos resultados positivos para as amostras 28, 32 e 35 coletadas na fase pré-tratamento com benznidazol em 2013.

4.4. Avaliação da cardiopatia

4.4.1. Manifestações clínicas cardiovasculares (MCCV) – No total de 129 pacientes examinados, 20 (15,5%) apresentaram-se com sinais e sintomas nas fases pré e pós-tratamento com benznidazol. Considerando a ocorrência de sinais e sintomas cardiovasculares em cada grupo de pacientes tratados com benznidazol, observou-se: 5 (11,1%) pacientes sintomáticos em BZ1T nas duas fases, 11 (23,4%) pacientes sintomáticos na fase pré-tratamento e 9 (19,1%) pacientes sintomáticos na fase pós-tratamento no grupo BZ2T ($X^2 = 0,25$; $p = 0,61$) e 4 (10,8%) pacientes sintomáticos na fase pré-tratamento e 6 (16,2%) na fase pós-tratamento no grupo BZ3T ($X^2 = 0,46$; $p = 0,49$) (Figura 18), diferenças essas estatisticamente não significativas, indicando que durante o período desse estudo não houve variação significativa na prevalência de pacientes sintomáticos independentemente do número de tratamentos com benznidazol.

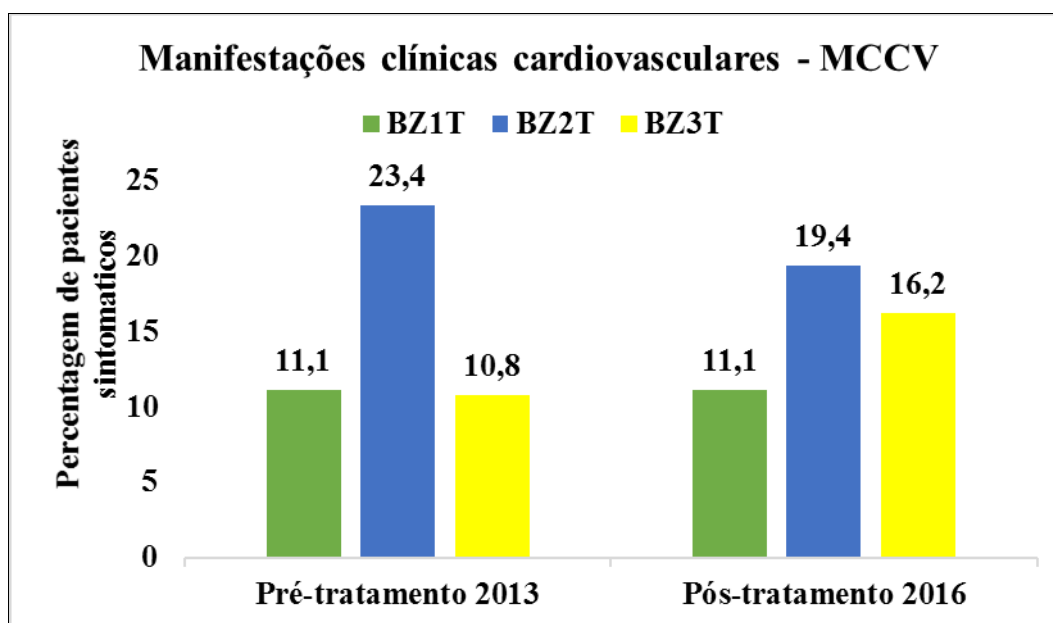


Figura 18. Percentagem de pacientes chagásicos crônicos com manifestações clínicas cardiovasculares (MCCV), de acordo com o grupo de tratamento com benznidazol. Virgem da Lapa, MG, 2013-2016. BZ1T- um tratamento com benznidazol, BZ2T-dois tratamentos com benznidazol e BZ3T- três tratamentos com benznidazol

Considerando o total de manifestações clínicas cardiovasculares (MCCV) entre os 129 pacientes avaliados, observou-se 45 (34,9%) tipos de MCCV na fase pré-tratamento e 37 (28,7%) tipos na fase pós-tratamento, indicando uma redução de MCCV no período estudado, sem significância estatística ($X^2 = 1,13$; $p = 0,28$).

Considerando a ocorrência de MCCV nos pacientes de cada grupo de tratamento com benznidazol, observou-se 8 (17,8%) e 4 (8,9%) tipos de MCCV entre os 45 pacientes do grupo BZ1T ($X^2 = 1,52$; $p = 0,21$), nas fases pré e pós-tratamento, respectivamente; 28 (59,6%) e 24 (51,1%) tipos de MCCV entre os 47 pacientes de BZ2T ($X^2 = 0,68$; $p = 0,40$), nas fases pré e pós-tratamento, respectivamente, e 9 (24,3%) tipos de MCCV entre os 37 pacientes de BZ3T, nas fases pré e pós-tratamentos, diferentes percentuais sem significância estatística.

No total de pacientes e em cada grupo de tratamento, a dispnéia aos esforços e o desdobramento de B2 foram as manifestações mais frequentemente referidas pelos pacientes (Tabela 12).

Tabela 12. Frequência das manifestações clínicas cardiovasculares (MCCV) nos grupos de pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS*	GRUPOS DE PACIENTES NAS FASES PRÉ E PÓS-TRATAMENTOS**								AE*** X ² ; (p ≤ 0,05)
	BZ1T PRÉ	BZ1T PÓS	BZ2T PRÉ	BZ2T PÓS	BZ3T PRÉ	BZ3T PÓS	TOTAL PRÉ	TOTAL PÓS	
Arritmia a ausculta	1 (2,2%)	0 (...)	7 (14,9%)	5 (10,6%)	0 (...)	0 (...)	8 (6,2%)	5 (3,9%)	Não
Desdobramento de B2	1 (2,2%)	0 (...)	4 (8,5%)	5 (10,6%)	3 (8,1%)	3 (8,1%)	8 (6,2%)	8 (6,2%)	Não
Dispneia aos esforços	2 (4,4%)	2 (4,4%)	8 (17,0%)	5 (10,6%)	3 (8,1%)	3 (8,1%)	13 (10,1%)	10 (7,7%)	Não
Dispneia em repouso	0 (...)	0 (...)	1 (2,1%)	2 (4,2%)	0 (...)	0 (...)	1 (0,8%)	2 (1,5%)	Não
Dor precordial aos esforços	0 (...)	0 (...)	0 (...)	1 (2,1%)	1 (2,7%)	1 (2,7%)	1 (0,8%)	2 (1,5%)	Não
Hiperfonese de bulhas	1 (2,2%)	0 (...)	0 (...)	0 (...)	0 (...)	0 (...)	1 (0,8%)	0 (...)	Não
Palpitações aos esforços	1 (2,2%)	0 (...)	4 (8,5%)	1 (2,1%)	0 (...)	0 (...)	5 (3,9%)	1 (0,8%)	Não
Palpitações em repouso	2 (4,4%)	2 (4,4%)	2 (4,3%)	3 (6,4%)	2 (5,4%)	2 (5,4%)	6 (4,6%)	7 (5,4%)	Não
Sopro sistólico	0 (...)	0 (...)	2 (4,3%)	2 (4,2%)	0 (...)	0 (...)	2 (1,5%)	2 (1,5%)	Não

*Podem estar associadas um mesmo paciente; ** BZ1T - um tratamento com benznidazol, BZ2T- dois tratamentos com benznidazol e BZ3T - três tratamentos com benznidazol; *** AE = análise estatística

4.4.2. Avaliação eletrocardiográfica. No total de 129 pacientes examinados, 98 (76,0%) pacientes apresentaram ECG alterado na fase pré-tratamento e 96 (74,4%) pacientes apresentaram o ECG alterado na fase pós-tratamento, indicando redução na prevalência de pacientes com ECG alterado, sem significância estatística ($X^2 = 0,08$; $p = 0,77$).

Considerando o número de pacientes com ECG alterados em cada grupo de tratamento com benznidazol, observou-se 33 (73,3%) e 31 (68,9%) pacientes com ECG alterados nas fases pré e pós-tratamento, respectivamente, entre os 45 pacientes do grupo BZ1T (33 vs 31, $X^2 = 0,21$; $p = 0,64$); 35 (74,5%) pacientes com ECG alterados entre os 47 pacientes do grupo BZ2T, tanto na fase pré como na fase pós-tratamento, 30 (81,1%) pacientes com ECG alterados entre os 37 pacientes do grupo BZ3T, tanto na fase pré como na fase pós-tratamento, diferenças essas estatisticamente não significativas, indicando que no período desse estudo, não houve variação significativa na prevalência de pacientes com ECG alterados, nos grupos com um, dois ou três tratamentos com benznidazol.

Considerando o total de alterações eletrocardiográficas entre os 129 pacientes avaliados nas fases pré e pós-tratamento, observou-se, respectivamente, 176 e 211 alterações, indicando aumento significativo de alterações eletrocardiográficas no intervalo considerado ($X^2 = 18,91$; $p = 0,000001$).

Considerando o total de alterações eletrocardiográficas nos grupos de tratamento com benznidazol nas fases pré e pós-tratamento, observou-se, respectivamente, 59 e 65 alterações entre os 45 pacientes de BZ1T ($X^2 = 1,68$; $p = 0,19$); 62 e 78 alterações entre os 47 pacientes de BZ2T ($X^2 = 10,78$; $p = 0,001$) e 55 e 68 alterações entre os 37 pacientes de BZ3T ($X^2 = 10,07$; $p = 0,001$), indicando aumento de alterações nos três grupos de tratamento, sendo estatisticamente significativo entre os pacientes de BZ2T e de BZ3T (Figura 19).

Em ambas as fases pré e pós-tratamento, tanto do total de pacientes como nos grupos de tratamento, as alterações eletrocardiográficas com maiores prevalências foram: alteração primária da repolarização ventricular (APRV), bloqueio completo do ramo direito (BRD III), hemibloqueio anterior esquerdo (HBAE) e desvio do eixo elétrico do complexo QRS para esquerda (Tabela 13).

As alterações eletrocardiográficas que mais incidiram entre os pacientes dos grupos de tratamentos com benznidazol, foram extra-sístoles ventriculares, desvio do eixo elétrico para esquerda, bradicardia sinusal e alteração primária da repolarização ventricular ocorrendo com maior frequência nos grupos BZ2T e BZ3T (Tabela 13).

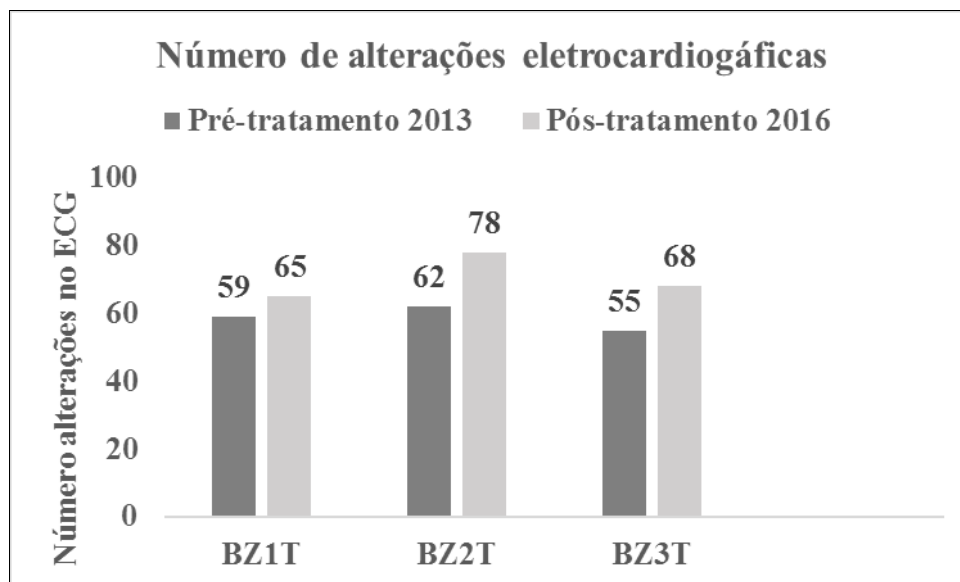


Figura 19. Número de alterações eletrocardiográficas pré e pós-tratamento com benznidazol de pacientes chagásicos crônicos de Virgem da Lapa-MG, de acordo com os grupos de tratamento. *BZ1T* - um tratamento com benznidazol, *BZ2T*- dois tratamentos com benznidazol e *BZ3T* - três tratamentos com benznidazol

Tabela 13. Frequência das alterações eletrocardiográficas nos grupos de pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016

ALTERAÇÕES ELETROCARDIOGRÁFICAS*	GRUPO DE TRATAMENTO COM BENZNIDAZOL						TOTAL PRÉ**	TOTAL PÓS**
	BZ1T PRÉ	BZ1T PÓS	BZ2T PRÉ	BZ2T PÓS	BZ3T PRÉ	BZ3T PÓS		
Alteração difusa da RV	1 (2,2%)	1 (2,2%)	0 (...)	1 (2,1%)	0 (...)	0 (...)	1 (0,8%)	2 (1,5%)
Alteração primária segmentar da RV	12 (26,7%)	12 (26,7%)	16 (34,0%)	16 (34,0%)	12 (32,4%)	14 (37,8%)	40 (31,0%)	42 (32,5%)
Baixa voltagem do QRS	0 (...)	2 (4,4%)	2 (4,2%)	0 (...)	1 (2,7%)	1 (2,7%)	3 (2,3%)	3 (2,3%)
Bloqueio AV grau I	5 (11,1%)	4 (8,9%)	1 (2,1%)	2 (4,2%)	2 (4,2%)	2 (4,2%)	8 (6,2%)	8 (6,2%)
Bloqueio AV grau II	0 (...)	0 (...)	0 (...)	0 (...)	1 (2,7%)	1 (2,7%)	1 (0,8%)	1 (0,8%)
Bloqueio de RD grau I	2 (4,4%)	2 (4,4%)	1 (2,1%)	1 (2,1%)	0 (...)	0 (...)	3 (2,3%)	3 (2,3%)
Bloqueio de RD grau III	12 (26,7%)	12 (26,7%)	14 (29,8%)	14 (29,8%)	16 (43,2%)	17 (45,9%)	42 (32,5%)	43 (33,3%)
Bradicardia sinusal	2 (4,4%)	2 (4,4%)	3 (6,4%)	5 (10,6%)	3 (8,1%)	5 (13,5%)	8 (6,2%)	12 (9,3%)
Desvio do Eixo elétrico para esquerda	7 (15,5%)	9 (20,0%)	3 (6,4%)	6 (12,8%)	1 (2,7%)	3 (8,1%)	11 (8,5%)	18 (13,9%)
Extra-sístole ventricular bigeminada	0 (...)	1 (2,2%)	0 (...)	0 (...)	1 (2,7%)	2 (5,4%)	1 (0,8%)	3 (2,3%)
Extra-sístole ventricular frequente > 2 /min	4 (8,9%)	1 (2,2%)	6 (12,8%)	4 (8,5%)	3 (8,1%)	2 (5,4%)	13 (10,1%)	7 (5,4%)
Extra-sístole ventricular isolada ≤ 2 /min	2 (4,4%)	3 (6,7%)	1 (2,1%)	6 (12,8%)	0 (...)	2 (5,4%)	3 (2,3%)	11 (8,5%)
Fibrilação atrial	0 (...)	0 (...)	0 (...)	1 (2,1%)	0 (...)	1 (2,7%)	0 (...)	2 (1,5%)
Hemibloqueio anterior esquerdo	11 (24,4%)	11 (24,4%)	13 (27,6%)	13 (27,6%)	13 (35,1%)	14 (37,8%)	37 (28,7%)	38 (29,4%)
Sobrecarga atrial esquerda	0 (...)	1 (2,2%)	0 (...)	2 (4,2%)	1 (2,7%)	1 (2,7%)	1 (0,8%)	4 (3,1%)
Sobrecarga ventricular esquerda	4 (8,9%)	4 (8,9%)	1 (2,1%)	2 (4,2%)	1 (2,7%)	2 (5,4%)	6 (4,6%)	8 (6,2%)

4.4.3. Avaliação ecocardiográfica. No total de 129 pacientes examinados, 30 (23,2%) apresentaram o ecocardiograma (ECO) alterado na fase pré-tratamento e 33 (25,6%) pacientes apresentaram o ECO alterado na fase pós-tratamento, indicando aumento na prevalência de pacientes com ECO alterado, sem significância estatística ($X^2 = 1,18$; $p = 0,66$).

Em cada grupo de pacientes tratados com benznidazol, observou-se ECOS alterados em 7 (15,5%) e 10 (22,2%) pacientes entre os 45 do grupo BZ1T ($X^2 = 0,64$; $p = 0,42$) nas fases pré e pós-tratamento, respectivamente; 14 (29,8%) pacientes entre os 47 de BZ2T nas fases pré e pós-tratamento e em 9 (24,3%) pacientes entre os 37 de BZ3T nas fases pré e pós-tratamento, diferenças essas estatisticamente não significativas, indicando que durante o período de estudo, independentemente dos grupos de tratamentos com benznidazol, não houve variação significativa na prevalência de pacientes com o ECO alterado.

Entre os 129 pacientes examinados nas duas fases do tratamento, foram registradas, na fase pré-tratamento, 73 tipos de alterações ecocardiográficas compatíveis com miocardiopatia chagásica crônica e 77 tipos de alterações na fase pós-tratamento, indicando aumento não significativo ($X^2=0,25$; $p= 0,61$) de alterações ecocardiográficas no intervalo considerado.

Considerando a ocorrência de alterações ao ECO nos grupos de tratamento com benznidazol, observou-se nas fases pré e pós-tratamento, respectivamente, 18 e 22 alterações entre os 45 pacientes de BZ1T ($X^2= 0,71$; $p = 0,39$); 30 e 29 alterações entre os 47 pacientes de BZ2T ($X^2 = 0,04$; $p = 0,83$) e 25 e 26 alterações entre os 37 pacientes de BZ3T ($X^2= 0,06$; $p = 0,80$) (Figura 20), indicando variação não significativa no número de alterações nos três grupos de tratamento.

No total dos 129 pacientes examinados e nos grupos de tratamento com benznidazol, observou-se maior prevalência de hipocinesias, aneurismas de ponta de ventrículo esquerdo e fração de ejeção $< 45\%$ nas fases pré e pós-tratamento (Tabela 14).

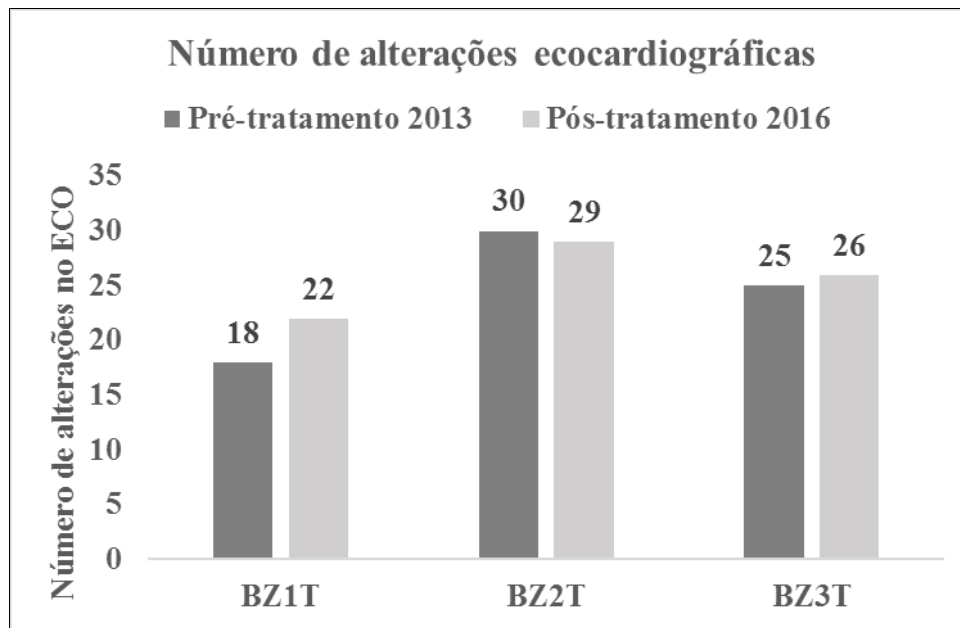


Figura 20. Número de alterações ecocardiográficas em pacientes chagásicos crônicos, de acordo com o grupo de tratamento com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016. *BZ1T- um tratamento com benznidazol, BZ2T-dois tratamentos com benznidazol e BZ3T- três tratamentos com benznidazol*

Tabela 14. Frequência das alterações ecocardiográficas nos grupos de pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016

ALTERAÇÕES ECOCARDIOGRÁFICAS	GRUPO DE TRATAMENTO COM BENZNIDAZOL						TOTAL PRÉ***	TOTAL PÓS***
	BZ1T PRÉ	BZ1T PÓS	BZ2T PRÉ	BZ2T PÓS	BZ3T PRÉ	BZ3T PÓS		
Fração de ejeção <45 %	4 (8,9%)	4 (8,9%)	3 (6,4%)	5 (10,6%)	2 (5,4%)	2 (5,4%)	9 (7,0%)	11 (8,5%)
Função ventricular levemente deprimida	0 (...)	3 (6,7%)	4 (8,5%)	3 (6,4%)	4 (10,8%)	4 (10,8%)	8 (6,2%)	10 (7,7%)
Função ventricular moderadamente deprimida	4 (8,9%)	3 (6,7%)	3 (6,4%)	1 (2,1%)	1 (2,7%)	1 (2,7%)	8 (6,2%)	5 (3,9%)
Função ventricular severamente deprimida	0 (...)	0 (...)	0 (...)	0 (...)	1 (2,7%)	1 (2,7%)	1 (0,8%)	1 (0,8%)
Hipocinesias	6 (13,3%)	8 (17,8%)	11 (23,4%)	11 (23,4%)	7 (18,9%)	7 (18,9%)	24 (18,6%)	26 (20,1%)
Acinesias	0 (...)	0 (...)	2 (4,2%)	2 (4,2%)	1 (2,7%)	2 (5,4%)	3 (2,3%)	4 (3,1%)
Discinesias	0 (...)	0 (...)	0 (...)	0 (...)	3 (8,1%)	3 (8,1%)	3 (2,3%)	3 (2,3%)
Aneurisma parede anterior de VE	1 (2,2%)	1 (2,2%)	0 (...)	0 (...)	0 (...)	0 (...)	1 (0,8%)	1 (0,8%)
Aneurismas parede inferior de VE	0 (...)	0 (...)	1 (2,1%)	1 (2,1%)	1 (2,7%)	1 (2,7%)	2 (1,5%)	2 (1,5%)
Aneurismas do septo interventricular	0 (...)	0 (...)	0 (...)	0 (...)	3 (8,1%)	3 (8,1%)	3 (2,3%)	3 (2,3%)
Aneurisma de ponta de VE**	3 (6,7%)	3 (6,7%)	6 (12,8%)	6 (12,8%)	2 (5,4%)	2 (5,4%)	11 (8,5%)	11 (8,5%)

*Um paciente pode ter apresentado mais de uma alteração; ** VE – ventrículo esquerdo; BZ1T- um tratamento com benznidazol, BZ2T-dois tratamentos com benznidazol e BZ3T- três tratamentos com benznidazol; *** Análise estatística (p > 0,05)

Em suma, entre os 129 pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol e avaliados pelos diferentes métodos de investigação da cardiopatia: MCCV, ECG e ECO, na fase pré-tratamento identificou-se 31 (24,0%) pacientes sem cardiopatia e 98 (76,0%) com cardiopatia e na fase pós-tratamento identificou-se 33 (25,6%) sem cardiopatia e 96 (74,4%) com cardiopatia, indicando redução de dois pacientes com cardiopatia, ambos do grupo BZ1T pela deleção de extra-sístoles ventriculares ao ECG.

A cardiopatia foi identificada predominantemente pelo ECG em comparação com os demais métodos de investigação (Figura 21), mostrando-se mais sensível na identificação do comprometimento miocárdico na doença de Chagas crônica no período de estudo. Esse comportamento foi observado também nos três grupos de pacientes tratados uma, duas ou três vezes com benznidazol (Figura 22).

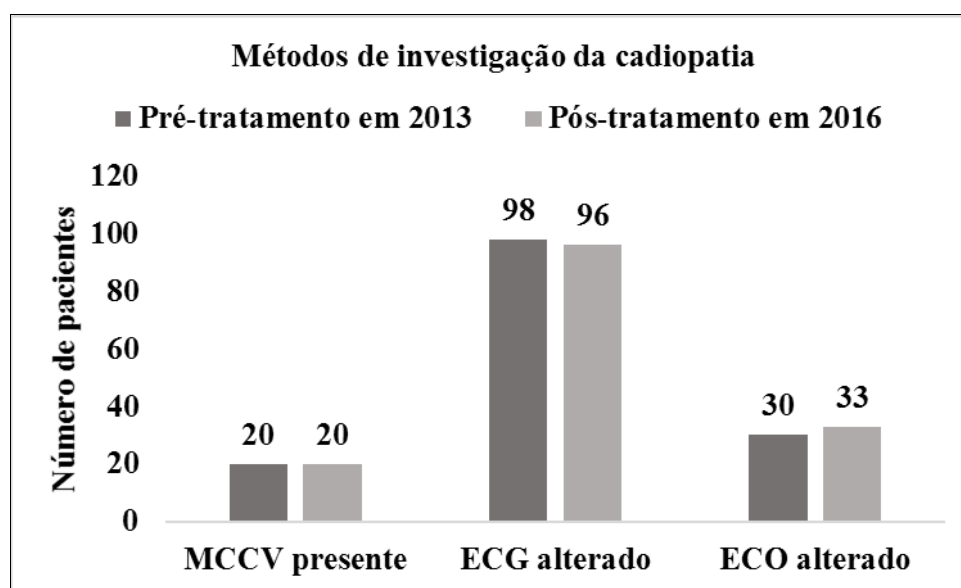


Figura 21. Evolução do número de pacientes com manifestações clínicas cardiovasculares (MCCV), eletrocardiogramas alterados (ECG) e ecocardiogramas alterados (ECO) em 129 pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016

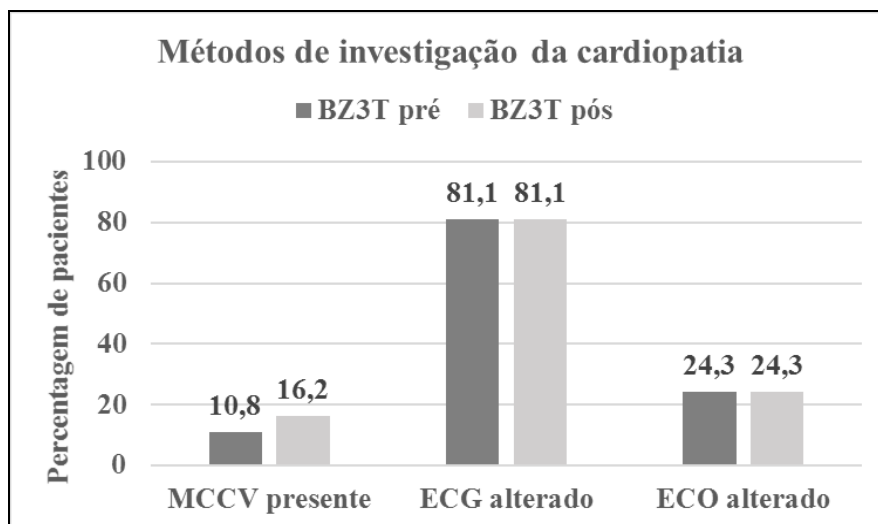
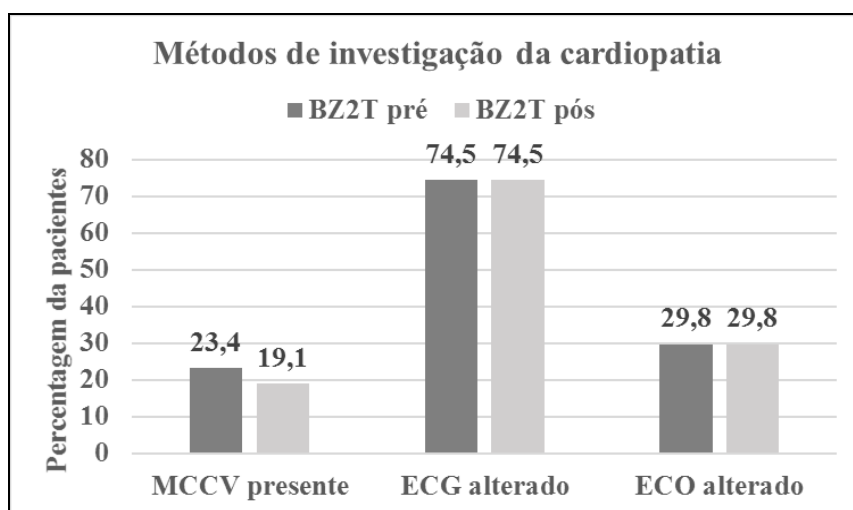
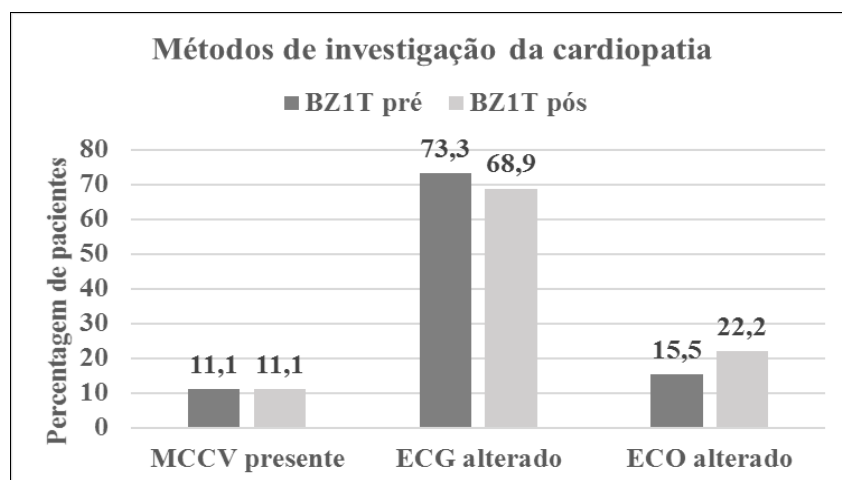


Figura 22. Evolução das percentagens de pacientes com manifestações clínicas cardiovasculares (MCCV), eletrocardiogramas alterados (ECG) e ecocardiogramas alterados (ECO) nos grupos de pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016. BZ1T- um tratamento com benznidazol, BZ2T-dois tratamentos com benznidazol e BZ3T- três tratamentos com benznidazol

4.4.4. Evolução da cardiopatia.

Considerando os resultados dos ECG e ECO, a evolução da cardiopatia entre os 129 chagásicos crônicos do presente trabalho apresentou-se da seguinte maneira: *inalterada* em 115 (89,1%) pacientes, *progressiva* em 11 (8,5%) e *regressiva* em 3 (2,3%) pacientes. A Tabela 15 apresenta algumas características dos pacientes com evoluções progressiva e regressiva.

Considerando a evolução da cardiopatia em função dos estádios preconizados no Consenso Brasileiro da Doença de Chagas (2005, 2015), dos grupos de tratamentos com benznidazol, do sexo e cor da pele dos pacientes (Tabela 16) observa-se: (a) progressão da cardiopatia em todos os estádios, com tendência a aumento da frequência do estágio A para o estágio B2, não significativa estatisticamente; (b) progressão da cardiopatia em todos os grupos de tratamento com menor valor no grupo BZ3T, sem significância estatística, ressaltando a ausência de regressão nos grupos BZ2T e BZ3T; (c) progressão da cardiopatia foi estatisticamente ($p = 0,017$) maior entre os homens em comparação com as mulheres e (d) progressão da cardiopatia foi maior entre os não-brancos em comparação com os brancos, sem diferença estatisticamente significativa ($p = 0,53$).

A progressão da cardiopatia foi definida exclusivamente pelo ECG em seis pacientes e pelo ECG + ECO em cinco pacientes, enquanto o processo de evolução regressiva foi definido pelo ECG nos três pacientes, sendo em dois deles com a normalização do ECG. Ressalte-se que não houve incidência de cardiopatia no grupo de pacientes sem cardiopatia pré-tratamento, enquanto o agravamento da cardiopatia existente no pré-tratamento foi configurado por alterações do tipo: extra-sístoles ventriculares, desvio do eixo elétrico de QRS para esquerda, alteração primária da repolarização ventricular, hipocinesias e fração de ejeção inferior a 45%.

Resumindo, a evolução da cardiopatia no tempo de 3,3 anos em grupos de chagásicos crônicos submetidos a um, dois ou três tratamentos com benznidazol caracterizou-se pela não incidência ou desenvolvimento de cardiopatia, mas, com o agravamento da cardiopatia pré-existente em 11 (11,2%) pacientes, sem associação com o número de tratamentos e a regressão em 3 (3,1%) pacientes tratados uma vez. A progressão da cardiopatia mostrou-se associada ao sexo masculino.

Tabela 15. Achados do ECG e ECO de pacientes com evolução progressiva e regressiva, tratados com benznidazol, Virgem da Lapa, MG, 2013-2016

Grupo	Reg	Sexo	Idade	Eletrocardiograma –ECG		Ecocardiograma-ECO		Evolução da cardiopatia
				Pré-tratamento	Pós-tratamento	Pré-tratamento	Pós-tratamento	
BZ2T	1958	F	62	BRD III, HBAE	BRD III, HBAE, EVi, DEE	Normal	Normal	Progressiva
BZ2T	2439	M	56	BRD III, HBAE	BRD III, HBAE, EVi	AA	AA	Progressiva
BZ2T	4023	F	48	SVE	SVE, EVf, BS	Normal	Normal	Progressiva
BZ2T	4206	F	49	BRE III, BAV I, EVf	BRE III, BAV I, EVf, FA	FE, MD, HIP, AC, AA	FE, SD, HIP AC, AA	Progressiva
BZ3T	4528	M	57	BAV II, BS	BRD III, HBAE, BAV II, BS	LD, HIP, DI	LD, HIP, DI	Progressiva
BZ1T	5101	M	67	APRV	APRV, BAV I	FE, MD, AA	FE, MD, AA	Progressiva
BZ2T	683	M	61	EVi	APRV	LD, HIP	FE, LD, HIP, AA	Progressiva
BZ1T	3118	M	54	BRD III, HBAE	BRD III, HBAE, EVi	Normal	HIP	Progressiva
BZ2T	3645	M	59	BRD III, HBAE, EVf	BRD III, HBAE, EVi, DEE	HIP	FE, HIP	Progressiva
BZ1T	4019	F	43	APRV, EVf, DEE	APRV, BV, EVf, DEE	Normal	LD, HIP	Progressiva
BZ1T	5052	M	53	BRD III, HBAE, EVf, DEE	BRD III, HBAE, BAV I, DEE	Normal	LD, HIP	Progressiva
BZ1T	921	F	63	EVi	Normal	Normal	Normal	Regressiva
BZ1T	4638	M	40	EVf	Normal	Normal	Normal	Regressiva
BZ1T	5022	F	64	EVi, SVE	SVE	Normal	Normal	Regressiva

BZ1T- um tratamento com benznidazol, BZ2T-dois tratamentos com benznidazol e BZ3T- três tratamentos com benznidazol; Reg- Registro; BRD III- Bloqueio completo do ramo direito; HBAE- Hemibloqueio anterior esquerdo; SVE-Sobrecarga ventricular esquerda; EVi - Extra-sístole isolada; EVf- Extra-sístole frequente; DEE- Desvio do eixo elétrico para esquerda;BS- Bradicardia sinusal; FA- Fibrilação atrial; BAV I- Bloqueio aurículo-ventricular grau I APRV- Alteração primária da repolarização ventricular; AA- Aneurisma apical; FE- Fração de ejeção; HIP-Hipocinesia; LD- Função ventricular levemente deprimida; MD- Função ventricular moderadamente deprimida; SD- Função ventricular severamente deprimida; AC- Acinesia

Tabela 16. Evolução da cardiopatia de acordo com o estágio inicial, grupo de tratamento e sexo dos pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa, MG, 2013-2016

Evolução da cardiopatia em pacientes chagásicos crônicos				
Variáveis	Inalterada	Progressiva	Regressiva	Total
Estádio		<i>p</i> = 0,14*		
A	60 (88,2%)	5 (7,3%)	3 (4,4%)	68 (100%)
B1	17 (80,9%)	4 (19,1%)	0 (...)	21 (100%)
B2	7 (77,8%)	2 (22,2%)	0 (...)	9 (100%)
Grupo		<i>p</i> = 0,24*		
BZ1T	38 (84,4%)	4 (8,9%)	3 (6,7%)	45 (100%)
BZ2T	41 (87,2%)	6 (12,8%)	0 (...)	47 (100%)
BZ3T	36 (97,3%)	1 (2,7%)	0 (...)	37 (100%)
Sexo		<i>p</i> = 0,017*		
Feminino	79 (92,9%)	4 (4,7%)	2 (2,4%)	85 (100%)
Masculino	36 (81,8%)	7 (15,9%)	1 (2,3%)	44 (100%)
Cor da pele		<i>p</i> = 0,53*		
Não-brancos	85 (87,6%)	9 (9,3%)	3 (3,1%)	97 (100%)
Branços	30 (94,0%)	2 (6,0%)	0 (...)	32 (100%)

*Qui-quadrado não corrigido; A = ECG alterado e ECO normal, B1 = ECG alterado e ECO alterado com fração de ejeção > 45%; B2 = ECG alterado e ECO alterado com fração de ejeção < 45%; BZ1T- um tratamento com benznidazol, BZ2T- dois tratamentos com benznidazol e BZ3T- três tratamentos com benznidazol

4.5. Efeitos colaterais ao tratamento com benznidazol

4.5.1. Manifestações clínicas. No total de 129 pacientes tratados com benznidazol, 26 (20,1%) apresentaram manifestações clínicas durante o uso da medicação, sendo 8 (17,8%) do grupo BZ1T, 10 (21,3%) de BZ2T e 8 de BZ3T (21,6%) ($X^2 = 0,19$; $p = 0,66$). Em relação ao resultado da PCR, as reações adversas ocorreram em 12 (27%) dos 44 pacientes com PCR positiva e em 14 (16,5%) dos 85 pacientes com PCR negativa ($p = 0,14$). A Tabela 17 registra as manifestações clínicas e suas frequências, ressaltando predominância de coceira (prurido) no corpo e cefaleia. Não houve suspensão do tratamento por conta de reações dermatológicas, digestivas e

neurológicas, contudo, dois pacientes foram medicados com maleato de dexclorfeniramina (polaramine) por 3 e 5 dias por apresentarem exantema micropapular pruriginoso.

Tabela 17. Reações adversas apresentadas pelos pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016

Reações adversas	Grupos de tratamento*			TOTAL (N=129)
	BZ1T (n=45)	BZ2T (n=47)	BZ3T (n=37)	
Manifestações clínicas**				
Cefaleia	6 (13,3%)	3 (6,4%)	4 (10,8%)	13 (10,1%)
Prurido no corpo	6 (13,3%)	7 (14,9%)	2 (5,4%)	15 (11,6%)
Diarreia	1 (2,2%)	0 (...)	0 (...)	1 (0,8%)
Dor abdominal	2 (4,4%)	1 (2,1%)	0 (...)	3 (2,3%)
Dor epigástrica	0 (...)	0 (...)	1 (2,7%)	1(0,8%)
Emagrecimento	1 (2,2%)	0 (...)	1 (2,7%)	2 (1,5%)
Febre	0 (...)	1 (2,1%)	0 (...)	1 (0,8%)
Formigamento nas pernas e/ou pés	2 (4,4%)	5 (10,6%)	0 (...)	7 (5,4%)
Formigamento nos braços e/ou mãos	0 (...)	1(2,1%)	0 (...)	1 (0,8%)
Indisposição	0 (...)	1(2,1%)	1 (2,7%)	2 (1,5%)
Manchas no corpo	4 (8,8%)	3 (6,4%)	0 (...)	7 (5,4%)
Náuseas ou enjoos	2 (4,4%)	0 (...)	2 (5,4%)	4 (3,1%)
Perda do apetite	2 (4,4%)	2 (4,2%)	1 (2,7%)	5 (3,9%)
Perda do sono	1 (2,2%)	1 (2,1%)	0 (...)	2 (1,5%)
TOTAL	27 (60%)	25 (53,2%)	12 (32,4%)	64 (49,6%)

*BZ1T- um tratamento com benznidazol, BZ2T-dois tratamentos com benznidazol e BZ3T- três tratamentos com benznidazol; ** um paciente pode apresentar mais de uma manifestação clínica.

4.5.2. Hemogramas. Dos 129 pacientes que concluíram o tratamento, 127 realizaram hemogramas controles de 20 a 30 dias após o início do uso do benznidazol e 2 não compareceram para o controle. Dos 127 pacientes, 22 (17,3%) apresentaram hemogramas alterados em decorrência de variações nos valores referenciais dos leucócitos, sendo 13 (10%) exclusivamente por leucopenia; 3 (2,4%) exclusivamente

por neutropenia; 2 (1,6%) exclusivamente por linfopenia; 1 (0,8%) por leucopenia e neutropenia, com suspensão por 2 semanas e reintrodução da medicação sem recidiva dessas alterações; 2 (1,6%) exclusivamente por leucocitose e 1 (0,8%) por leucocitose e linfopenia (Figura 23).

Em relação aos grupos de pacientes tratados com benznidazol, as alterações nos hemogramas ocorreram em 6 (13,3%) pacientes do grupo BZ1T, em 8 (17,0%) do grupo BZ2T e em 8 (21,6%) do grupo BZ3T, indicando aumento da frequência de hemogramas alterados em função do número de tratamentos instituídos, sem significância estatística ($X^2 = 0,98$; $p = 0,32$) (Figura 24).

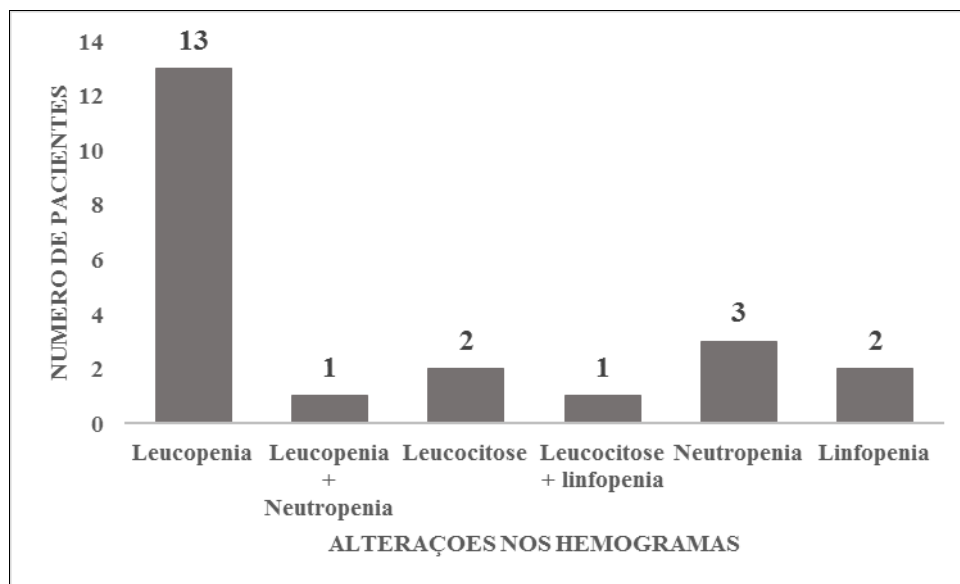


Figura 23. Alterações nos hemogramas em 127 pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol que realizaram controle pós-tratamentos, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016

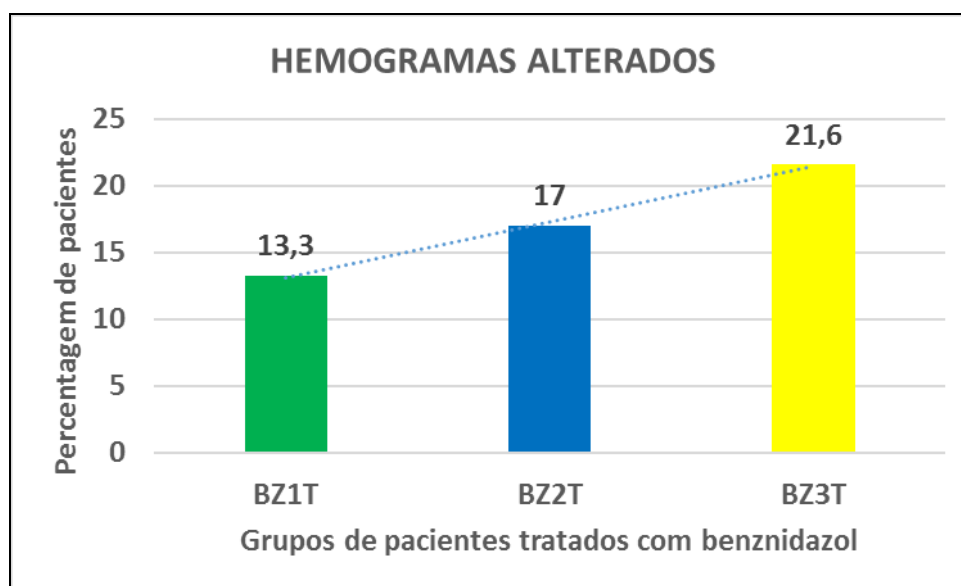


Figura 24. Hemogramas alterados em pacientes chagásicos crônicos, de acordo com o número de tratamentos realizados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016. BZ1T- um tratamento com benznidazol, BZ2T-dois tratamentos com benznidazol e BZ3T- três tratamentos com benznidazol

Comparando a ocorrência de manifestações clínicas adversas e hemogramas alterados como efeitos colaterais verificou-se que não houve diferença significativa entre esses efeitos colaterais (20,1% vs 17,3%; $X^2 = 0,33$; $p = 0,56$).

4.6. Comorbidades

No total de 129 pacientes avaliados, 87 (67,4%) apresentavam comorbidades, sendo 31 (68,9%) entre os 45 pacientes do grupo BZ1T, 32 (68,1%) entre os 47 pacientes do grupo BZ2T e 24 (64,9%) entre os 37 pacientes do grupo BZ3T, diferenças essas estatisticamente não significativas ($X^2 = 0,14$; $p = 0,69$). Dentre as comorbidades destaca-se de modo significativo a hipertensão arterial sistêmica diagnosticada em 72 (55,8%) dos 129 pacientes e valores similares nos diferentes grupos de tratamento, sem significância estatística (Tabela 18). A cardiopatia foi diagnosticada na fase pré-tratamento em 59 (82%) dos 72 hipertensos e em 27 (47,4%) dos 57 normotensos ($X^2 = 17,1$; $p = 0,00003$). De acordo o método de Sheps (1959) a proporção de participação da hipertensão na prevalência da cardiopatia entre os chagásicos crônicos foi de 16%.

Na análise do uso de medicações entre esses pacientes, identifica-se a significativa predominância de substâncias para o controle da hipertensão arterial, com destaque para captopril e hidroclorotiazida (Tabela 19).

Tabela 18. Frequência de comorbidades nos grupos de pacientes chagásicos crônicos tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016

COMORBIDADES	GRUPOS DE TRATAMENTOS			TOTAL (N=129)
	BZ1T (n=45)	BZ2T (n=47)	BZ3T (n=37)	
Diabetes Mellitus	3 (6,7%)	3 (6,4%)	1 (2,7%)	7 (5,4%)
Epilepsia	3 (6,7%)	1 (2,1%)	0 (...)	4 (3,1%)
Gastrite	0 (...)	0 (...)	1 (2,7%)	1 (0,8%)
Hipertensão arterial	25 (55,5%)	25 (53,2%)	22 (59,4%)	72 (55,8%)
Hipotireoidismo	0 (...)	2 (4,2%)	0 (...)	2 (1,5%)
Artrite reumática	0 (...)	1 (2,1%)	0 (...)	1 (0,8%)
TOTAL	31 (68,9%)	32 (68,1%)	24 (64,9%)	87 (67,4%)

*BZ1T- um tratamento com benznidazol, BZ2T-dois tratamentos com benznidazol e BZ3T- três tratamentos com benznidazol

Tabela 19. Medicamentos mais usados pelos pacientes tratados com benznidazol, Virgem da Lapa-MG, 2013-2016

MEDICAMENTOS USADOS	GRUPOS DE TRATAMENTOS			
	BZ1T (n=45)	BZ2T (n=47)	BZ3T (n=37)	TOTAL (N=129)
AAS	3 (6,7%)	12 (25,5%)	8 (21,6%)	23 (17,8%)
Aldomet	3 (6,7%)	1 (2,1%)	2 (5,4%)	6 (4,6%)
Amiodarona	3 (6,7%)	7 (14,9%)	1 (2,7%)	11 (8,5%)
Amitriptilina	2 (4,4%)	3 (6,4%)	0 (...)	5 (3,9%)
Anlodipina	1 (2,2%)	5 (10,6%)	5(13,5%)	11 (8,5%)
Cálcio	0 (...)	3 (6,4%)	0 (...)	3 (2,3%)
Captopril	14 (31,1%)	10 (21,3%)	11 (29,7%)	35 (27,1%)
Carvedilol	5 (11,1%)	7 (14,9%)	1 (2,7%)	13 (10,1%)
Clonazepam	0 (...)	0 (...)	3 (8,1%)	3 (2,3%)
Enalapril	0 (...)	1 (2,1%)	3 (8,1%)	4 (3,1%)
Espironolactona	7 (15,5%)	6 (12,8%)	1 (2,7%)	14 (10,8%)
Fenitoina	1 (2,2%)	2 (4,2%)	0 (...)	3 (2,3%)
Fenobarbital	2 (4,4%)	1 (2,1%)	2 (5,4%)	5 (3,9%)
Furosemida	5 (11,1%)	4 (8,5%)	2 (5,4%)	11 (8,5%)
Glibenclamida	0 (...)	0 (...)	1 (2,7%)	1 (0,8%)
Hidralazina	0 (...)	3 (6,4%)	4 (10,8%)	7 (5,4%)
Hidroclorotiazida	17 (37,8%)	17 (36,2%)	21 (56,7%)	55 (42,6%)
Insulina NPH	0 (...)	2 (4,2%)	0 (...)	2 (1,5%)
Levotiroxina	0 (...)	3 (6,4%)	0 (...)	3 (2,3%)
Losartana	6 (13,3%)	6 (12,8%)	5(13,5%)	17 (13,2%)
Metformina	2 (4,4%)	2 (4,2%)	2 (5,4%)	6 (4,6%)
Propranolol	3 (6,7%)	3 (6,4%)	2 (5,4%)	8 (6,2%)
Sinvastatina	5 (11,1%)	5 (10,6%)	1 (2,7%)	11 (8,5%)

*BZ1T- um tratamento com benznidazol, BZ2T-dois tratamentos com benznidazol e BZ3T- três tratamentos com benznidazol

5. DISCUSSÃO

Todas as técnicas e procedimentos metodológicos empregados no presente trabalho estão em conformidade com as recomendações da Organização Mundial da Saúde (WHO 2002) e do Ministério da Saúde do Brasil (MS 2005), assegurando validade dos resultados dessa pesquisa.

Virgem da Lapa-MG é uma área com transmissão vetorial interrompida há mais de 30 anos, fator determinante da população atual de portadores da doença de Chagas ser composta predominantemente de pessoas com idades acima de 40 anos (Borges-Pereira 1997; Zauza & Borges-Pereira 2001), a exemplo do grupo integrante do presente estudo que apresenta média de idade de 52 anos. Atribuímos a maior participação de mulheres no presente estudo ao fato de que a soroprevalência da infecção chagásica sempre foi maior nesse gênero no município, conforme os resultados de estudos de Dubois (1977) e Borges-Pereira (1983 e 1997). E outro fator que contribuiu para essa maior participação feminina é a pobreza regional, expressa em baixo IDHM, que se constitui em fator determinante da migração dos homens para outras regiões do país em busca de trabalho, reduzindo assim a população de portadores da doença de Chagas do gênero masculino em Virgem da Lapa.

“A maior participação dos negros e mulatos (não-brancos) na coorte desse trabalho pode ser explicada pelo contexto histórico cultural imposto aos negros pelo modelo de colonização brasileira, alimentada na escravatura desse grupo étnico, ao qual cabia produzir riquezas para os *Senhores ou Donos* e pobreza para si. Dentre os produtos degradantes desse modelo escravocrata estão a extrema pobreza e a marginalização do poder e dos bens da sociedade, criadores de mazelas, representadas nesse trabalho pela indigna coabitação com triatomíneos ou *chupões* em cafuas, responsável pela maior prevalência da moléstia de Chagas entre os não-brancos do município de Virgem da Lapa e de outros do Vale do Jequitinhonha” (Dr José Borges Pereira) (Velasco 1987, Borges-Pereira 1997). Cabe-nos ressaltar que um número significativo de pessoas avaliadas nesse trabalho pertence às comunidades Quilombolas do município de Virgem da Lapa como Rosário, Curral Novo, Almas, Gravatá, Onça do Meio e Marimbondo.

No intervalo de tempo deste trabalho identificou-se a redução significativa de 21 pacientes no total de 150 selecionados para a investigação, por conta das migrações e

desistências, ressaltando a ausência de óbitos. As desistências causaram maior impacto entre os pacientes do grupo BZ3T, principalmente, devido aos efeitos colaterais que se constituíram em fator biológico limitante da estratégia proposta para o tratamento. Quanto a migração, especialmente em decorrência da busca de trabalho, constitui-se em fator social limitante da investigação, para o qual não dispomos de medidas capazes de impedi-la. Apesar desses fatores, as composições foram mantidas sem prejuízos para atender os objetivos do estudo. O grupo de apoio para o controle da doença de Chagas (GACDC do Vale) será confirmado em janeiro de 2017 durante a reunião deliberativa, quando ocorrerá a aprovação do estatuto.

5.1. Impacto nos níveis de IgG anti- *T. cruzi*

A resposta imune humoral do portador da doença de Chagas crônica não submetido ao tratamento etiológico mostra-se com aumento dos níveis de IgG anti-*T. cruzi* em função do tempo de infecção ou com a idade do paciente (Gusmão et al 1982; Borges-Pereira 1997, Zauza & Borges-Pereira 2001). Enquanto nos estudos realizados em grupos de pacientes portadores da doença de Chagas crônica submetidos ao tratamento etiológico verifica-se queda dos níveis dessas imunoglobulinas, identificadas através de diferentes técnicas (Sosa-Estani et al 1998; Cançado 2002; Negrette et al 2008; Machado-de-Assis et al 2013), do mesmo modo que revelam a queda significativa da parasitemia avaliada pela técnica da reação em cadeia da polimerase (Lauria-Pires et al 2000; Fernandes et al 2009; Machado-de-Assis et al 2013; Oliveira 2013; Morillo et al 2015). Esses autores consideram a queda de imunoglobulinas e da parasitemia como produto da eficácia da droga empregada contra o parasito. O uso do benznidazol ao produzir a lise do parasito (Cancado & Brenner 1979) promove a redução da apresentação de antígenos de superfície e aumento da apresentação de antígenos intracelulares, com isso observa-se a queda dos níveis de imunoglobulinas específicas contra antígenos de superfície e aumento dos níveis de imunoglobulinas específicas contra antígenos intracelulares. No teste de IFI ocorre o reconhecimento de antígenos de superfície presentes nas formas evolutivas do *T. cruzi* pelas IgG anti-*T. cruzi* (Souza & Camargo 1966) e no teste ELISA ocorre o reconhecimento de antígenos intracelulares (Voller et al 1975).

No presente estudo, com o tempo de seguimento de 3,3 anos, os níveis de IgG anti-*T. cruzi* se mostraram em queda após o tratamento uma, duas ou três vezes com

benznidazol, através da técnica de IFI e aumento não significativo através da ELISA recombinante, ressaltando a soronegativação em dois pacientes do grupo BZ2T para ambos os testes. A queda dos níveis de anticorpos contra o *T. cruzi* está em acordo com os resultados encontrados em estudos dessa natureza, ressaltando-se que as principais variações estão relacionadas com o tempo de seguimento e as técnicas sorológicas empregadas. Nesse contexto, encontramos o trabalho de Cançado (2002) que em seguimento de 6 a 18 anos de 113 pacientes portadores da doença de Chagas crônica de Minas Gerais, com idades de 9 a 69 anos, tratados uma vez com benznidazol aplicando os testes sorológicos de fixação do complemento, IFI, HAI e ELISA, observou a persistência da positividade sorológica em 87 (77%) pacientes, a oscilação (ora positivo, ora negativo) em 17 (15%) pacientes e a soronegativação em 9 (8%) pacientes, os quais indicam a queda absoluta dos níveis de IgG anti-*T. cruzi*. Este autor concluiu que na doença crônica de longa duração o *Trypanosoma cruzi* persiste nos tecidos, após o tratamento, na grande maioria dos pacientes tratados, escapando da ação do medicamento e mantendo positivos os testes sorológicos.

Oliveira (2013), em dissertação de mestrado, seguindo por 11 anos, 28 pacientes portadores da doença de Chagas crônica com idade média de 46 anos, tratados uma vez com benznidazol, todos residentes em municípios do Distrito Sanitário de Rio Verde-MS, observou queda dos níveis de anticorpos contra o *T. cruzi* através da técnica de IFI e aumento não significativo através da técnica de ELISA recombinante, sem registro de soronegativação para ambos os testes. Contudo, os resultados de Fernandes et al (2009) que ao seguirem, por 3 anos, 80 pacientes portadores da doença de Chagas crônica do Rio Grande do Sul, com idade média de 38 anos, tratados uma vez com benznidazol, observaram queda dos títulos IgG anti-*T. cruzi* através da técnica de IFI e das densidades ópticas através da ELISA, destacando a soronegativação de quatro (5%) pacientes para ambos os testes; Machado-de-Assis et al (2013), 13 anos depois do tratamento com benznidazol de 29 portadores da doença de Chagas crônica com idades de 22 a 37 anos, naturais de Berilo-MG, identificaram queda dos níveis de anticorpos contra o *T. cruzi* através das técnicas de ELISA e hemaglutinação indireta, ressaltando a não identificação de soronegativação em todos os tratados. Esses resultados da ELISA divergem dos observados no presente trabalho e nos de Oliveira (2013), para o qual não encontramos explicação consistente, mas no campo das hipóteses pode-se atribuir as

diferenças metodológicas no tempo de seguimento, origem dos pacientes e antígenos empregados como alvos nos testes sorológicos.

Estudos com crianças e jovens na fase crônica submetidos ao tratamento com benznidazol mostram resultados indicando maior eficácia da droga nessa faixa etária, a exemplos dos estudos de Andrade et al (1996), que acompanharam crianças com 7 a 12 anos de Goiás, por quatro anos após o tratamento, verificando a soronegativação pelos testes de IFI, ELISA e HAI em 58% das crianças tratadas e de Sosa-Estani et al (1998), que acompanharam 55 crianças de Salta na Argentina, com 6 a 12 anos, por quatro anos após o tratamento, observando queda dos níveis de anticorpos anti-*T. cruzi* pelos testes de IFI, ELISA e HAI e soronegativação em 62% das crianças pelo teste de ELISA recombinante.

Os resultados de negativação sorológica encontrados no presente estudo e nos estudos de autores citados não conduzem a afirmativa de que esses pacientes estão curados, mas a admissão de que podem estar a caminho da cura com maior probabilidade quando apresentam a negativação da parasitemia associada. Merece destaque, o fato de que, a soronegativação, independentemente dos testes sorológicos empregados, apresenta-se com proporções mais elevadas em grupos de crianças e jovens portadores da infecção chagásica crônica (Andrade et al 1996; Sosa-Estani et al 1998; Galvão et al 2003) do que em grupos de adultos e idosos (Cançado 1997, 1998, 1999, 2002; Fernandes 2009), para a qual não encontramos explicações consistentes, mas as hipóteses atribuem ao tempo de infecção a responsabilidade por essas diferenças.

Os resultados do presente trabalho e de autores referidos indicam que os testes sorológicos são importantes medidores do impacto do tratamento com benznidazol sobre os níveis de IgG anti- *T. cruzi*; ressaltando que a técnica de IFI revelou esse impacto mais precocemente do que os demais testes empregados até o momento (Oliveira 2013; Fernandes et al 2009), configurando-se como teste sorológico de grande poder indicador indireto da ação tripanocida da droga.

Diante dos resultados dos estudos sorológicos em grupos de portadores da doença de Chagas crônica tratados com drogas tripanocidas, até o momento, não encontramos evidências ou elementos de convicção que nos permita definir qual o tempo mínimo considerado para se atribuir a cura pós-tratamento etiológico, assim como consideramos necessária a uniformização dos métodos e técnicas para o

seguimento sorológico dos pacientes submetidos ao tratamento etiológico, permitindo-nos comparar os resultados de modo mais adequado.

5.2. Impacto na parasitemia.

A parasitemia positiva na infecção chagásica crônica é indicadora de que o *Trypanosoma cruzi* está circulando na corrente sanguínea durante o momento da coleta de sangue para a realização de pesquisas parasitológicas e/ou moleculares como a reação em cadeia da polimerase. O objetivo principal das drogas tripanocidas é eliminar o parasito, negativando ou reduzindo a parasitemia, influenciando na patogenia da doença de Chagas.

Na literatura há um número significativo de estudos transversais sobre a parasitemia medida pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em pacientes portadores da doença de Chagas crônica não submetidos ao tratamento etiológico, os quais apresentam percentuais de positividade da parasitemia que podem variar com a área de origem dos pacientes ou com a composição dos grupos de estudo, mas, não encontramos análises de correlação entre a positividade da PCR e as formas clínicas da doença de Chagas. No contexto desses trabalhos, ressaltamos os resultados de estudos transversais realizados por: Ávila et al (1993) examinando amostras de sangue de 96 pacientes soropositivos e/ou xenopositivos para infecção chagásica crônica de Virgem da Lapa-MG, identificaram PCR positiva em 100% dos pacientes; Wincker et al (1994) examinando amostras de sangue de 86 pacientes soropositivos para infecção chagásica crônica de Virgem da Lapa-MG identificaram PCR positivas em 83 (96,5%) pacientes; Britto et al (1995) examinando amostras de sangue de 47 pacientes soropositivos para infecção chagásica do Sertão Paraíba identificaram PCR positivas em 21 (44,7%) pacientes; Britto et al (1995 a) examinando amostras de sangue de 61 pacientes soropositivos para infecção chagásica crônica atendidos no Instituto Nacional de Infectologia, residentes no Rio de Janeiro, procedentes de diversas regiões do Brasil, identificaram PCR positivas em 55 (90,2%) pacientes; Junqueira et al (1996) examinando amostras de sangue de 101 pacientes soropositivos para infecção chagásica crônica de Oeiras e Colônia-PI, identificaram PCR positivas em 60 (59,4%) pacientes; Jesionek et al (2007) examinando amostras de sangue de 181 pacientes soropositivos para infecção chagásica crônica de 16 municípios da XI Diretoria Regional de Saúde do Piauí (São João do Piauí), identificaram PCR positivas em 132 (72,9%) pacientes,

ressaltando queda do percentual com o aumento da idade dos pacientes; Borges-Pereira et al (2002) examinando amostras de sangue de 106 pacientes soropositivos para infecção chagásica crônica do município de João Costa-PI, identificaram PCR positivas em 79 (74,5%) pacientes; Pompilio et al (2005) examinando amostras de sangue de 80 pacientes soropositivos para infecção chagásica crônica atendidos no Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, procedentes de diferentes estados do Brasil, identificaram PCR positivas em 43 (53,7%) pacientes; Brum-Soares et al (2010) examinando amostras de sangue de 24 pacientes soropositivos para infecção chagásica crônica do município de Barcelos-AM, identificaram PCR positivas em 5 (20,8%) pacientes; Esses resultados configuram significativas diferenças regionais na parasitemia, as quais podem expressar-se em diferenças regionais nos resultados dos tratamentos etiológicos.

Como exemplos de estudos longitudinais avaliando a influência da parasitemia no processo evolutivo da doença de Chagas crônica em populações humanas não submetidas ao tratamento etiológico, há estudos controlados, nos quais os autores não encontraram correlação entre a parasitemia medida por xenodiagnóstico e a evolução clínica da doença de Chagas medida pelos exames clínico, eletrocardiográfico e radiológico. Castro (1980) e Castro et al (1999, 2005) em estudos longitudinais de 13 anos realizados com 202 portadores de doença de Chagas crônica de Mambai-GO, com idade média 41,4 anos, não tratados com drogas tripanocidas, não observaram influência da parasitemia na evolução progressiva das formas clínicas da doença. Do mesmo modo, Borges-Pereira et al (1992) em estudo longitudinal de 8 anos com 279 pacientes portadores da doença de Chagas crônica de Virgem da Lapa-MG (área do presente estudo), com idade média de 42,6 anos, não tratados com drogas tripanocidas, não encontraram influência da parasitemia na evolução da cardiopatia. Diante desses resultados, cabe questionar se o emprego da PCR como medidora da parasitemia produzirá outra observação.

A literatura apresenta pequeno número de estudos longitudinais sobre a parasitemia avaliada pela PCR em grupos populacionais não submetidos ao tratamento etiológico, provavelmente por conta do elevado custo da técnica, inviabilizando repetições dos exames. Nesse contexto, citamos os resultados encontrados por Jesioneck et al (2005) em amostras de sangue de 51 pacientes do município de João Costa-PI, coletadas em 1999 com a identificação de 37 (72,5%) PCR positivas e coletadas em

2006 com a identificação de 29 (56,9%) PCR positivas ($X^2 = 2.72$; $p = 0,09$), queda essa que não atingiu nível de significância estatística, no período de 7 anos. Em recente publicação dos resultados do estudo randomizado do estudo BENEFIT (Morillo et al 2015), os autores referem queda de 33,1% da PCR positiva no grupo controle de portadores de doença de Chagas crônica não submetidos ao tratamento com benznidazol, no seguimento de 5,3 anos. Esses resultados configuram a queda da parasitemia na fase crônica da doença de Chagas no decorrer do tempo, sem tratamento etiológico.

O comportamento da parasitemia avaliada pela PCR em estudos longitudinais após o tratamento etiológico de pacientes portadores da doença de Chagas crônica tem sido expresso através de resultados de estudos realizados principalmente no Brasil e em países da América Latina, todos revelando redução da parasitemia, inclusive com negatificação, em diferentes tempos de seguimento, diferentes grupos etários, áreas de origem dos pacientes e diferentes componentes metodológicos empregados. Dentre os estudos com avaliação da parasitemia em pacientes portadores da doença Chagas crônica submetidos ao tratamento com benznidazol encontramos os de Galvão et al (2003) que em seguimento de 3 anos, avaliaram a parasitemia em 58 crianças de 5 a 10 anos, da região Centro-Oeste do Brasil, submetidas uma vez ao tratamento com benznidazol, observaram redução da parasitemia de 85,9% para 39,6%; Oliveira (2013) que em seguimento de 11 anos, avaliou a parasitemia em 28 pacientes, residentes em Mato Grosso do Sul, tratados uma vez com benznidazol, observou redução da PCR positiva de 67,9% para 17,9%; Morillo et al (2015) – BENEFIT, que em seguimento de 5,3 anos registraram no grupo tratado com benznidazol a redução da parasitemia de 46,7%; Niborski et al (2016) que em seguimento de 3 anos, avaliaram 74 pacientes de Santiago del Estero-Argentina tratados uma vez com benznidazol, observaram queda da PCR positiva de 60,8% para 24,4%. No presente trabalho, o impacto do tratamento repetido até três vezes com benznidazol observado sobre a parasitemia medida pela PCR foi a negatificação, indicando essa droga como capaz de negativar ou reduzir a parasitemia e influir no processo evolutivo da doença de Chagas crônica.

5.3. Impacto na cardiopatia.

A doença de Chagas tem na cardiopatia sua principal apresentação, pela elevada capacidade de determinar redução na qualidade e na expectativa de vida de seus portadores.

O caráter crônico de longa duração da infecção chagásica é responsável pela existência de cerca de 3 milhões de brasileiros adultos com a doença de Chagas, entre os quais, 20 a 40% desenvolverão cardiopatia com elevada letalidade (Prata 1959, Dias & Kloetzel 1968, Prata 1976, Dias 1982, Coura & Borges-Pereira 1984, Borges-Pereira 1997). Contudo, até o momento, desconhecem-se marcadores que indiquem quais os indivíduos cronicamente infectados pelo *T. cruzi* desenvolverão cardiopatia. Essa indefinição tem promovido uma série de estudos longitudinais com o objetivo de melhor entender a história natural da infecção crônica sem o tratamento etiológico, nos quais tem-se evidenciado que a progressão da cardiopatia chagásica crônica ocorre com maior frequência do que a cardiopatia de outras etiologias, caracterizando-se por aumento da prevalência e da gravidade com a idade dos pacientes, predominantemente masculinos, com frequências ligadas as diferenças regionais ou grupos de estudos (Laranja et al 1956; Dias & Kloetzel 1968; Castro 1980; Dias 1982; Coura et al 1984; Coura & Borges-Pereira 1984; Borges-Pereira et al 1990; Pedrosa et al 1993; Borges-Pereira 1997, Xavier 1999).

Como exemplos desses estudos longitudinais, Borges-Pereira et al (1985) evoluindo 124 pares de portadores de doença de Chagas crônica e não-portadores de Virgem da Lapa-MG, no intervalo de seis anos, observaram progressão da forma cardíaca em 32,3% dos portadores de doença de Chagas crônica e 6,5% dos não-portadores; Coura et al (1985) evoluindo 110 pares de portadores de doença de Chagas crônica e não-portadores de Pains-Iguatama, por 10 anos, observaram progressão da forma cardíaca em 34,5% dos portadores de doença de Chagas crônica e em 5,4% dos não-portadores. Borges-Pereira (1997) no tempo de 17 anos, avaliou a evolução da cardiopatia em 522 pares de portadores de doença de Chagas crônica e não-portadores de Virgem da Lapa-MG, observou a progressão da cardiopatia em 45% dos portadores de doença de Chagas crônica e em 17% dos não-portadores, sendo a participação etiológica exclusivamente chagásica na progressão da cardiopatia de 34,1%, aumentando com a idade, atingindo aproximadamente 50% no grupo de 50-59 anos.

Apesar do pequeno arsenal terapêutico constituído basicamente por benznidazol e nifurtimox, pesquisadores têm promovido tratamentos etiológicos na tentativa de erradicar o parasita e interromper o processo evolutivo da infecção para a doença, principalmente da cardiopatia. Os resultados obtidos têm-se mostrado dependentes do momento da infecção: na fase aguda, os índices de cura parasitológica giram em torno de 90% (Cançado 1985, Ferreira 1990, Cançado 1997, 1998, 1999, 2000, 2002); na fase crônica recente, em pacientes menores de 14 anos, os índices de cura oscilam em torno de 60% (Andrade et al. 1996, Sosa-Estani et al. 1998, Estriba et al. 2009), porém, em adultos, independente da forma clínica crônica, o índice de cura varia de zero a 10% (Coura et al. 1997, Cançado 2000, 2002, Viotti et al. 1994, 2006), indicando fracasso terapêutico, considerando-se os critérios contidos no Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (CBDC) produzido pelo Ministério da Saúde do Brasil (2005, 2015).

Como exemplos de estudos com objetivo de avaliar o impacto do tratamento sobre a evolução clínica da doença de Chagas no Brasil, encontramos o trabalho de Oliveira (2013) que ao evoluir no tempo médio de 11 anos, 28 portadores de doença de Chagas crônica tratados e 22 não-tratados residentes em Mato Grosso do Sul, com idade média de 46 anos, observou progressão da cardiopatia de 53,5% para 57,3% no grupo de tratados com benznidazol e de 22,7% para 54,6% no grupo de não tratados, diferença esta estatisticamente significativa ($p = 0,03$), concluindo que o uso de benznidazol produziu redução da progressão da cardiopatia chagásica crônica. Do mesmo modo, Machado-de-Assis et al (2013) ao evoluírem no tempo de 13 anos, 29 portadores de doença de Chagas crônica tratados com benznidazol e 29 não-tratados, com idades de 22 a 37 anos, naturais de Berilo-MG, observaram a progressão da cardiopatia chagásica crônica em 27,6% dos pacientes tratados e em 65,5% dos não-tratados ($p < 0,05$) e concluíram que o tratamento com benznidazol reduz de modo significativo a progressão da doença, especialmente quando tratada em pacientes sem cardiopatia prévia.

Estudos realizados com pacientes naturais da Argentina mostraram resultados similares aos encontrados em Berilo e Mato Grosso do Sul no Brasil, com variações relacionadas ao desenho de cada estudo. Por exemplo, Viotti et al (1994) ao evoluírem no tempo de 8 anos, 201 portadores de doença de Chagas crônica de Buenos Aires, sendo 131 tratados com benznidazol e 70 não-tratados, observaram alterações no padrão eletrocardiográfico em 4,1% dos pacientes tratados e em 30% dos pacientes não-tratados, concluíram que os portadores de doença de Chagas crônica tratados com

benznidazol mostraram menor progressão clínica e eletrocardiográfica. Ainda Viotti et al (2006), ao evoluírem por 17 anos, 566 portadores de doença de Chagas crônica com idades entre 30 e 50 anos, sendo 283 tratados com benznidazol e 283 não-tratados, observaram progressão da cardiopatia em 4% dos tratados e em 14% dos não-tratados, diferença estatisticamente significativa ($p = 0,002$), concluíram que o tratamento com benznidazol está associado a redução da progressão da doença de Chagas. Gallerano & Sosa (2001) ao evoluírem por 5 anos, 130 portadores de doença de Chagas crônica tratados com benznidazol e 668 não-tratados, observaram progressão da cardiopatia em 4% dos tratados e 17,9% dos não-tratados ($p < 0,05$). Esses estudos com grupos controles de portadores de doença de Chagas crônica não-tratados com benznidazol mostraram que o emprego dessa droga causa impacto sobre o processo evolutivo da cardiopatia chagásica crônica, reduzindo a progressão, melhorando a qualidade de vida e reduzindo a letalidade. Ao contrário dos resultados desses autores, o estudo BENEFIT (Morillo et al 2015) que em 5,3 anos de seguimento de 1.431 portadores de doença de Chagas crônica tratados com benznidazol e 1.423 controles não tratados de cinco países da América Latina, com idades de 18 a 75 anos, não observaram redução da progressão da cardiopatia inicial. Esses resultados apresentam divergências significativas que atribuímos principalmente a heterogeneidade da metodologia de investigação.

Nos resultados do presente trabalho, com objetivo distinto dos objetivos dos trabalhos referidos acima, observou-se redução de 98 para 96 pacientes com cardiopatia, e o agravamento ou progressão da cardiopatia em 11 dos 98 pacientes com diagnóstico de cardiopatia pré-tratamento, processo evolutivo esse sem associação com o número de tratamentos realizados e regressão da cardiopatia exclusivamente entre os pacientes do grupo BZ1T, com seguimento de 3,3 anos entre o tratamento e o exame final. Ao confrontarmos esses resultados com os acima referidos, estaremos diante de divergências que atribuímos, principalmente aos diferentes objetivos, tempos de seguimentos, grupos etários, métodos de leitura, interpretação e classificação das alterações no ECG na definição da cardiopatia chagásica crônica. Para tentar reduzir tais divergências, tornando os estudos comparáveis de modo adequado, faz-se necessário um consenso que estabeleça, principalmente o tempo mínimo de seguimento e os critérios definidores de cardiopatia chagásica crônica. Como contribuição para esse consenso consideramos importante a avaliação da meta-análise realizada por Villar et al (2014) de 13 artigos científicos envolvendo 4.229 pacientes tratados e não-tratados com drogas

tripanocidas, concluindo que, a partir do ano 2000, houve aumento significativo da informação sobre o tratamento etiológico com resultados favoráveis a eficácia do tratamento e informações mais consistente sobre os efeitos adversos das drogas tripanocidas, apesar de divergências metodológicas entre os trabalhos.

Nesse cenário de fracasso do tratamento etiológico convencional da doença de Chagas crônica em conjunto com a necessidade de bloquear a progressão da doença, em especial da cardiopatia, para garantir melhor qualidade de vida aos pacientes, Coura & Borges-Pereira (2010, 2011, 2012) têm proposto outras estratégias, entre as quais, a repetição do tratamento etiológico convencional, a intervalos a serem estabelecidos com base no conhecimento sobre a farmacodinâmica e efeitos colaterais da droga a ser utilizada. Esta proposta de repetição do tratamento se consolidou para o presente trabalho, diante de relatos de 4 pacientes de Virgem da Lapa-MG, de melhoras clínicas e performance física após a ingestão de benznidazol três e quatro vezes a intervalos de 1 a 4 anos entre os tratamentos. Três desses pacientes são portadores de cardiopatia chagásica crônica estágio B1 e um não apresenta cardiopatia; todos integrarão a publicação de casos em preparação.

Em suma, no presente trabalho, a evolução da cardiopatia no intervalo de 3,3 anos em função do número de tratamentos com benznidazol, apresentou-se com incidência nula, com progressão significativamente maior entre os homens, não associada com a repetição do tratamento com benznidazol e com regressão exclusivamente entre os pacientes com um tratamento, configurando-se a rejeição da hipótese nula e a aceitação da hipótese alternativa de que a repetição anual do tratamento com benznidazol por três vezes não modificou de modo significativo o processo evolutivo da cardiopatia entre os portadores de doença de Chagas crônica com idade acima de 50 anos. Nesse contexto, acredita-se que a hipótese nula pode ser confirmada com maior tempo de seguimento na avaliação dessa estratégia.

5.4. Efeitos colaterais

Os estudos sobre o tratamento etiológico da doença de Chagas crônica com benznidazol revelam percentuais variáveis de pacientes com efeitos colaterais durante o uso da droga. São reações do tipo manifestações de hipersensibilidade, principalmente dermatites; depressão da medula óssea produzindo neutropenia e agranulocitose e polineuropatia periférica.

No presente trabalho 20,1% dos pacientes apresentaram manifestações clínicas predominantemente dermatológicas e 17,3% apresentaram alterações hematológicas predominantemente leucopenia e neutropenia sem agranulocitose, manifestações essas não associadas ao número de tratamentos realizados, esses resultados estão na média dos percentuais encontrados por Cançado (1985, 1998, 1999) ao longo de décadas de tratamento da doença de Chagas com benznidazol em pacientes de Minas Gerais; também em acordo com Fabbro-de-Suasnábar et al (2000) que identificaram 13,8% de reações adversas no total de 36 portadores de doença de Chagas crônica de Santa Fé – Argentina. Todavia, percentuais mais elevados do que os observados no presente trabalho encontramos nos estudos de Pontes et al (2010) que identificaram reações adversas em 28 (87,5%) de 32 pacientes do Estado do Ceará; Hasslocher-Moreno et al (2012) que identificaram reações adversas em 93 (48,9%) de 190 pacientes tratados, atendidos no atual Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas-RJ, sendo 26,3% de reações dermatológicas, 9,5% de distúrbios gastrointestinais e 5,3% de manifestações neurológicas. O estudo BENEFIT (Morillo et al 2015) apresentou uma taxa de interrupção do tratamento devida a efeitos adversos significativamente maior no grupo tratado com benznidazol em comparação com o grupo placebo (23,9% vs 9,5%; $p = 0,001$), predominando reações dermatológicas, distúrbios gastrointestinais e manifestações neurológicas.

Por conta da intensidade dessas reações adversas pode ocorrer a interrupção definitiva ou transitória do tratamento. No presente trabalho, somente em um paciente do grupo BZ2T foi recomendada a interrupção transitória por duas semanas, em decorrência de leucopenia com neutropenia durante o segundo tratamento, reiniciando-se o tratamento após normalização da leucometria, sem recidiva do quadro. Ressalta-se que, exceto nos estudos de Cançado (1985, 1999), não encontramos referências aos percentuais de alterações hematológicas nos trabalhos sobre efeitos colaterais, sabendo-se da importância da leucometria no controle do uso do benznidazol.

5.5. Comorbidades

Portadores e não portadores da doença de Chagas estão submetidos ao risco de comorbidades. A associação da doença de Chagas com doenças crônicas de evolução lenta como a hipertensão arterial e diabetes mellitus, cuja patogenicidade se estabelece fundamentalmente no sistema cardiovascular, pode acarretar modificações na história natural de ambas. No presente estudo a hipertensão arterial foi diagnosticada em 55,8%

dos 129 portadores de doença de Chagas crônica com idade média de 52 anos, sem variações significativas em relação aos grupos BZ1T, BZ2T e BZ3T.

A presença de cardiopatia no grupo com hipertensão arterial sistêmica foi 2,2 vezes maior do que no grupo sem hipertensão arterial. Aplicando o método de Sheps (1959) verifica-se que a hipertensão arterial influi de modo significativo na prevalência da cardiopatia entre os chagásicos do presente trabalho.

Dados da literatura sobre a concomitância da doença de Chagas e hipertensão arterial sistêmica estão associados principalmente aos desenhos amostrais e objetivos dos estudos. Como exemplos, Borges-Pereira (1997) em estudo transversal sobre a prevalência das formas clínicas em Virgem da Lapa-MG, ao avaliar 1.109 pares de portadores de doença de Chagas crônica e não-portadores com idade média de 38,4 anos, encontrou hipertensão arterial em 18,3% dos portadores de doença de Chagas crônica e 17,5% dos não-portadores, sem diferença estatisticamente significativa, com crescimento dos percentuais com a idade, atingindo 50,4% nos maiores de 50 anos, similar ao resultado encontrado no grupo do presente estudo. Guariento et al (1998) examinando 878 portadores de doença de Chagas crônica com idades de 25 a 65 anos, atendidos no Hospital das Clínicas da UNICAMP-SP, encontraram hipertensão arterial em 37% dos pacientes, entre os quais 65% tinham cardiopatia contra 49% de cardiopatia no grupo de normotensos; 50% dos portadores de doença de Chagas crônica hipertensos tinha mais de 45 anos contra 29% dos não hipertensos, concluindo assim que a associação da doença de Chagas e hipertensão arterial evoluiu com um frequente e mais grave comprometimento cardíaco. Enquanto Gurgel et al (2003) em estudo realizado na PUC Campinas-SP, avaliaram a gravidade da cardiopatia em 675 portadores de doença de Chagas crônica, sendo 225 (33,3%) hipertensos, com idade média de 55 anos, concluíram que a frequência de hipertensão arterial em portadores de doença de Chagas crônica é similar a frequência da população geral e que o perfil clínico do portador de doença de Chagas crônica hipertenso não difere de modo significativo do portador de doença de Chagas crônica normotenso.

Gurgel & Almeida (2007) em estudo clínico e anatomopatológico sobre a frequência de hipertensão arterial em portadores de doença de Chagas crônica e sua repercussão no coração, avaliaram 101 casos de doença de Chagas, entre os quais 33 (32,7%) eram hipertensos, concluindo que a hipertensão ocorreu com maior frequência entre os casos com maior média de idade e que não alterou os achados clínicos e anatomopatológicos compatíveis com a doença de Chagas e sua história natural.

É certo que a população de portadores de doença de Chagas crônica no Brasil se constitui, no momento, predominantemente de adultos com idades acima de 40 anos, o que aumenta o risco da hipertensão arterial nessa população, isto impõe a necessidade de estudos com desenhos adequados para a definição com maior clareza do papel da hipertensão no processo evolutivo da doença de Chagas.

Ressalte-se que o grupo estudado no presente trabalho no período de 3,3 anos, apesar da idade média acima de 50 anos e do elevado percentual de hipertensão arterial, não apresentou agravamento significativo da cardiopatia, nem óbitos, o que atribuímos, entre múltiplos fatores, à influência da intensa atividade laborativa na lavoura (exercício físico continuado), baixo índice de tabagismo e etilismo e elevado índice de adesão ao tratamento da hipertensão inserido no Programa de Saúde da Família do Município.

6.0. CONCLUSÕES

Considerando os objetivos do trabalho e a metodologia empregada para avaliar o impacto da repetição do tratamento com benznidazol sobre a resposta imune humoral, parasitemia e cardiopatia em pacientes portadores da doença de Chagas crônica, 129 pacientes com idade média de 52 anos de Virgem da Lapa-MG, foram avaliados pré e pós um, dois ou três tratamentos, com resultados que permitiram as seguintes conclusões:

1. Houve redução significativa do número de participantes por migração, independente da repetição do tratamento, e por desistência mais acentuada entre os pacientes com três tratamentos, indicando a repetição do tratamento como redutor da adesão dos pacientes,
2. Houve redução significativa dos níveis de IgG anti-*T. cruzi* avaliados pelo teste de IFI, independente da repetição do tratamento, indicando esse teste como marcador sorológico precoce da ação tripanocida do benznidazol,
3. Não houve redução significativa dos níveis de IgG anti-*T. cruzi* avaliados pela ELISA, independente da repetição do tratamento, indicando esse teste como marcador sorológico tardio da ação tripanocida do benznidazol,
4. Houve soronegativação para IgG anti-*T. cruzi* pelos testes de IFI e ELISA em dois pacientes, indicando a possibilidade de cura na fase crônica da infecção chagásica em maiores de 50 anos de vida tratados com benznidazol,
5. Houve redução significativa da parasitemia medida pela PCR, com a negativação de todas as amostras independente da repetição do tratamento, indicando essa técnica como marcadora precoce da ação tripanocida do benznidazol,
6. Não houve incidência de cardiopatia, indicando o caráter benigno da evolução clínica dos pacientes sem evidências de cardiopatia no pré-tratamento,
7. A progressão da cardiopatia ocorreu em 8,5% dos pacientes, significativamente maior entre homens, não associada ao número de tratamentos com benznidazol e ao estágio de comprometimento inicial,
8. A progressão da cardiopatia pré-existente foi configurada, principalmente pela ocorrência de extra-sístoles ventriculares não complexas, alteração primária da repolarização ventricular e hipocinesias, indicando evolução com benignidade,

9. Houve regressão da cardiopatia pré-existente em 2,3% dos pacientes, exclusivamente no grupo BZ1T, pela deleção de extra-sístoles ventriculares, indicando esses distúrbios como importantes marcadores da mutabilidade eletrocardiográfica no tratamento com benznidazol,
10. Houve reações adversas ao uso de benznidazol com manifestações clínicas em 20,1% dos pacientes e alterações hematológicas em 17,3% dos pacientes com tendência de aumento com a repetição do tratamento, indicando a necessidade de permanente monitoramento clínico e hematológico durante do tratamento com o benznidazol,
11. A hipertensão arterial foi diagnosticada em 55,8% dos pacientes, constituindo-se na principal comorbidade nos grupos de tratamento,
12. Não houve óbito no tempo de seguimento, indicando a natureza benigna da cardiopatia no grupo de chagásicos selecionados para esse trabalho,
13. A repetição do tratamento com benznidazol de pacientes chagásicos crônicos com idade média de 52 anos, reduziu os níveis de anticorpos de superfície e da parasitemia, mas não influenciou nos níveis de progressão da cardiopatia no tempo de 3,3 anos,
14. Consideramos relevante o tratamento da infecção chagásica crônica com o benznidazol em adultos com ou sem cardiopatia conforme a proposta do presente trabalho, com criterioso controle dos efeitos adversos clínicos e hematológicos.

7.0. DIFICULDADES, SUGESTÕES E PERSPECTIVAS

Entre as dificuldades encontradas para a realização desse trabalho, destacamos: a demora de seis meses do comitê de ética em pesquisas de se pronunciar acerca do trabalho; a escassez e falta de recursos para adquirir os insumos para a realização dos testes sorológicos, PCR e viagens ao campo, ressaltando que o projeto (Processo:403627/2012) foi indeferido pelos relatores do CNPq.

A literatura sobre o tratamento etiológico da doença de Chagas crônica apresenta significativa diversidade de resultados, dificultando as comparações e a construção de consensos sobre a história natural da doença de Chagas após o tratamento etiológico. Desse modo, consideramos imperativa a homogeneização ou padronização da metodologia de investigação, estabelecendo-se principalmente os seguintes aspectos: tempo mínimo de seguimento para os diferentes desenhos, as técnicas sorológicas a serem empregadas com antígenos validados e os critérios eletrocardiográficos e ecocardiográficos definidores e classificadores da cardiopatia chagásica.

Com base nos resultados do presente trabalho, consideramos importante promover avaliações clínicas, sorológicas, parasitológicas e cardiológicas anuais desses pacientes para que se possa monitorar o processo evolutivo da doença após a estratégia empregada. Para tal, deve-se compartilhar a responsabilidade desse manejo com o sistema municipal de saúde, no momento fundamentado no Programa de Saúde da Família.

8.0. CONTRIBUIÇÕES

No contexto dos objetivos do programa Brasil Sem Miséria, consideramos ter contribuído para a melhoria da qualidade de vida do grupo de pacientes submetidos ao tratamento etiológico da doença de Chagas, assim como ao tratamento das comorbidades, no desejo de que essas pessoas possam desenvolver suas atividades laborativas com melhor performance.

Grupo de Apoio ao Controle da Doença de Chagas – GACDC do VALE. Consideramos relevante a criação do grupo de apoio ao controle da doença de Chagas, denominado GACDC do VALE, como instrumento de geração de ideias capazes de contribuir para a vigilância e controle social das ações destinadas a redução da infecção, morbidade e mortalidade pela doença de Chagas, o qual será consolidado em janeiro de 2017. Na sua formação utilizamos o trabalho dos agentes de saúde do Programa de Saúde da Família e convidamos os representantes das comunidades rurais e urbana do município e integrantes do Conselho Municipal de Saúde para discutirmos a possibilidade de criação do grupo de apoio ao controle da doença de Chagas no município de Virgem da Lapa. Em abril de 2014 ocorreu a reunião informativa, na qual foi apresentado um painel de modelos de organizações sociais ligados aos portadores da doença de Chagas existentes no Brasil e em outros países, configurando suas estruturas e seus limites de atuações. Os participantes ressaltaram possíveis limitações ou barreiras as atuações do grupo estabelecidas pelas estruturas oligárquicas mantenedoras das relações de subsistência da população. Após discussões decidiram por voto pela criação de um grupo de apoio a Secretaria Municipal de Saúde sem vinculação político partidária; em 2015 ocorreu a terceira reunião deliberativa na qual ficou estabelecida a criação do grupo de apoio a prefeitura no campo das medidas para controle da Doença de Chagas e em 2016, adiada para 2017 em consequência das atividades políticas eleitorais no município, ocorrerá a plenária de criação com aprovação das normas de funcionamento do GACDC do VALE.

Quatro décadas de estudos. No contexto dos 41 anos de estudos realizados sobre a doença de Chagas em Virgem da Lapa-MG, podemos afirmar que houve redução da morbimortalidade da cardiopatia, redução da mortalidade global, melhora significativa na qualidade de vida e acesso a serviços básicos de saúde e tratamento.

9.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu LL. 1977. Doença de Chagas. Estudo da mortalidade no município de Pains, Minas Gerais. *Dissertação de Mestrado, UFRJ*, 87 p.
- Albajar PV, Laredo SV, Terrazas MB & Coura JR. 2003. Miocardiopatia dilatada em pacientes com infecção chagásica crônica. Relato de dois casos fatais autóctones do Rio Negro, Estado do Amazonas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 36 (3): 401-407.
- Almeida E, Krieger MA, Carvalho MR, Oelemann W & Goldenberg S. 1990. Use of recombinant antigens for the diagnosis of Chagas disease and blood bank screening. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 85: 513-517.
- Álvarez MG, Vigliano C, Lococo B, Petti M, Bertocchi G & Viotti R. 2012. Seronegative conversion after incomplete benznidazole treatment in chronic Chagas disease. *Transactions of the Royal Society of Tropical medicine and hygiene* 106(10): 636-638.
- Amato-Neto V, Matsubara L & Lanura PNB. 1996. Avaliação do sistema quantitative buffy coat (QBC) no diagnóstico laboratorial da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*: estudo em modelo experimental murino. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 29: 59-61.
- Andrade ALS, Zicker F, Oliveira RM, Silva AS, Luquetti A, Travassos LR, Almeida IC, Andrade SS, Andrade JG & Martelli CMT. 1996. Randomised trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. *Lancet* 348: 1407-1413.
- Andrade SG & Magalhães JB. 1997. Biodemes and zymodemes of *Trypanosoma cruzi* strains: correlations with clinical data and experimental pathology. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 30: 27-35.
- Andrade ALS, Martelli CMT, Oliveira ORM, Silva AS, Aires IS, Soussumi LMT, Covas DT, Silva LS, Andrade JG, Travassos LR & Almeida IC. 2004. Short report: Benznidazole efficacy among *Trypanosoma cruzi*-infected adolescents after a six-year follow-up. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 71: 594-597.

- Araujo A, Jansen AM, Reinhard K & Ferreira LF. 2009. Paleoparasitology of Chagas disease – A review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 104 (suppl I): 9-16.
- Arruda Jr. ER. 1981. Estudo sobre a doença de Chagas nos municípios de Aguiar e Boqueirão dos Cochos, Vale do Piancó, Estado da Paraíba. *Dissertação de Mestrado, UFRJ*, 80 p.
- Aufderheide AC, Salo W, Madden M, Streitz J, Buikstra J, Guhl F, Arriaza B, Renier C, Wittmers LE Jr, Fornaciari G & Allison M 2004. A 9,000-year record of Chagas' disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101: 2034-2039.
- Ávila HA, Sigman DS, Cohen LM, Millikan RC & Simpson L. 1991. Polymerase chain reaction amplification of *Trypanosoma cruzi* kinetoplast minicircle DNA isolated from whole blood lysates: Diagnosis of chronic Chagas disease. *Molecular Biochemical Parasitology* 48:211-222.
- Ávila HA, Borges-Pereira J, Thiemann O, De Paiva E, Degrave W, Morel CM & Simpson L. 1993. Detection of *Trypanosoma cruzi* in blood specimens of chronic chagasic by polymerase chain reaction amplification of kinetoplast minicircle DNA: comparison with serology and xenodiagnosis. *Journal of Clinical Microbiology* 31: 221-226.
- Azevedo T. 1938. Moléstia de Chagas na cidade de Castro Alves (nota prévia). *Bahia-Médica* 9: 17-18.
- Barufa G & Alcântara A. 1974. Prevalência sorológica da doença de Chagas em cinco municípios da Zona Sul do Rio Grande do Sul. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 16:140-144.
- Barufa G. 1977. Forma aguda da doença de Chagas na Zona Sul do Rio Grande do Sul. *Revista Goiana de Medicina* 23:23-40.
- Baruffa G, Alcântara A, Aquino Neto JO, Savoldi T, Olhinto A & Lassen C. 1983. Correlação sorológico-eletrocardiográfica para a doença de Chagas em população não selecionada do Rio Grande do Sul. In: *Resumo do XIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Rio de Janeiro*, p 39-41.

- Baruffa G, Alcântara A & Aquino Neto JO. 1985. Estudo pareado da cardiopatia chagásica no Rio Grande do Sul, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 80 (4): 457-462.
- Baruffa G, Alcântara A & Aquino Neto JO. 1987. Estudo pareado da cardiopatia chagásica no Rio Grande do Sul, Brasil. Comportamento das alterações eletrocardiográficas em função da cor. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 82 (3): 399-405.
- Batista C, Teixeira G & Macedo V. 1980. Prevalência de abortamento e prematuridade em uma área endêmica para a doença de Chagas. *Anais do XVI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Natal, RGN, 50p.*
- Bern C, Montgomery SP, Herwaldt BL, Rassi A, Marin-Neto JA, Dantas RO, Maguire JH, Acquatella H, Morillo C, Kirchhoff LV, Gilman RH, Reyes PA, Salvatella R & Moore A. 2007. Evaluation and treatment of Chagas Disease in the United States. A Systematic Review. *JAMA: 298 (18): 2171-2181.*
- Bittencourt AL, Vieira GO, Tavares HC, Mota E & Maguire J. 1984. Esophageal involvement in congenital Chagas disease. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 33: 30-33.
- Borges-Pereira J. 1983. Morbidade da doença de Chagas: estudos seccional e longitudinal em uma área endêmica, Virgem da Lapa, Minas Gerais. *Dissertação de Mestrado, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, 132p.*
- Borges-Pereira J, Willcox HPF & Coura JR. 1985. Morbidade da doença de Chagas. III – Estudo longitudinal de seis anos, em Virgem da Lapa, MG, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 80 (1): 63-71.
- Borges-Pereira J & Coura JR. 1987. Morbidade da doença de Chagas em populações urbanas do Sertão da Paraíba. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 20: 101-107.
- Borges-Pereira J, Willcox HPF, Marcondes CB & Coura JR. 1989. Parasitemia em pacientes chagásicos crônicos, avaliada pelo índice de triatomíneos infectados no xenodiagnóstico. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 22: 39-44.

- Borges-Pereira J, Cunha RV, Willcox HPF & Coura JR. 1990. Evolução da cardiopatia chagásica crônica humana no Sertão do estado da Paraíba, Brasil, no período de 4,5 anos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 23: 141-147.
- Borges-Pereira J, Willcox HPF & Coura JR. 1992. Evolução da cardiopatia chagásica crônica. I – Influência da parasitemia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 25: 101-108.
- Borges-Pereira J, Junqueira ACV, Santos LC, Castro JAF, Araujo I & Coura JR. 1996. Xenodiagnóstico na doença de Chagas crônica. I – Sensibilidade de *Panstrongylus megistus* e *Triatoma infestans*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 29 (4):341-347.
- Borges-Pereira J. 1997. Doença de Chagas humana: estudo da infecção crônica, morbidade e mortalidade em Virgem da Lapa, Minas Gerais, Brasil (1976-1996). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 30: 535-536.
- Borges-Pereira J, Xavier SS, Pirmez C, & Coura JR. 1998. Doença de Chagas em Virgem da Lapa, Minas Gerais, Brasil. IV. Aspectos clínicos e epidemiológicos do aneurisma ventricular esquerdo. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 31 (5): 457-463.
- Borges-Pereira J, Zauza PL, Galhardo MC, Nogueira JS, Pereira GRO & Cunha RV. 2001. Doença de Chagas na população urbana do distrito sanitário de Rio Verde, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 34: 459-466.
- Borges-Pereira J, Castro JAF, Campo JHF, Nogueira JS, Zauza PL, Marques P, Cardoso MA, Britto C & Araújo AJG. 2002. Estudo da infecção e morbidade da doença de Chagas no município de João Costa – Parque Nacional Serra da Capivara, Piauí, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 35: 315-322.

- Borges-Pereira J, Castro JAF, Silva AG, Zauza PL, Bulhões TP, Gonçalves ME, Almeida ES, Salmito MA, Pereira LRM, Alves Filho FI, Correia-Lima FG & Coura JR. 2006. Soroprevalência da infecção chagásica no Estado do Piauí, 2002. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 39:530-539.
- Borges-Pereira J, Xavier SS, AS, Castro JAF, Zauza PL & Coura JR. 2007. Prevalência de aneurismas do ventrículo esquerdo em pacientes chagásicos crônicos de duas áreas do Estado do Piauí. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 40: 521-526.
- Borges-Pereira J, Sarquis O, Zauza PL, Britto C & Lima MM. 2008. Epidemiologia da doença de Chagas em quatro localidades rurais de Jaguaruana, Estado do Ceará: soroprevalência da infecção, parasitemia e aspectos clínicos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 41: 345-351.
- Borges-Pereira J. 2012. Estudo da morbidade e mortalidade em uma coorte de chagásicos e não chagásicos 37 anos depois – projeto apresentado ao CNPQ, chamada PQ 10/2012 – informação pessoal.
- Bottino CG, Gome PL, Borges-Pereira J, Coura JR, Provance Jr W & De-Simone SG. 2013. Chagas disease-specific antigens: characterization of epitopes in CRA/FRA by synthetic peptide mapping and evaluation by ELISA-peptide assay. *BMC infectious disease* 13: 568-578.
- Brener Z, Cançado JR, Galvão LM, Da Luz ZM, Filardi LS, Pereira ME, Santos LM & Cançado CB. 1993. An experimental and clinical assay with Ketoconazole in the treatment of Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 88: 139-143.
- Britto C, Cardoso MA, Ravel C, Santoro A, Borges-Pereira J, Coura JR, Morel CM & Wincker P. 1995. *Trypanosoma cruzi*: Parasite detection and strain discrimination in chronic chagasic patients from Northeastern Brazil using PCR amplification of kinetoplast DNA and nonradiative hybridization. *Experimental Parasitology* 81:462-471.

- Britto C, Cardoso MA, Monteiro-Vanni CM, Hasslocher-Moreno A, Xavier SS, Oelemann W, Santoro A, Pirmez C, Morel CM & Wincker P. 1995. Polymerase chain reaction detection of *Trypanosoma cruzi* in human blood samples as a tool for diagnosis and treatment evaluation. *Parasitology* 110: 241-247.
- Britto C, Silveira C, Cardoso MA, Marques P, Luquetti A, Macedo V & Fernandes O. 2001. Parasite persistence in treated chagasic patients revealed by xenodiagnosis and polymerase chain reaction. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96: 823-826.
- Brum-Soares LM, Xavier SS, Sousa AS, Borges-Pereira J, Ferreira JM, Costa IR, Junqueira ACV & Coura JR. 2010. Morbidade da doença de Chagas em pacientes autóctones da microrregião do Rio Negro, Estado do Amazonas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 43 (2):170-177.
- Brumpt PE 1914. Le Xenodiagnostic. Application au diagnostic de quelques infections parasitaires et en particulier à la Trypanosomose de Chagas. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 77: 706-710.
- Budzko DB & Kierszenbaum F. 1974. Isolation of *Trypanosoma cruzi* from blood. *The Journal of Parasitology* 60 (6): 1037-1038.
- Bulhões TP, Zauza PL, Silva ED, Sampaio MX & Borges-Pereira J. 2004. *Trypanosoma cruzi*: Avaliação do desempenho de biodemas no diagnóstico sorológico da Doença de Chagas crônica. *Revista de Patologia Tropical* 33(2): 227-241.
- Camandaroba ELP, Reis EAG, Gonçalves MS, Reis MG & Andrade SG. 2003. *Trypanosoma cruzi*: susceptibility to chemotherapy with benznidazole of clones isolated from the highly resistant Colombian strain. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 36: 201-209
- Camargo ME. 1966. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 8: 227-234

- Camargo ME, Silva JR, Castilho EA & Silveira AC. 1984. Inquérito sorológico da prevalência da infecção chagásica no Brasil, 1975-1980. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 26:192-204.
- Campos RF, Guerreiro MLS, Sobral KSC, Lima RCPC & Andrade SG. 2005. Response to chemotherapy with benznidazole of clones isolated from the 21SF strain of *Trypanosoma cruzi* (biodeme Type II, *Trypanosoma cruzi* II). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 38: 142-146.
- Cançado JR. 1968. Tratamento da doença de Chagas. In: Cançado JR (Ed). Doença de Chagas. Belo Horizonte, Brasil. *Imprensa Oficial do Estado de Minas Gerais* p: 517-540.
- Cançado JR & Brener Z. 1979. Terapêutica. In: Brener Z & Andadre ZA (Eds). *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas. 1ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p.362-424.*
- Cançado JR. 1985. Tratamento específico. In: Cançado JR & Chuster M (Eds). *Cardiopatia Chagásica. Editora Fundação Carlos Chagas, Belo Horizonte, MG, Brasil. 327-355.*
- Cançado JR. 1997. Terapêutica específica. *Dias JCP & Coura JR (Eds). Clínica e Terapêutica da doença de Chagas. Rio de Janeiro, Brasil: Editora FIOCRUZ. 323-351.*
- Cançado JR. 1998. Tratamento específico da doença de Chagas crônica pelo Benznidazol. *Revista de Patologia Tropical* 27 (Supl): 21-23.
- Cançado JR. 1999. Criteria of Chagas disease cure. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 94 (supl I): 331-335.
- Cançado JR. 2000. Tratamento etiológico da doença de Chagas pelo benznidazole. In: Brener Z, Andadre ZA & Barral-Neto M (Eds). *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas. 2. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p.389-405.*
- Cançado JR. 2002. Long term evaluation of etiological treatment of Chagas disease with benznidazole. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 44: 1-20.

- Carlier Y, Dias JCP & Luquetti AO. 2002. Trypanosomiase americana ou maladie de Chagas. *Enciclop Méd-Chirurgicale* 8:505-520.
- Carvalho MR, Krieger MA, Almeida E, [Oelemann W](#), Yassuda MAS, [Ferreira AW](#), Borges-Pereira J, Saez-Alquezar A, Llacer PED, Chamone DF & Goldenberg S. 1993. Chagas' disease diagnosis: evaluation of several tests in blood bank screening. *Transfusion* 33 (10): 830-834.
- Castro C. 1980. Influência da parasitemia no quadro clínico da doença de Chagas. *Revista de Patologia Tropical* 9:73-136.
- Castro C. 1993. Estudo longitudinal da parasitemia na doença de Chagas crônica e sua correlação com a evolução clínica. *Tese de doutorado, UFMG, 161 p.*
- Castro C, Macêdo V & Prata A. 1999. Comportamento da parasitemia pelo *Trypanosoma cruzi* em chagásicos crônicos durante 13 anos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 32: 157-165.
- Castro C, Prata A & Macêdo V. 2005. Influência da parasitemia na evolução da doença de Chagas crônica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 38:1-6.
- Castro JAF. 1997. *Trypanosoma cruzi* e Morbidade da doença de Chagas em duas áreas endêmicas no Nordeste do Brasil. *Tese de doutorado. Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 113p.*
- Castro SL. 1993. The challenge of Chagas disease chemotherapy: an update of drugs assayed against *Trypanosoma cruzi*. *Acta Tropica* 53: 83-98.
- Chagas C. 1909. Nova Tripanozomíase humana. Estudo sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi*. n. gen., n. sp. agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 1:159-218.
- Chagas C. 1910. Aspecto clínico geral da nova entidade mórbida produzida pelo *Schizotrypanum cruzi* (nota prévia). *Brasil Médico* 27: 263-265.
- Chagas C. 1911. Nova entidade mórbida do homem. Resumo geral de estudos etiológicos e clínicos. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 3:219-275.

- Chagas C. 1918. Papel do tatu (*Tatusia novemcincta*) na transmissão do *Trypanosoma cruzi*. *Revista Médica Cirúrgica do Brasil* 26: 220-223.
- Chagas C & Villela E. 1922. Forma cardíaca da Trypanosomíase Americana. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 14:5-61.
- Chiari E & Dias JCP. 1975. Nota sobre uma nova técnica de hemocultura para diagnóstico parasitológico na doença de Chagas na sua fase crônica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 9:133-136.
- Consenso Brasileiro em Doença de Chagas – CBDC. 2005. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 38 (supl III): 1-29.
- II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas – CBDC. 2016. *Revista Epidemiologia e Serviços de Saúde* 25 (número especial): 7-86.
- Correia-lima FG. 1976. Doença de Chagas no município de Oeiras, Piauí. Estudo seccional nas localidades de Colônia e Oitis. *Dissertação de Mestrado, UFRJ*, 67 p.
- Coura JR. 1973. Estudos seccionais e longitudinais sobre a doença de Chagas. Projeto de Pesquisas apresentado ao CNPq.
- Coura JR, Abreu LL, Dubois LEG, Correia-Lima F, Arruda Jr E, Willcox HPF, Anunziato N & Petana W. 1984. Morbidade da doença de Chagas. II - Estudos seccionais em quatro áreas de campo no Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 79: 101-124.
- Coura JR & Borges-Pereira J. 1984. A follow-up evaluation of Chagas disease in two endemic areas in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 79 (Supl. I): 107-112*.
- Coura JR, Abreu LL, Borges-Pereira J & Willcox HP. 1985. Morbidade da doença de Chagas IV. Estudo longitudinal de 10 anos em Pains e Iguatama, Minas Gerais, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 80:73-80.
- Coura JR. 1990. Doença de Chagas como endemia na Amazônia Brasileira: Risco ou Hipótese? *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 23 (2): 67-70.

- Coura JR, Abreu LL, Willcox HPF & Petana W. 1991. Evaluation of the xenodiagnosis of chronic Chagas patients infected ten years or over in an area where transmission has been interrupted-Iguatama and Pains, West Minas Gerais State, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 86:395-398.
- Coura JR, Junqueira ACV, Giordano CM & Funatsu IRK. 1994a. Chagas Disease in the Brazilian Amazon. I- A short review. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 36 (4): 363-368.
- Coura JR, Barrett TV & Naranjo MA. 1994b. Ataque de populações humanas por triatomíneos silvestres no Amazonas: Uma nova forma de transmissão da infecção chagásica? *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 27(4): 251-253.
- Coura JR, Naranjo MA & Willcox HPF. 1995. Chagas disease in the Brazilian Amazon. II- A serological survey (1). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 37 (2): 103-107.
- Coura JR, Willcox HPF, Naranjo MA, Fernandes O & Paiva DD. 1995. Chagas disease in the Brazilian Amazon. III - A cross-sectional study. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 37:415-420.
- Coura JR, Fernandes O, Naranjo MA, Barret TV, Carrara N, Degrave W & Campbell DA. 1996. Human infection by *Trypanosoma rangeli* in the Brazilian Amazon. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 90: 278-279.
- Coura JR, Abreu LL, Willcox HPF & Petana W. 1997. Estudo comparativo controlado com emprego de benznidazole, nifurtimox e placebo, na forma crônica da doença de Chagas, em uma área de campo com transmissão interrompida. I – Avaliação preliminar. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 30 (2):139-144.
- Coura JR, Junqueira ACV, Bóia MN, Fernandes O, Bonfante C, Campos JE, Santos L & Devera R. 2002. Chagas disease in the Brazilian Amazon. IV- A new cross-sectional study. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 44(3):159-165.

- Coura JR & Castro SL. 2002. A Critical Review on Chagas Disease Chemotherapy. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 97: 3-24.
- Coura JR & Borges-Pereira J. 2010. Chagas disease: 100 years after its discovery. A systemic review. *Acta Tropica* 115: 5–13.
- Coura JR & Borges-Pereira J. 2011. Chronic phase of Chagas disease: why should it be treated? A comprehensive review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 106 (6): 641-645.
- Coura JR & Borges-Pereira J. 2012. Chagas disease. What is known and what should be improved: a systemic review. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 45 (3): 286-296.
- Coura JR, Marquez MHP, Guerra JAO, Zauza PL, Miguel JC & Borges-Pereira J. 2013. A New survey of the serology of human *Trypanosoma cruzi* infection in the Rio Negro microregion, Brazilian Amazon: a critical analysis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 108 (7): 909-913.
- Cunha-Neto E, Nogueira LG, Teixeira PC, Ramasawmy R, Drigo AS, Goldberg AC, Fonseca SG, Bilate AM & Kalil J. 2009. Immunological and non-immunological effects of cytokines and chemokines in the pathogenesis of chronic Chagas disease cardiomyopathy. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 104 (suppl I):252-258.
- De Castro SL. 1993. The challenge of Chagas disease chemotherapy: an update of drugs assayed against *Trypanosoma cruzi*. *Acta Tropica* 53: 83-98.
- Devera R, Illarramendi X, Montoya-Araújo R, Pirmez C, Fernandes O & Coura JR. 2002. Biodemas de cepas do *Trypanosoma cruzi* isoladas de humanos de três áreas endêmicas de Mins Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 35 (4): 323-330.
- Dias E. 1945. Um ensaio de profilaxia da moléstia de Chagas. *Imprensa Nacional, Rio de Janeiro*, 116 p.
- Dias E. 1946. Acerca de 254 casos de doença de Chagas comprovados em Minas Gerais. *Brazil-Medico* 60: 41-4

- Dias JCP & Kloetzel K. 1968. The prognostic value of the electrocardiographic features of chronic Chagas disease. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 10: 158-162.
- Dias JCP. 1982. Doença de Chagas em Bambuí, Minas Gerais, Brasil. Estudo clínico-epidemiológico a partir da fase aguda, entre 1940 e 1982. [Tese]. [Belo Horizonte]: Universidade Federal de Minas Gerais. 313p.
- Dias JCP, Camacho LAB, Silva JC, Magalhães JS & Krieger H. 1983. Esofagopatia chagásica em área endêmica de Mambáí, MG, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 16: 46-57.
- Dias JCP. 1998. The indeterminate form human chronic Chagas disease. A clinical, epidemiological review. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 22 (3):147-156.
- Dias JCP. 2000. Epidemiologia. In: Brener Z, Andrade ZA & Barral-Neto M. (Eds). *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*, 2^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 48-74.
- Dias LC, Dessoy MA, Silva JJM, Thiemann OH, Oliva G & Andricopulo AD. 2009. Quimioterapia da doença de Chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. *Química Nova* 32 (9): 2444-2457.
- Diaz-de-Toranzo EG, Castro JA, Franke-de-Cazzulo BM & Cazzulo JJ. 1988. Interaction of benznidazole reactive metabolites with nuclear and kinetoplasmic DNA, proteins and lipids from *Trypanosoma cruzi*. *Experientia* 44: 880-881.
- Do Campo R. 2001. Recent developments in the chemotherapy of Chagas disease. *Current Pharmacological Design* 7: 1157-1164.
- Dubois LE. 1977. Morbidade da doença de Chagas. Estudo seccional em uma área endêmica. *Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro*, 82p.
- Erlich HA, Gelfand D & Sninsky JJ. 1991. Recent Advances in the Polymerase Chain Reaction. *Science* 252: 1643-1651.

- Escriba JM, Ponce E, Romero AD, Albajar-Vinas P, Marchiol A, Bassets G, Palma PP, Lima MA, Zuniga C & Ponce C. 2009. Treatment and seroconversion in a cohort of children suffering from recent chronic Chagas infection in Yoro, Honduras. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 104: 986-991.
- Fabbro de Suasnabar S, Arias E, Streiger M, Piacenza M, Ingaramo M, Del Barco M & Amicone N. 2000. Evolutive behavior towards cardiomyopathy of treated (Nifurtimox or Benznidazole) and untreated chronic chagasic patients. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 42 (2): 99-109.
- Fernandes CD, Tiecher FM, Balbinot MM, Liarte DB, Scholl D, Steindel M & Romanha A. 2009. Efficacy of benznidazol treatment for asymptomatic chagasic patients from state of Rio Grande do Sul evaluated during a three years follow-up. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 104:27-32.
- Fernández ML, Marson ME, Ramirez JC, Mastrantonio G, Schijman AG, Altchech J, Riarte AR & Bournissen FG. 2016. Pharmacokinetic and pharmacodynamic responses in adult patients with Chagas disease treated with a new formulation of benznidazole. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 111:218-221.
- Ferreira HO. 1990. Tratamento da forma indeterminada da doença de Chagas com Nifurtimox e Benznidazol. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 23:209-211.
- Fife EH & Muschel LH. 1959. Fluorescent antibody technic for serodiagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. *Proc. Soc. Exp. Biolog. Med.* 101(3): 540-543.
- Figueiredo PZ, Correia-Lima FG & Portella Nunes JN. 1975. Doença de Chagas: primeiros casos autóctones no estado do Piauí. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 9:105-107.
- Francolino SS, Antunes AF & Talice R. 2003. New evidences of spontaneous cure in human Chagas disease. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 36:103-107.
- Gallerano RH, Mar JJ & Sosa RR. 1990. Therapeutic efficacy of allupurinol in patients with chronic Chagas disease. *American Journal of Tropical Medicine and hygiene* 43: 159-166.

- Gallerano RH & Sosa RR. 2001. Resultados de um estudo a longo prazo com drogas antiparasitarias en infectados chagásicos crônicos. *Revista de la federacion Argentina de cardiologia* 30: 289-296.
- Galvão LMC, Chiari E, Macedo AM, Luquetti AO, Silva SA & Andrade ALSS. 2003. PCR assay for monitoring *Trypanosoma cruzi* parasitemia in Childhood after specific chemotherapy. *Journal of Clinical Microbiology* 41(11): 5066-5070.
- Guariento ME, Orosz JEB & Gontijo JAR. 1998. Interação clínica entre moléstia de Chagas e hipertensão arterial primária em um serviço de referência ambulatorial. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 70(6): 431-434.
- Gurgel CBFM, Miguel Junior A, Mendes CR, Zerbini CO & Carcioni TM. 2003. Frequency of hypertension in chronic Chagas' disease. Restrospective clinical study. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 81(6): 545-548
- . Gurgel CBFM & Almeida EA. 2007. Frequência da hipertensão arterial em chagásicos crônicos e sua repercussão no coração: Estudo clínico e anatomopatológico. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 89(3): 191-200.
- Gusmão RDA, Rezende JM, Rassi A, Gam AA & Neva FA. 1982. Antibody levels to *Trypanosoma cruzi* in infected patients with and without evidence of chronic Chagas disease. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 31: 452-458.
- Gutierrez MC, Martins, IA, Hasslocher-Moreno AM, [Xavier SS](#), Coelho, Chicarino JM, Junqueira ACV & Santos RR. 1999. Reativação da infecção por *Trypanosoma cruzi* em paciente com síndrome de imunodeficiência adquirida. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 32, n.3, p. 291-294.
- Hasslocher-Moreno AM, Brasil PEAA, Souza AS, Xavier SS, Chambela MC & Silva GMS. 2012. Safety of benznidazole use in the treatment of chronic Chagas' disease. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 67(5): 1261-1266.

- Hoff R, Mott KE, Silva JF, Menezes V, Hoff JN, Barret TV & Sherlock I. 1979. Prevalence of parasitemia and seroreactivity to *Trypanosoma cruzi* in a rural population of Northeast Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 28:361-366.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
<http://www.censo2010.ibge.gov.br/>
- Jesionek MB, Borges-Pereira J, Zauza PL, Castro JAF & Britto C. 2007. Prevalência e evolução da parasitemia em pacientes chagásicos crônicos da XI Diretoria Regional de Saúde do estado do Piauí, Brasil, monitorada pela técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 40: 150-151.
- Junqueira ACV, Chiari E & Wincker P. 1996. Comparison of the polymerase chain reaction with two classical parasitological methods for the diagnosis of Chagas disease in an endemic region of North-Eastern Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 90: 129-132.
- Kloetzel K & Dias JCP. 1968. Mortality in Chagas disease: life-table for the period 1949-1967 in an unselected population. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 10:5-8.
- Krieger MA, Almeida E, Oelemann W, Lafaille JJ, Borges-Pereira J, Krieger H, Carvalho MR, & Goldenberg S. 1992. Use of recombinant antigens for the accurate immunodiagnosis of Chagas disease. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 46: 427-434.
- Lana M, Lopes LA, Martins HR, Bahia MT, Machado-de-Assis GF, Wendling AP, Martins-Filho OA, Montoya RA, Dias JCP, Albajar-Vinas P & Coura JR. 2009. Clinical and laboratory status of patients with chronic Chagas disease living in a vector-controlled área in Minas Gerais, Brazil, before and nine years after aetiological treatment. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 104: 1139-1147.
- Laranja FS, Dias E & Nobrega GC. 1948. O eletrocardiograma na cardiopatia chagásica crônica a doença de Chagas. *Brazil-Medico* 62: 3-10

- Laranja FS. 1953. Aspectos clínicos da moléstia d Chagas. *Revista Brasileira de Medicina* 10: 482-491
- Laranja FS, Dias E, Nobrega GC & Miranda A. 1956. Chagas disease: a clinical epidemiological and pathologic study. *Circulation* 14: 1035-1060.
- Lasmar JE. 1944. Casos agudos da Doença de Chagas em Bambuí, Oeste de Minas Gerais. *Brazil-Medico* 58:232-233.
- Lauria-Pires L, Castro CN, Emanuel A & Prata, A. 1998. Ineficácia do allopurinol em pacientes na fase aguda da doença de Chagas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 21: 79.
- Lauria-Pires L, Braga MS, Vexenat AC, Nitz N, Simões-Barbosa A, Tinoco DL & Teixeira ARL. 2000. Progressive chronic Chagas heart disease ten years after treatment with anti-*Trypanosoma cruzi* nitroderivatives. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 63: 111-118.
- Llinares FJB. 1991. Estudo da resposta imune humoral na infecção chagásica crônica. *Dissertação de Mestrado. Instituto de Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.*126p.
- Macedo V. 1976. Influência da exposição à reinfecção na evolução da doença de Chagas. Estudo Longitudinal de 5 anos. *Revista de Patologia Tropical* 5:33-116.
- Macedo V. 1980. Forma indeterminada da doença de Chagas. *Jornal Brasileiro de Medicina* 38: 34-40.
- Macedo V, Silveira CAN & Maués WR. 1985. Influência da terapêutica específica na evolução da forma indeterminada da doença de Chagas. In: *Resumos do XXI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, São Paulo, p 40-41.*
- Macedo V & Silveira AC. 1987. Perspectiva da terapêutica específica da doença de Chagas. Experiências na forma indeterminada. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 20 (supl. II): M24-M26.

- Machado-de-Assis GF. 2011. Avaliação laboratorial e clínica de indivíduos chagásicos tratados com benzonidazol e não tratados residentes no município de Berilo, Vale do Jequitinhonha, MG. *Tese de Doutorado. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil. 128p.*
- Machado-de-Assis GF, Diniz GA, Montoya R, Dias JCP, Coura JR, Machado-Coelho GLL, Albajar-Viñas P, Torres RM & Lana M. 2013. A serological, parasitological and clinical evaluation of untreated Chagas disease patients and those treated with benznidazole before and thirteen years after intervention. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 108 (7): 873-880.*
- Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 1996. Tratamento etiológico da doença de Chagas. 32p.
- Molina J, Martins-Filho O, Brener Z, Romanha AJ, Loebenberg D & Urbina JA. 2000. Activities of the triazole derivative SCH 56592 (pozoconazol) against drug-resistant strains of the protozoan parasite Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi in immunocompetent and immunosuppressed murine hosts. *Antimicrobiological Agents Chemotherapy 44: 150-155.*
- Molina J, Urbina JA, Gref R, Brener Z & Rodrigues Junior JM. 2001. Cure of experimental Chagas disease by the bis-triazole DO870 incorporated into “stealth” polyethyleneglycolpolylactide microspheres. *Journal of Antimicrobiological Chemotherapy 47: 101-104.*
- Montoya RA 1998. Morbidade da doença de Chagas no município de Berilo, Minas Gerais, Brasil. Estudos seccional e longitudinal da cardiopatia chagásica crônica (1987 - 1997), *Tese de doutorado. Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 153p.*
- Moraes-Souza H & Ferreira-Silva MM. 2011. O controle da transmissão transfusional. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 44 (supl II):64-67.*

- Morillo CA, Marin-Neto JA, Avezum A, Sosa-Estani S, Rassi Jr A, Rosas F, Villena E, Quiroz R, Bonilla R, Britto C, Guhl F, Velazquez E, Bonilla L, Meeks B, Rao-Melacini P, Pogue J, Mattos A, Lazdins J, Rassi A, Connolly SJ & Yusuf S, for the BENEFIT investigators. 2015. Randomized trial of benznidazole for chronic Chagas Cardiomyopathy. *The New England Journal of Medicine* 373 (14): 1295-1306.
- Mota ELA, Todd C, Maguire JH, Portugal D, Santana D, Ribeiro Filho R & Sherlock I. 1984. Megaesophagus and seroreactivity to *Trypanosoma cruzi* in a rural community in Northeast Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 33: 820-826.
- Mota ELA. 1989. Mortalidade em uma população rural endêmica para a doença de Chagas. Um estudo longitudinal de nove anos em Castro Alves, Bahia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 22: 63-65.
- Mott E, Lehman JS, Hoff R, Morrow RH, Muniz TM, Sherlock I, Draper CC, Pugliese C & Guimarães A. 1976. The epidemiology and household distribution of seroreactivity to *Trypanosoma cruzi* in a rural community in Northeast Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 25: 552-562.
- Moser DR, Kirchhoff LV & Donelson JE. 1989. Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA amplification using the Polymerase Chain Reaction. *Journal of Clinical Microbiology* 27:1477-1482.
- [Mullis K](#), [Faloona F](#), [Scharf S](#), [Saiki R](#), [Horn G](#) & [Erich H](#). 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 51:263-273.
- Negrette OS, Valdéz FJS, Lacunza CD, Bustos MFG, Mora MC, Uncos AD & Basombrío MA. 2008. Serological evaluation of specific-antibody levels in patients treated for Chaga's disease. *ASM Clinical and vaccine immunology* 15(2): 297-302.

- Niborski LL, Grippo V, Lafón SO, Levitus G, García-Bournissen F, Ramirez JC, Burgos JM, Bisio M, Juiz NA, Ayala V, Coppede M, Herrera V, López C, Contreras A, Gómez KA, Elean JC, Mujica HD, Schijman AG, Levin MJ & Longhi SA. 2016. Serological based monitoring of a cohort of patients with chronic Chagas disease treated with benznidazole in a highly endemic area of northern Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 111(6): 365-371.
- Nicoll D, Mc Phee SJ & Pignone M. 2007. Manual de exames dignósticos. 4ª edição. *Artmed, São Paulo, 512p.*
- NYHA - New York Heart Association. 1973. Nomenclature and criteria for diagnosis of disease of the heart and great vessels. 7th edition. Little and Brow Company, Boston.
- Oelemann WMR, Teixeira MGM, Da Costa GCV, Borges-Pereira, Castro JAF, Coura JR & Peralta JM. 1998. Evaluation of Three Cpmmercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Diagnosis of Chagas' Disease. *Journal of Clinical Microbiology* 36(9): 2423-2427.
- Oelemann WMR, Vanderborcht BOM, Da Costa GCV, Teixeira MGM, Borges-Pereira J, Castro JAF, Coura JR, Stoops E, Hulstaert F, Zrein M & Peralta JM. 1999. A recombinant peptide antigen line immunoassay optimized for the confirmation of Chagas' disease. *Transfusion* 39:711-717.
- Oliveira CCS. 2013. Acompanhamento da parasitemia, dos níveis sorológicos e da evolução clínica de portadores da doença de Chagas crônica residentes no Mato Grosso do Sul, onze anos após tratamento com benznidazol. *Dissertação de Mestrado. Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ. 118p.*
- OMS/OPAS - Organización Mundial de la Salud/Organización Panamericana de la Salud 1974. Aspectos clínicos de la enfermedad de Chagas. Informe de una reunión conjunta OMS/OPAS de investigadores. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana* 76: 141-158.

- Pacheco RS, Brito CMM, Sarquis O, Pires MQ, Borges-Pereira J & Lima MM. 2006. Genetic heterogeneity in *Trypanosoma cruzi* strains from naturally infected triatomine vectors in northeastern Brazil: epidemiological implications. *Biochemical Genetics* 43(9): 519-530.
- Pedrosa RC, Cançado JR & Decache W. 1993. Estudo longitudinal do eletrocardiograma na doença de Chagas desde a fase aguda. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 26 (3): 163-174.
- Peralta JM, Teixeira MGM, Shreffler WG, Borges-Pereira J, Burns JRJM, Sleath PR & Reed SG. 1994. Serodiagnosis of Chagas Disease by Enzyme-linked Immunosorbent assay using two synthetic peptides as antigen. *Journal of Clinical Microbiology* 32(4): 971-974.
- Perlowagora-Szumlewicz A & Muller CA. 1987. Studies in Search of a suitable experimental insect model for xenodiagnosis of host with Chagas disease. II – attempts to upgrade the efficiency and reliability of xenodiagnosis in chronic Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 82: 259-272.
- Perlowagora-Szumlewicz A, Muller CA & Moreira CJC. 1988. Studies in Search of a suitable experimental insect model for xenodiagnosis of host with Chagas disease. III – On the interaction of vector species and parasite strain in the reaction of bugs to infection by *Trypanosma cruzi*. *Revista de Saúde Pública de São Paulo* 22: 390-400.
- Perlowagora-Szumlewicz A, Muller CA & Moreira CJC. 1990. Studies in Search of a suitable experimental insect model for xenodiagnosis of host with Chagas disease. IV – The reflection of parasite stock in the responsiveness of different vector species to chronic infection with diferente *Trypanosoma cruzi*. *Revista de Saúde Pública de São Paulo* 24: 77- 82.
- Pinto OS, Bicalho JC & Guedes AS. 1952. Contribuição ao conhecimento da distribuição geográfica dos triatomíneos domiciliares e de seus índices de infecção natural pelo *Trypanosoma cruzi*, no estado de Minas Gerais, Brasil. *Revista de Malariologia e Doenças Tropicais* 4: 105-122.

- Pompilio MA, Dorval MEMC, Cunha RV, Britto C & Borges-Pereira J. 2005. Aspectos epidemiológicos, clínicos e parasitológicos da doença de Chagas em Mato Grosso do Sul. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 38: 473-478.
- Pontes VMO, Souza-Jr AS, Cruz FMT, Coelho HLL, Dias ATN, Coêlho ICB & Oliveira MF. 2010. Reações adversas em pacientes com doença de Chagas tratados com benzonidazol, no Estado do Ceará. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 43(2):182-187.
- PNUD – Plano das Nações Unidas para o Desenvolvimento. www.pnud.org.br/IDH.aspx
- Portela-Lindoso AAB & Shikanai-Yasuda MA. 2003. Doença de Chagas crônica: do Xenodiagnóstico e hemocultura à reação em cadeia da polimerase. *Revista de Saúde Pública* 37: 107-115.
- Portella RS & Andrade SG. 2009. *Trypanosoma cruzi*: parasite antigens sequestered in heart interstitial dendritic cells are related to persisting myocarditis in benznidazole-treated mice. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 104 (7): 1023-1030.
- Prata AR. 1959. Prognóstico e complicações da doença de Chagas. *Revista Goiana de Medicina* 5: 87-96.
- Prata AR. 1976. Natural history of chagasic cardiomyopathy. In: American Trypanosomiasis Research. Proceedings of an international symposium PAHO/WHO. *Scientific Publication* 318: 191-193.
- Rassi A, Amato Neto V, Siqueira AF, Doles J, Leite MSB & Cardoso VM. 1997. Influência de corticóide, na doença de Chagas crônica, administrado em virtude de afecções associadas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 30: 93-99.
- Rassi A, Amato Neto V, Siqueira AF, Ferriolli Filho F, Amato VS & Rassi Jr A. 1999. Efeito protetor do benznidazol contra a reativação parasitária em pacientes cronicamente infectados pelo *Trypanosoma cruzi* e tratados com corticóide em virtude de afecções associadas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 32: 475-482.

- I Reunião Anual de Pesquisa Aplicada em Doença Chagas. Validade do conceito de forma indeterminada de doença de Chagas. 1985. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 18: 46.
- Rezende JM, Oliveira R & Lauer KM. 1960. Aspectos clínicos e radiológicos da aperistalsis do esôfago. *Revista Brasileira de Gastroenterologia* 12:247-262.
- Rezende JM. 1979. Manifestações digestivas da doença de Chagas. In: *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*. Brener Z & Andrade Z (Eds), Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p 312-361.
- Romaña C. 1935. Acerca de un sintoma inicial de valor para el diagnóstico de la forma aguda de la enfermedad de Chagas. La conjuntivitis esquizotripanósica unilateral (hipótesis sobre puerta de entrada conjuntival de la enfermedad). *M.E.P.R.A* 22 (3):16-28.
- Salgado JA & Pellegrino J. 1968. Distribuição geográfica: Inquérito sorológico. In: *Doença de Chagas*. Cançado JR (Ed.), Imprensa Oficial de Minas Gerais, Minas Gerais, p 143-162.
- Santos LS, Torres RM, Machado-de-Assis GF, Bahia MT, Martins HR, Teixeira-Carvalho A, Coelho-dos-Reis JGA, Albajar-Viñas P, Martins-Filho OA & Lana M. 2012. In-house ELISA method to analyze anti-*Trypanosoma cruzi* Ig G reactivity for differential diagnosis and evaluation of Chagas disease morbidity. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 45 (1):35-44.
- Santos-Neto LL, Polcheira MF, Castro C, Lima RAC, Simaan CK & Corrêa-Lima FA. 2003. Alta parasitemia pelo *Trypanosoma cruzi* em paciente com lúpus eritematoso sistêmico. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 36: 613-615.
- Sartori AMC, Eluf-Neto J, Nunes EV, Braz LMA, Caiaffa-Filho HH, Oliveira Jr. OC, Amato Neto V & Shikanai-Yasuda MA. 2002. *Trypanosoma cruzi* parasitemia in chronic Chagas disease: Comparison between human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-negative patients. *The Journal of infectious disease* 186: 872-875.

- Sarquis OMF, Borges-Pereira J, Mac Cord JR, Gomes TF, Cabello PH & Lima MM. 2004. Epidemiology of Chagas disease in Jaguaruana, Ceará, Brazil. I – Presence of triatomines and index of *Trypanosoma cruzi* infection in four localities of a rural area. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 99 (3): 263-270.
- Sarquis OMF, Sposina R, Oliveira TG, Mac Cord JR, Cabello PH, Borges-Pereira & Lima MM. 2006. Aspects of peridomiliary ecotopes in rural areas of Northeastern Brazil associated to triatomine (Hemiptera, Reduviidae) infestation, vectors of Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 101 (2): 143-147.
- Sáez-Alquézar A, Luquetti A, Borges-Pereira J, Moreira EF, Gadelha MFS, Zapata MTG & Arruda AHS. 1997. Estudo multicêntrico: Avaliação do desempenho de conjuntos diagnósticos de Hemaglutinação indireta, disponíveis no Brasil, para o diagnóstico sorológico da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. *Revista de Patologia Tropical* 26 (2): 343-374.
- Silveira AC. 2000. Situação do controle da transmissão vetorial da doença de Chagas nas Américas. *Cadernos de Saúde Pública* 16 (Supl. 2):35-42.
- Silveira CAN, Castillo E & Castro C. 2000. Avaliação do tratamento específico para o *Trypanosoma cruzi* em crianças, na evolução da fase indeterminada. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 33:191-196.
- Schiller NB, Shah PM, Crawford M, DeMana A, Devereux R, Feigenbaum H, Guttesell H & Tajik AS. 1989. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. *Journal of American Society Echocardiography* 2:358-365.
- Schlemper Jr BR. 1982. Caracterização de cepas de *T. cruzi* isoladas de pacientes com diferentes formas clínicas da doença de Chagas. *Tese de doutorado, UFRJ, 130 p.*
- Schofield CJ & Dias JCP. 1991. A cost benefit analysis of Chagas' disease control. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 86:285-295.

- Sguassero Y, Cuesta CB, Roberts KN, Hicks E, Comandé D, Ciapponi A & Sosa-Estani S. 2015. Course of chronic *Trypanosoma cruzi* infection after treatment based on parasitological and serological tests: A systematic review of follow-up studies. *Plos One* 10 (10):1-23.
- Sheps MC. 1959. An examination of some methods of comparing several rates of proportions. *Biometrics* 15: 87-97.
- Sociedade Brasileira de Cardiologia. 2010. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão P: 1-57.
- Sosa-Estani S, Segura EL, Ruiz AM, Velasquez E, Porcel BM & Yampotis C. 1998. Efficacy of chemotherapy with benznidazole in children in the indeterminate phase of Chagas` disease. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 59: 526-529.
- Sousa AS, Xavier SS, Freitas GR & Moreno AH, 2008. Estratégias de prevenção do Acidente Vascular Encefálico Cardiembólico na Doença de Chagas. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 91: 280-284.
- Souza SL & Camargo ME. 1966. The use of filter paper blood smear in a practical fluorescent test for American Trypanosomiasis serodiagnosis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 8: 255-258.
- Streiger ML, Del barco ML, Fabbro DL, Arias ED & Amicone NA. 2004. Estudo longitudinal e quimioterapia específica em crianças, com doença de Chagas crônica, residentes em áreas de baixa endemicidade da República Argentina. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 37: 365-375.
- Strout RG. 1962. A method for concentrating hemoflagellates. *The Journal of Parasitology* 48(1):100.
- Teicholz LE, Kreuler T & werman MV. 1976. Problems in echocardiographic volume determinations: echocardiographic-angiographic correlations in the presence or absence of asynergy. *American Journal of Cardiology* 37:7-12.
- Teixeira MGM. 1977. Doença de Chagas. Estudo da forma aguda inaparente. *Dissertação de Mestrado. Departamento de Medicina Preventiva da UFRJ, 51p.*

- Teixeira MGM, Borges-Pereira J, Netizert E, Souza MLNX & Peralta JM. 1994. Development and evaluation of an enzyme linked immunotransfer blot technique for serodiagnosis of Chagas disease. *Tropical Medicine and Parasitology* 45: 308-312.
- Umezawa ES, Nascimento MS, Kesper Jr. N, Coura JR, Borges-Pereira J, Junqueira ACV & Camargo ME. 1996. Immunoblot Assay Using Excreted-Secreted Antigens of *Trypanosoma cruzi* in Serodiagnosis of Congenital, Acute, and Chronic Chagas' Disease. *Journal of Clinical Microbiology* 34 (9): 2143-2147.
- Urbina JA, Payares G, Molina J, Sanoja C, Liendo A, Lizardi Piras MM, Piras R, Perez N, Wincker P & Riley JF. 1996. Cure of short and long-term experimental Chagas disease using DO870. *Science* 273: 969-971.
- Urbina JA, Moreno B, Vierkotter S, Oldfield E, Payares G, Sanoja C, Bailey BN, Yan W, Scott DA, Moreno SN & Do Campo R. 1999. *Trypanosoma cruzi* contains major pyrophosphate stores and its growth in vitro and in vivo is blocked by pyrophosphate analogs. *Journal of Biological Chemistry* 274: 33609-33615.
- Urbina JA, Lira R, Visbal G & Bartroli J. 2000. In vitro antiproliferative effects and mechanism of action of the new triazole derivative UR-9825 against the protozoan parasite *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*. *Antimicrobiological Agents Chemotherapy* 44: 2498-2502.
- Velasco HMA. 1988. Epidemiologia da doença de Chagas: aspectos históricos, sociais e morbidade em duas áreas endêmicas de Minas Gerais, Brasil. *Dissertação de Mestrado. Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, 188 p.*
- Villar JC, Perez JG, Cortes OL, Riarte A, Pepper M, Marin-Neto JA & Guyatt GH. 2014. Trypanocidal drugs for chronic asymptomatic *Trypanosoma cruzi* infection (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews Issue 5. Art. No.: CD003463. DOI: 10.1002/14651858.CD003463.pub2.*
- Viotti R, Vigliano C, Armenti H & Segura E. 1994. Treatment of chronic Chagas' disease with benznidazole: clinical and serologic evolution of patients with long-term follow-up. *American Heart Journal* 127: 151-162.

- Viotti R, Vigliano C, Lococo B, Bertocchi G, Petti M, Alvarez MG, Postan M & Armenti A. 2006. Long-term cardiac of treating chronic Chagas disease with benznidazole versus no treatment. *Ann Intern Med.* 144:724-734.
- Voller A, Draper C, Bidwell DE & Bartlett A. 1975. A micro-plate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for Chagas disease. *The Lancet* 1: 426-429.
- World Health Organization - WHO.1991. *Control of Chagas disease, WHO Technical report series 811, Geneva, 95 p.*
- Wincker P, Bosseno MF, Britto C, Yaksic N, Cardoso MA, Morel MA & Brenière SF. 1994. High correlation between Chagas' disease serology and PCR-based detection of *Trypanosoma cruzi*, kinetoplast DNA in Bolivian Children living in an endemic area. *FEMS Microbiology Letters* 124: 419-424.
- Wincker P, Britto C, Borges-Pereira J, Cardoso MA, Oelemann W & Morel CM. 1994. Use of a simplified polymerase chain reaction procedure to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples from chronic chagasic patients in a rural endemic area. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 51:771-777.
- Xavier SS. 1999. Estudo longitudinal da morbi-mortalidade cardíaca da doença de Chagas em coorte de um grande centro urbano: análise clínica, eletrocardiográfica, radiológica e ecocardiográfica de 604 casos. *Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ. 180 p.*
- Xavier SS, Sousa AS, Brasil PEAA, Gabriel FG, Holanda MT, Hasslocher-Moreno A, Garcia MY & Siciliano APRV. 2005. Incidência e preditores de morte súbita na cardiopatia chagásica crônica com função sistólica preservada. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado do Rio de Janeiro* 18:457-463.
- Xavier SS, Sousa AS, Viñas PA, Junqueira ACV, Bóia MN & Coura JR. 2006. Cardiopatia chagásica crônica no Rio Negro, Estado do Amazonas. Relato de três novos casos autóctones, comprovados por exames sorológicos, clínicos, radiográficos do tórax, eletro e ecocardiográficos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 39 (2): 211-216.

Xavier SS, Sousa AS, Brasil PEAA, Gabriel FG, Holanda MT & Hasslocher-Moreno A. 2006. Aneurisma apical na fase crônica da doença de Chagas: Prevalência e valor prognóstico em uma coorte urbana de 1053 pacientes. *Revista da Sociedade de Ecocardiografia do Rio de Janeiro* 18:351-356.

Zauza PL & Borges-Pereira J. 2001. Níveis de IgG anti-*Trypanosoma cruzi* na evolução da cardiopatia chagásica crônica, no período de 10 anos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 34: 399-405.

10. ANEXOS

ANEXO 1. LISTA DE PACIENTES

GRUPO	Reg	Nome	ID	SX	ENDEREÇO
BZIT	287	CFS	52	M	VILA SÃO JOÃO
BZIT	397	EPS	55	F	
BZIT	494	HES	59	M	SANTANA
BZIT	651	JLR	54	M	RUA LOURDES TIMO, 172
BZIT	903	MCST	40	F	SANTANA
BZIT	921	MCG	63	F	ROSARIO
BZIT	983	MGS	68	F	FUNIL
BZIT	994	MGPS	61	F	RUA AMAZONAS, SN
BZIT	1090	MMS	50	F	RUA CEARÁ, 150 OU BURITI
BZIT	1107	MNAC	50	F	CHÁCARA
BZIT	1145	MRM	52	F	ROSARIO
BZIT	1244	NFG	44	M	SANTANA OU T. OTONI
BZIT	1436	TMD	56	F	TAMANDUÁ
BZIT	1444	URBS	51	M	SANTANA
BZIT	1575	GGs	58	M	SANTANA
BZIT	1592	GAG	54	M	MAMONAS
BZIT	1626	ZAP	49	F	BARBOSA DA PONTE
BZIT	1634	TGP	60	F	BRAVO
BZIT	1671	JCS	60	F	SANTANA OU MARIMBONDO
BZIT	1767	AES	50	F	SANTANA
BZIT	1778	AAC	64	F	BRAVO
BZIT	1792	EMA	53	F	BRAVO
BZIT	2011	JLRB	68	M	SAPÉ
BZIT	2055	MGBC	54	F	RUA PARÁ
BZIT	2142	IQN	63	F	BURU
BZIT	2206	MRO	53	F	BRAVO
BZIT	2310	ACJ	57	F	RUA TURMALINA, 118
BZIT	2327	JAB	57	F	BRAVO
BZIT	2412	SPG	56	M	CURRAL NOVO
BZIT	2598	MMDA	58	F	SANTANA

BZIT	2843	GNN	53	F	BURU
BZIT	2887	FGS	55	M	ROSARIO
BZIT	3118	GPF	52	M	MARIMBONDO
BZIT	3566	JMF	39	M	BRAVO
BZIT	3580	JDL	55	M	VAI-VI
BZIT	3716	TDN	74	F	RUA R BATISTA DE MOURA
BZIT	4011	LLO	47	F	GRAVATÁ
BZIT	4019	MLMC	49	F	BARBOSA
BZIT	4202	DPS	41	M	VACARIA
BZIT	4306	AR	47	F	BRAVO
BZIT	4309	MAF	48	M	LIMOEIRO
BZIT	4615	MTFA	53	F	SANTA RITA
BZIT	4631	JLS	46	M	CANSANÇÃO
BZIT	4637	MGLS	53	F	MARIMBONDO
BZIT	4638	JCPS	42	M	RUA VICENTE RAMOS, 148
BZIT	4639	FPS	60	F	RUA PAULO DIAS, 49
BZIT	4714	AQM	61	F	ROSARIO
BZIT	4715	EQM	57	F	ROSARIO
BZIT	5005	JRL	59	M	PIEDADE
BZIT	5013	ZGS	63	F	RUA CASTELO BRANCO, 46
BZIT	5022	ROC	65	F	LAMBARI - JEQUITIBÁ
BZIT	5039	AFG	41	F	VACARIA
BZIT	5051	MJFM	45	F	PIEDADE
BZIT	5065	SCP	57	F	CANSANÇÃO
BZIT	5070	ASS	44	F	CANSANÇÃO
BZIT	5101	BLS	68	M	VAI-VI
BZIT	5129	IPC	65	F	LELIVELDIA
BZIT	5132	MALS	62	F	RUA SÃO LUIS, 146
BZIT	5134	MFP	43	F	VACARIA
BZIT	5135	FRS	65	M	MORRINHOS
BZIT	5138	JFG	59	M	VACARIA
BZIT	5139	AFS	57	F	SEDE
BZIT	5140	PGO	70	F	VACARIA
BZIT	5141	SPR	68	M	VACARIA
BZ2T	385	EFV	65	F	RUA T CELESTINO DE SOUZA

BZ2T	418	FLG	64	F	MAMONAS
BZ2T	548	JCJ	46	F	TAMANDUÁ
BZ2T	683	JPS	61	M	VAI-VI
BZ2T	745	LLS	49	F	RUA 15 DE NOVENBRO
BZ2T	776	LAG	63	M	MAMONAS
BZ2T	871	MAFG	36	F	SANTANA
BZ2T	1002	MIDM	52	F	VACARIA
BZ2T	1015	MJGM	62	F	RUA N SENHORA DA LAPA, 20
BZ2T	1294	PCS	63	F	RUA A PAULINO PRATES, 125
BZ2T	1315	PDS	56	M	ROSARIO
BZ2T	1347	RNT	42	F	FUNIL
BZ2T	1453	VLA	52	M	MARIMBONDO
BZ2T	1631	MCAM	58	F	MAMONAS
BZ2T	1777	AGA	55	F	RUA R BATISTA DE MOURA, 92
BZ2T	1804	IGMS	61	F	RUA DOM CARLOS, 80
BZ2T	1875	AGS	61	F	BEIRA DO RIO
BZ2T	1958	MMC	68	F	MALHADA BRANCA
BZ2T	2362	MCVA	49	F	PAIOL
BZ2T	2411	EMN	53	M	BURITI
BZ2T	2439	GEC	55	M	BURITI
BZ2T	2557	EFS	48	F	CURRAL NOVO
BZ2T	2713	MACJ	50	F	TAMANDUÁ
BZ2T	2777	LGG	48	F	BARBOSA DO MEIO
BZ2T	2778	NFN	56	F	VACARIA
BZ2T	2984	GAS	58	F	ROSARIO
BZ2T	3121	APS	43	M	VACARIA
BZ2T	3527	CAAJ	50	M	RUA INACIO MURTA, 52
BZ2T	3553	MAPN	59	F	ONÇA DO MEIO
BZ2T	3555	AEC	45	F	SANTANA
BZ2T	3557	MAET	57	F	SANTANA
BZ2T	3603	CCBS	64	F	SEDE - BELA VISTA
BZ2T	3635	JPS	59	F	MARIMBONDO
BZ2T	3637	JLP	70	M	MARIMBONDO
BZ2T	3638	IPD	59	M	MARIMBONDO
BZ2T	3639	FLA	68	F	MARIMBONDO

BZ2T	3645	AGS	63	M	ONÇA DO MEIO
BZ2T	3701	SGS	66	M	BRAVO
BZ2T	3719	JCP	52	M	BRAVO
BZ2T	4013	ALSA	47	F	CORREGO BONITO
BZ2T	4022	CBO	52	M	RUA J FERREIRA DE OLIVEIRA
BZ2T	4023	MCPS	51	F	CURRAL NOVO
BZ2T	4206	MAP	50	F	VACARIA
BZ2T	4207	CMS	46	F	VACARIA
BZ2T	4322	ZGS	17	F	SEDE - NOVO HORIZONTE
BZ2T	4571	LM	17	F	SEDE
BZ2T	4650	APF	51	M	PIEDADE
BZ2T	4742	APS	44	M	VACARIA
BZ2T	5007	JLS	47	M	SANTANA
BZ2T	5011	DJD	65	M	RUA RUFINO SIQUEIRA, 70
BZ2T	5017	CAC	48	M	ROSARIO
BZ2T	5025	JAC	56	M	BARBOSA
BZ2T	5040	LDL	45	M	VACARIA
BZ2T	5052	JHVS	54	M	GRAVATÁ
BZ2T	5053	MECB	47	F	MALHADA BRANCA
BZ2T	5103	JPA	46	M	BRAVO - PIEDADE
BZ2T	5105	MARJ	63	F	RUA PARÁ, 169
BZ3T	116	ARS	50	F	ROSARIO
BZ3T	130	AFM	61	F	RUA URUGUAI
BZ3T	249	CMS	58	F	VACARIA
BZ3T	289	DCA	58	F	RUA JOSE COBURÉ
BZ3T	296	DPS	63	F	ROSARIO
BZ3T	666	JMM	59	M	BRAVO
BZ3T	672	JNP	44	M	VACARIA
BZ3T	1267	NMBP	61	F	RUA BAHIA, 228
BZ3T	1362	SAG	48	F	VACARIA
BZ3T	1405	SFP	62	F	VACARIA
BZ3T	1454	VCJ	55	M	TAMANDUÁ
BZ3T	1565	DC	61	F	ROSARIO
BZ3T	1745	JAP	58	F	BARBOSA
BZ3T	1833	MOS	58	F	VACARIA

BZ3T	1870	VVR	62	F	PACHECOS
BZ3T	2020	MPF	59	F	LAGOINHA
BZ3T	2102	GFSG	56	F	CURRAL NOVO
BZ3T	2145	MAM	56	F	BARBOSA
BZ3T	2190	AGC	53	F	SANTANA
BZ3T	2201	MECS	55	F	BRAVO
BZ3T	2489	JFS	55	M	RUA TIBERIO RAMOS, 54
BZ3T	2501	MAA	51	F	LIMOEIRO
BZ3T	2522	LFO	65	F	ALMAS
BZ3T	3000	OSC	50	M	TUM TUM
BZ3T	3007	MCAR	57	F	RUA ARAÇUAI, 302
BZ3T	3057	VPND	64	F	RUA IPÊ, 27
BZ3T	3066	FSP	48	F	GRAVATÁ
BZ3T	3146	MRA	62	F	RUA BONFIM, 243
BZ3T	3578	MAPN	58	F	ONÇA DO MEIO
BZ3T	3627	HSL	46	M	CANSANÇÃO
BZ3T	3707	MSSM	57	F	RUA TIRADENTES
BZ3T	4008	JMLO	55	M	GRAVATÁ
BZ3T	4312	ACD	52	M	SAPÉ
BZ3T	4500	GGG	47	F	MAMONAS
BZ3T	4528	MCS	57	M	SANTANA
BZ3T	4532	MGA	52	F	RUA SALVADOR, 41
BZ3T	4539	JRST	58	M	SANTANA OU R PAULO DIAS
BZ3T	4551	MVMF	49	F	ROSARIO DE BAIXO
BZ3T	4568	MTPS	65	F	RUA CORONEL MURTA, 90
BZ3T	4602	CALJ	46	M	SANTA RITA
BZ3T	4641	NPQB	44	F	PIEDADE
BZ3T	4644	SMD	51	M	BRAVO
BZ3T	4646	RAP	46	F	PIEDADE
BZ3T	4647	VMD	40	M	PIEDADE
BZ3T	5016	MAQ	49	F	ROSARIO DE CIMA
BZ3T	5036	DAM	47	F	VACARIA
BZ3T	5038	MFD	53	F	VACARIA
BZ3T	5056	JAAJ	46	M	CANSANÇÃO
BZ3T	5062	RLS	64	M	CANSANÇÃO

<i>BZ3T</i>	5063	<i>MEGS</i>	51	<i>F</i>	<i>CANSANÇÃO</i>
BZ3T	5067	FXS	69	M	TUM TUM

ANEXO 2. FICHA CLÍNICA

Nome:

REG:

Cód	CLÍNICA – Sintomas e sinais	Data 1	Data 2	Data 3	Data 4
		/ /	/ /	/ /	/ /
001	Dispneia em repouso				
002	Dispneia aos esforços				
003	Palpitações em repouso				
004	Palpitações aos esforços				
005	Dor precordial em repouso				
006	Dor precordial aos esforços				
007	Perda da consciência				
008	Arritmia a ausculta				
009	Desdobramento de B1				
010	Desdobramento de B2				
011	Sopro sistólico				
012	Sopro diastólico				
013	Hiperfonese de bulhas				
014	Hipofonese de bulhas				
015	Disfagia				
016	Pirose				
017	Odinofagia				
018	Regurgitação ativa				
019	Regurgitação passiva				
020	Obstipação intestinal de 5 a 10 dias				
021	Obstipação intestinal > 10 dias				
022	Uso de laxativo ocasional				
023	Uso de laxativo obrigatório				
024	Cirurgia de megaesôfago				
025	Cirurgia de megacolon				
Cód	SANGUE - Sorologia				
	Número do soro				
026	Imunofluorescência indireta				
027	ELISA recombinante				
028	Grupo sistema ABO				
029	Fator Rh				
Cód	SANGUE - Parasitemia				
030	Reação em cadeia da polimerase - PCR				
031	Hemocultura				
032	Xenodiagnóstico				

Cód. = código; S = sim, N = não, NI = não investigado, PO = positivo, NE = negativo, DU = duvidoso

Nome:

REG:

Cód	SANGUE - Hemograma	Data 1	Data 2	Data 3	Data 4
		/ /	/ /	/ /	/ /
	<i>Data do exame</i>				
033	Hemácias				
034	Hemoglobina				
035	Hematócrito				
036	Leucócitos				
037	Eosinófilos				
038	Basófilos				
039	Linfócitos				
040	Monócitos				
041	Mielócitos				
042	Metamielócitos				
043	Bastonetes				
044	Segmentados				
045	Neutrófilos				
046	Plaquetas				
Cód	ECOCARDIOGRAMA				
047	Normal				
048	Anormal				
049	Fração de ejeção				
050	Função sistólica global				
051	Função segmentar de VE				
052	Hipocinesias				
053	Acinesias				
054	Discinesias				
055	Aneurisma apical				
056	Aneurisma septal				
057	Aneurisma de VE de parede...				
058	Função diastólica de VE				
059	Válvula mitral				
060	Válvula aórtica				
061	Válvula tricúspide				
062	Válvula pulmonar				
063	Aorta				
064	Outros				

S = sim, N = não, NI = não investigado

Nome:

REG:

Cód	ELETCARDIOGRAMA	Data 1 / /	Data 2 / /	Data 3 / /	Data 4 / /
065	Normal				
066	Anormal				
067	Bradycardia (FC < 55 bpm)				
068	Alteração primária da repol ventricular segmentar				
069	Alteração primária da repol ventricular difusa				
070	Fibrilação atrial				
071	Flutter atrial				
072	Baixa voltagem do QRS em:				
073	Bloqueio AV grau I				
074	Bloqueio AV grau II Mobitz...				
075	Bloqueio AV grau III				
076	Bloqueio de RD grau I				
077	Bloqueio de RD grau II				
078	Bloqueio de RD grau III				
079	Bloqueio de RE grau I				
080	Bloqueio de RE grau II				
081	Bloqueio de RE grau III				
082	Hemibloqueio anterior esquerdo				
083	Extra-sístole supraventricular				
084	Extra-sístole ventricular isolada (até 2 / 60 s)				
085	Extra-sístole ventricular frequente (> 2 / min)				
086	Extra-sístole ventricular polimórfica				
087	Extra-sístole ventricular bigeminada				
088	Extra-sístole ventricular trigeminada				
089	Extra-sístole ventricular aos pares				
090	Extra-sístole ventricular em salvas				
091	Sobrecarga atrial direita				
092	Sobrecarga atrial esquerda				
093	Sobrecarga ventricular direita				
094	Sobrecarga ventricular esquerda				
095	Zona eletricamente inativa em...				
096	Intervalo PR				
097	Intervalo QT				
098	Eixo de QRS				
099	Outra				
Cód	FORMA CLÍNICA				
100	Ausência de cardiopatia				
101	Cardiopatia grau I, II, III ou IV				
102	Megaesôfago grau I, II, III ou IV				
103	Megacólon				

S = sim, N = não, NI = não investigado

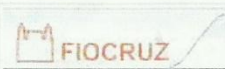
Nome:

REG:

Cód	ANTROPOMETRIA E SINAIS VITAIS	Data 1 / /	Data 2 / /	Data 3 / /	Data 4 / /
104	Peso em Kg				
105	Altura em cm				
106	IMC				
107	Pressão arterial normal				
108	Hipertensão arterial				
109	Hipotensão arterial				
Cód	TRATAMENTO COM BZD - ROCHAGAN				
110	Primeiro (p), segundo (s), terceiro (t)				
111	Completo				
112	Incompleto				
Cód	EFEITOS COLATERAIS				
113	Nenhum				
114	Dores no corpo				
115	Febre				
116	Indisposição				
117	Dor na cabeça				
118	Coceira no corpo				
119	Manchas no corpo ou petéquias				
120	Dor na garganta				
121	Perda do apetite				
122	Dor no estomago				
123	Dor abdominal				
124	Enjoos				
125	Vômitos				
126	Diarreia				
127	Perda do sono				
128	Formigamento nos braços e mãos				
129	Formigamento nas pernas e pés				
130	Emagrecimento				
131	Outro				
132	Suspendeu o medicamento				
Cód	OUTROS MEDICAMENTOS ASSOCIADOS				
133	Não				
134	Sim				
135	Anti-hipertensivos				
136	Diuréticos				
137	Hipoglicemiantes				
138	AAS				
139	Estatinas				
140	Outros				

S = sim, N = não, NI = não investigado

ANEXO 3. APROVAÇÃO DO CEP



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Impacto da repetição do tratamento com benznidazol na resposta imune humoral, parasitemia e cardiopatia de pacientes portadores da doença de Chagas crônica de Virgem da Lapa, Vale do Jequitinhonha, MG.

Pesquisador: JOSE BORGES PEREIRA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 12216512.5.0000.5248

Instituição Proponente: Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ/IOC

Patrocinador Principal: Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ/IOC

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 304.607

Data da Relatoria: 17/06/2013

Apresentação do Projeto:

O tratamento etiológico convencional da doença de Chagas crônica em adultos com o uso de benznidazol ou nifurtimox por 60 dias consecutivos na dose de 5mg/kg/dia tem apresentado resultados considerados insatisfatórios, caracterizados pelo percentual de cura inferior a 10% a curto ou longo prazo de seguimento, indicando a necessidade de que novas estratégias terapêuticas devem ser testadas, na perspectiva de que os resultados produzam melhor qualidade de vida aos portadores da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. Para isso, de uma coorte de 1.350 chagásicos crônicos de Virgem da Lapa-MG composta entre 1976 e 2011, considerando os limites da capacidade técnico-laboratorial para realizar o trabalho, foram sorteados, para o presente estudo (empregando a tabela de números aleatórios), 150 pacientes de ambos os gêneros, com idades de 40 a 60 anos, sem cardiopatia ou portadores de cardiopatia leve. Desses 150 pacientes selecionados para o presente estudo foram compostos três grupos, também por sorteio: CH1T (50 pacientes que receberão um tratamento com BZD em 2013), CH2T (50 pacientes que receberão dois tratamentos com BZD em 2013 e 2014) e CH3T (50 pacientes que receberão três tratamentos com BZD em 2013, 2014 e 2015).

No seguimento será feito o monitoramento anual da resposta imune humoral através da medida dos níveis séricos da Ig G anti-T.cruzi pelos testes sorológicos de imunofluorescência indireta e

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Expansão)

Bairro: Manguinhos

CEP: 21.040-360

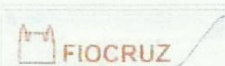
UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3882-9011

Fax: (21)2561-4815

E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 304.607

ensaio imunoenzimático ELISA, da parasitemia através de hemocultura e reação em cadeia da polimerase e da cardiopatia através de exame clínico, eletrocardiograma de repouso e ecocardiograma, além da avaliação da função hepática e renal para o controle de possíveis efeitos colaterais durante o uso do benznidazol

Objetivo da Pesquisa:

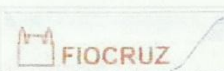
Objetivo Primário:

1. Avaliar a resposta imune humoral, a parasitemia e a cardiopatia em pacientes chagásicos crônicos, após um e três tratamentos com benznidazol (5 mg/Kg/dia, 60 dias consecutivos/ano).
2. Estimular a criação de uma associação de portadores de doença de Chagas de Virgem da Lapa, com abrangência para o Vale do Jequitinhonha e que sirva de modelo para a criação de associações em outras áreas endêmicas, assim como de fator determinante da inclusão social e política desse grupo populacional.
3. Gerar um protocolo de assistência e controle do tratamento etiológico da doença de Chagas crônica, com base na estratégia proposta no presente trabalho, que possa ser empregado na rede de saúde.

Objetivo Secundário:

- 1.1. Determinar a variação dos níveis séricos de Ig G anti-T. cruzi através dos testes de imunofluorescência indireta (IFI) e ensaio imunoenzimático (ELISA), em pacientes chagásicos crônicos submetidos a um, dois e três tratamentos com benznidazol.
- 1.2. Determinar a variação qualitativa da parasitemia através da reação em cadeia da polimerase (PCR) e hemocultura, em pacientes chagásicos crônicos submetidos a um, dois e três tratamentos com benznidazol.
- 1.3. Determinar o percentual de evolução clínica e eletrocardiográfica em pacientes chagásicos crônicos submetidos a um, dois e três tratamentos com benznidazol.
- 1.4. Correlacionar os níveis de Ig G anti-T. cruzi e da parasitemia com a evolução da cardiopatia

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 304.607

em função do número de tratamentos com benznidazol.

1.5. Determinar índice de negatificação sorológica e parasitológica em pacientes chagásicos crônicos submetidos a um, dois e três tratamentos com benznidazol.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Diante dos demais exames, aos quais os participantes serão submetidos não foram identificados riscos, até o momento. O uso do benznidazol (rochagan), em algumas pessoas, pode acarretar efeitos colaterais como reação do tipo coceira, manchas avermelhadas ou pápulas, dormência nas pernas e nas mãos e redução do número de glóbulos brancos. Todos esses efeitos serão controlados pela equipe do projeto e do programa de saúde da família.

Benefícios:

O tratamento com benznidazol poderá produzir benefício pessoal estabilizando o processo de progressão da cardiopatia crônica, afora a geração do conhecimento que poderá ser estendido para outras áreas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

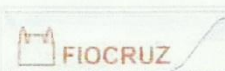
O projeto está suficientemente claro em seus propósitos e devidamente fundamentado. É do Grupo III, e, portanto, não necessita de submissão à CONEP antes de ser iniciado. Nessa terceira versão do projeto, a pesquisadora responsável incluiu os documentos solicitados no primeiro parecer.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os seguintes documentos foram avaliados:

- Folha de rosto
- Projeto no formato da PB
- Cronograma
- TCLE revisado.
- Orçamento do estudo.
- Carta de colaboração ou anuência das instituições participantes no estudo;

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 304.607

Recomendações:

Apresentar relatórios parciais (anuais) e relatório final do projeto de pesquisa é responsabilidade indelegável do pesquisador principal.

Qualquer modificação ou emenda ao projeto de pesquisa em pauta deve ser submetida à apreciação do CEP Fiocruz/IOC.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Oswaldo Cruz (CEP FIOCRUZ/IOC), de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

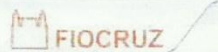
Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

O pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido- TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Expansão)
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.040-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 **Fax:** (21)2561-4815 **E-mail:** cepfiocruz@ioc.fiocruz.br



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ -
FIOCRUZ/IOC



Continuação do Parecer: 304.607

RIO DE JANEIRO, 14 de Junho de 2013

Assinador por:
José Henrique da Silva Pilotto
(Coordenador)

Endereço: Av. Brasil 4036, Sala 705 (Expansão)
Bairro: Manguinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3882-9011 Fax: (21)2561-4815 E-mail: cepfiocruz@ioc.fiocruz.br

ANEXO 4. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Projeto: Impacto da repetição do tratamento com benznidazol na resposta imune humoral, parasitemia e cardiopatia de pacientes portadores da doença de Chagas crônica de Virgem da Lapa, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais.

Responsáveis: Dr. José Borges Pereira, médico, CREMERJ 52 31485-4, Patrícia Lago Zauza, biomédica, CRBM 5987

Sr (a) _____, como voluntário(a), está sendo convidado(a) para participar do presente projeto de pesquisas que tem como objetivo observar o impacto da repetição do tratamento com Rochagan (RCH) na evolução da cardiopatia em pessoas soropositivas para doença de Chagas crônica sem cardiopatia inicial ou com cardiopatia leve, selecionadas segundo os critérios sugeridos no Consenso publicado pelo Ministerio da Saúde do Brasil em 2005, para esse tipo de tratamento. Para avaliar o impacto da repetição do tratamento, serão compostos, três grupos de estudo: BZ1T com 50 pessoas que receberão tratamento com RCH em 2013, BZ2T com 50 pessoas que receberão tratamentos com RCH em 2013 e 2014 e BZ3T com 50 pacientes que receberão tratamentos com RCH em 2013, 2014 e 2015. O (a) Sr (a) definirá seu grupo de participação, através de sorteio simples, retirando da urna uma etiqueta com a identificação do grupo ao qual pertencerá. A urna conterà 50 etiquetas de cada grupo. A aceitação ou permanência na pesquisa será inteiramente voluntária, podendo sair do projeto a qualquer tempo ou recusar-se a realizar qualquer procedimento, sem nenhum prejuízo a sua pessoa. Para cada tratamento anual está previsto o uso do Rochagan por 60 dias consecutivos, via oral, na dose de 5 mg/Kg/dia, dividida em tomadas 12/12 horas, não ultrapassando 350 mg/dia.

Problema de saúde. A doença de Chagas é causada pelo parasito chamado *Trypanosoma cruzi*, transmitido principalmente pelas dejeções (fezes e/ou urina) eliminadas durante a picada dos insetos chamados de *barbeiros*. As pessoas que adquirem esse parasito podem desenvolver doença no coração, esôfago e intestinos, com elevado risco de morte. Sabe-se que o benznidazol (Rochagan) tem elevada eficácia no tratamento desse parasito na fase inicial ou aguda da doença de Chagas, porém tem pouca eficácia durante a fase tardia ou crônica, mesmo assim o consenso de especialistas indica seu uso seletivo, na expectativa de produzir benefícios aos usuários. Ainda é pequeno o conhecimento sobre esses benefícios, ao longo prazo, após o uso do benznidazol. Com a intenção de contribuir para ampliar esse conhecimento estamos propondo esse estudo.

Procedimentos: Para realizar este estudo estão programados os seguintes procedimentos/ano de 2013 a 2016: avaliação clínica com a medida da pressão arterial, exame físico e anamnese cardiovascular, obtenção de eletrocardiograma de repouso e ecocardiograma, coleta de 30 mL de sangue venoso com sistema vacutainer, estéril e descartável, destinados à pesquisa do *T. cruzi* pela técnica da reação em cadeia da polimerase e hemocultura e a pesquisa de anticorpos anti-*T. cruzi*, através dos testes sorológicos de imunofluorescência indireta, hemaglutinação indireta e ELISA. Após esse período do projeto, o acompanhamento se dará pelo sistema de saúde municipal de acordo com a sua necessidade clínica. O diagnóstico de alterações clínicas determinará

ou tratamento por nós ou o encaminhamento para serviços especializados da rede pública de saúde.

Benefícios: O (a) Sr (a) poderá não obter qualquer benefício pessoal, contudo, o conhecimento adquirido poderá beneficiar outras pessoas no futuro. Para isso as informações obtidas serão transmitidas na forma de publicações científicas, mantendo-se o anonimato dos participantes. Os resultados dos exames e dos benefícios serão fornecidos diretamente ao Sr (a) no decorrer das pesquisas e acompanhamento na forma de cópias ou originais, assim como serão oferecidas novas prescrições e medicamentos ao ser identificado o fracasso terapêutico ou de que a repetição do tratamento produz mais benefícios do que um único tratamento. Durante e após o uso do medicamento o acompanhamento clínico e laboratorial será feito pela nossa equipe e o serviço de saúde da prefeitura municipal de Virgem da Lapa por todo o tempo que necessitar.

Inconvenientes: no local da veia puncionada poderá ocorrer dor e/ou hematoma (rouxidão) por 3 a 5 dias. O uso do benznidazol (Rochagan), em algumas pessoas, pode acarretar efeitos colaterais como reação alérgica na pele do tipo coceira, manchas avermelhadas ou pápulas, dormência nas pernas e nas mãos e redução do número de glóbulos brancos. Todos esses efeitos são controláveis pelos médicos responsáveis pelo tratamento, os quais estarão disponíveis para consultas a qualquer momento necessário.

Riscos potenciais: diante dos demais exames, aos quais o (a) Sr (a) será submetido não foram identificados riscos, até o momento.

Declaro estar ciente do inteiro teor deste termo de consentimento, decidindo participar desse projeto de pesquisas, depois de formular perguntas e ter recebido respostas satisfatórias, estando ciente de que poderei voltar a fazê-las a qualquer tempo. Assino ou coloco minha impressão digital, estando ciente de que uma cópia desse termo ficará comigo e outra arquivada no Laboratório de Doenças Parasitárias do Instituto Oswaldo Cruz, no Rio de Janeiro, Av. Brasil, 4365, CEP 21.040-360.

Assinatura ou impressão digital do voluntário:

Endereço _____

Data: ____/____/____

Testemunhas:

1 _____ RG _____

2 _____ RG _____

Assinatura do médico responsável: Dr. José Borges Pereira

(Tel: 21 9911 2648, 21 8897 9413 e 21 38229413).