

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Oswaldo Cruz

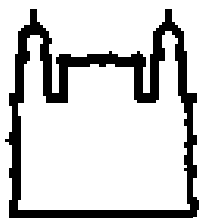
Doutorado em Medicina Tropical

Doença de Chagas em naturais do estado do Rio de Janeiro: aspectos clínico-epidemiológicos, caracterização molecular parasitológica e estudo ecoepidemiológico dos casos autóctones.

Luiz Henrique Conde Sangenis

Rio de Janeiro

2013



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Oswaldo Cruz

Instituto Oswaldo Cruz
Pós-graduação em Medicina Tropical

Luiz Henrique Conde Sangenis

Doença de Chagas em naturais do estado do Rio de Janeiro: aspectos clínico-epidemiológicos, caracterização molecular parasitológica e estudo ecoepidemiológico dos casos autóctones.

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

Orientador: Márcio Neves Bóia

Rio de Janeiro

setembro de 2013

Ficha Catalográfica

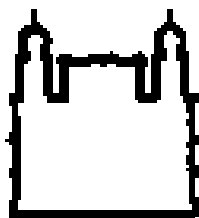
Sangenis, Luiz Henrique Conde

Doença de Chagas em naturais do estado do Rio de Janeiro: aspectos clínico-epidemiológicos, caracterização molecular parasitológica e estudo ecoepidemiológico dos casos autóctones / Luiz Henrique Conde Sangenis. – Rio de Janeiro, 2013.

Tese (doutorado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2013.

Bibliografia: 126 f.

1. Doença de Chagas. 2. Epidemiologia 3. Clínica. 4. *Triatoma vitticeps*
5. Transmissão 6. Rio de Janeiro



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Oswaldo Cruz

Pós-Graduação em Medicina Tropical

Autor: Luiz Henrique Conde Sangenis

Doença de Chagas em naturais do estado do Rio de Janeiro: aspectos clínico-epidemiológicos, caracterização molecular parasitológica e estudo ecoepidemiológico dos casos autóctones.

Orientador: Márcio Neves Bóia

Aprovada em: ____/____/____

Banca Examinadora:

Dra. Andréa Silvestre de Sousa (IPEC – FIOCRUZ)

Dr. Filipe Aníbal Carvalho Costa (IOC – FIOCRUZ)

Dr. João Carlos Pinto Dias (CPqRR – FIOCRUZ)

Dr. Pedro Emmanuel Alvarenga Americano do Brasil (IPEC – FIOCRUZ)

Dra. Teresa Cristina Monte Gonçalves (IOC – FIOCRUZ)

Suplentes:

Dr. Roberto Magalhães Saraiva (IPEC – FIOCRUZ)

Dr. Sérgio Salles Xavier (UFRJ)

Rio de Janeiro, 23 de setembro de 2013

DEDICATÓRIA

Ao Marco, Fernando e Veronica, e meus avós
Manoel e Isolde (*in memoriam*), as pessoas mais
importantes da minha vida

*“O Brazil não conhece o Brasil
O Brasil nunca foi ao Brasil
Tapir, jabuti, liana, alamandra, alialaúde
Piau, ururau, aqui, ataúde...”*

Aldir Blanc

AGRADECIMENTOS

A Alejandro Hasslocher, que me convidou para fazer parte do LapClin-Chagas e além de grande entusiasta em tudo que se relaciona a doença de Chagas foi o grande incentivador para a realização deste trabalho. Agradeço a gentileza, amizade e ajuda a mim dispensada sempre que precisei.

A meu grande orientador Márcio Bóia, pela serenidade, sabedoria e disponibilidade durante a orientação desta tese. Vestindo a camisa e indo a campo, literalmente, para tudo sair a contento.

A Pedro, pela colaboração durante a elaboração do projeto e companheirismo desde a minha chegada ao LapClin.

A Roberto Saraiva, pelo auxílio na tradução do Resumo para a língua inglesa.

A todos os demais colegas do LapClin: Gilberto, Andréa, Sérgio, Gécio, Maiara, Carla Renata, Paula, Mauro e Marcelo Holanda que além de excelentes profissionais, estão sempre disponíveis para ajudar quando solicitados.

A Liane de Castro, pela disponibilidade e enorme colaboração na execução da PCR k-DNA.

A Filipe Aníbal, pela grande colaboração e disponibilidade na elaboração dos artigos e revisão desta tese.

A Inge, pelo entusiasmo e colaboração na realização dos exames sorológicos e por ter tornado possível a utilização dos testes rápidos

A Marli Lima, Otilia Sarquis e Fabiano Fernandes da Ecoepidemiologia, pela inestimável colaboração na realização desta tese, sempre com muito profissionalismo e grande eficiência.

Ao pessoal do LabTrip: Ana Jansen, André Roque, Samanta Xavier e especialmente a Valdirene Lima, pela colaboração, zelo e capricho na execução dos hemocultivos e PCR mini-exon e RFLP.

A Patrícia Azambuja, que com grande entusiasmo embarcou na nossa nave e contribuiu com a PCR dos vitticeps.

A Cristina Santos e Carlos José do Laboratório de Parasitologia pela disponibilidade e grande ajuda na realização dos xenos.

A toda equipe de enfermagem do Ceclin do IPEC, em especial a Ana Paula e Sueli, sempre dispostas a ajudar e com enorme carinho com os pacientes.

A Nelsa, Nelzi, Dalva, Loriel e todo o pessoal da ESF de São Sebastião do Alto e São Fidélis pela enorme colaboração durante o trabalho de campo, sem os quais tudo seria muito mais difícil

A todo o pessoal da vigilância ambiental dos municípios de São Sebastião do Alto e São Fidélis, Joelson, Fernando, Hudson e em especial ao Marcelo pela enorme disponibilidade, colaboração e apoio logístico.

A todos os motoristas, Marcos, Diego e Gilson pela colaboração e solidariedade

A Residente Telma do programa de DIP da UERJ pela grande colaboração durante o trabalho de campo.

A todos os pacientes do ambulatório de Chagas pelo carinho e disponibilidade em participar, não só desta, como de todas as pesquisas do LapClin.

E finalmente, agradeço a Deus a oportunidade de fazer parte da FIOCRUZ, sem a qual não seria possível a realização deste trabalho, e poder contribuir de alguma forma para o conhecimento de uma doença tão importante e representativa para a história da medicina brasileira.

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1. Panorama atual da doença de Chagas na América Latina e no mundo.....	3
2.2. Aspectos geográficos, econômicos e ambientais do estado do Rio de Janeiro.....	5
2.3. Histórico da doença de Chagas no estado do Rio de Janeiro.....	7
2.4. Triatomíneos do estado do Rio de Janeiro.....	10
2.5. <i>Triatoma vitticeps</i> no estado do Rio de Janeiro e sua importância como vetor da doença de Chagas	10
2.6. Formas de transmissão e aspectos clínicos da doença de Chagas.....	13
3. JUSTIFICATIVA.....	17
4. OBJETIVOS.....	17
4.1. Objetivo Geral.....	17
4.2. Objetivos Específicos.....	18
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
5.1. Etapas do estudo.....	19
5.2. Locais de realização do estudo.....	20
5.3. Rotinas do LapClin-Chagas do IPEC	21
5.4. Casuística.....	22
5.4.1. Classificação clínica e epidemiológica.....	22
5.5. Estratégia de análise.....	23
5.6. Obtenção de amostras e materiais biológicos.....	23
6. APECTOS ÉTICOS.....	24
7. RESULTADOS.....	25
7.1. Casuística do IPEC natural do estado do Rio de Janeiro.....	25
7.2. Estudo ecoepidemiológico dos casos autóctones no estado do Rio de Janeiro.....	35
7.2.1. Aspectos históricos, econômicos e ambientais do Norte fluminense	37
7.2.2. Investigação ecoepidemiológica no Norte Fluminense.....	38
7.2.2.1. Investigação em Ipituna e Cambiasca.....	40
7.2.2.2. Estudo dos mamíferos silvestres capturados em Guarani.....	42

7.2.2.3. Estudo dos triatomíneos capturados em áreas rurais do Norte Fluminense.....	43
7.2.2.4. Investigação epidemiológica em outros locais de naturalidade fora da área eleita	46
7.3. Relatos dos casos de doença de Chagas autóctones do estado do Rio de Janeiro.....	46
8. DISCUSSÃO.....	58
8.1. Casuística do IPEC natural do estado do Rio de Janeiro.....	58
8.2. Estudo ecoepidemiológico dos casos autóctones de doença de Chagas no estado do Rio de Janeiro.....	65
9. CONCLUSÕES.....	70
10. RECOMENDAÇÕES E PERSPECTIVAS.....	71
11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
ANEXOS.....	93

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 2.1. Mapa da divisão político-administrativa (regiões) do estado do Rio de Janeiro.....	7
Figura 2.2. Mapa dos municípios do RJ com relato de captura de <i>Triatoma Vitticeps</i>	13
Figura 7.1. Distribuição por sexo entre os 69 pacientes naturais do RJ	25
Figura 7.2. Distribuição dos pacientes com DC por município de nascimento.....	26
Figura 7.3. Motivo de realização da sorologia para DC.....	27
Figura 7.4. Distribuição das prováveis formas de transmissão.....	28
Figura 7.5. Distribuição da classificação clínica.....	30
Figura 7.6. Distribuição da gravidade da forma cardíaca da DC.....	31
Figura 7.7. Distribuição das formas clínicas de acordo com as formas de transmissão.....	32
Figura 7.8. Mapa da distribuição dos casos autóctones de acordo com a naturalidade por município do RJ.....	36
Figura 7.9. Mapa da área escolhida para investigação eco-epidemiológica, Ipituna e Cambiasca, em S. Sebastião do Alto e S. Fidélis.....	39
Figura 7.10. Paisagem característica da região estudada, Boa Esperança, São Fidélis.....	40
Figura 7.11. Casa de pau a pique em Guarani, São Sebastião do Alto.....	41
Figura 7.12. Espécies de pequenos mamíferos coletados e resultados da sorologia (RIFI) e hemocultivo para <i>T. cruzi</i>	43
Figura 7.13. <i>T. vitticeps</i> capturados em São Sebastião do Alto.....	44
Figura 7.14. Fêmea de <i>T. vitticeps</i> capturada na localidade de Triunfo.....	44
Figura 7.15. Gel de agarose do PCR (mini-exon) do intestino dos <i>T. vitticeps</i> capturados em S.S.Alto e S.M.Madalena.....	45
Figura 7.16. ECG do Caso 2 com BRD completo e extrassístoles.....	48
Figura 7.17. ECG do Caso 3 com BRD completo e HBAE.....	49
Figura 7.18. Caracterização de <i>T. cruzi</i> do Caso 12 pela PCR (mini-exon)...	54
Figura 7.19. Esquema de genotipagem do Caso 12 pela PCR-RFLP.....	55

Tabela 1. Faixas etárias de acordo com as formas de transmissão.....	26
Tabela 2. Faixas etárias de acordo com as formas clínicas.....	26
Tabela 3. Naturalidade materna e condição de portadora de DC.....	29
Tabela 4. Variáveis epidemiológicas de acordo com as formas de transmissão.....	30
Tabela 5. Classificação das formas digestivas de acordo com a gravidade.....	31
Tabela 6. Frequência de sintomas referidos.....	32
Tabela 7. Alterações eletrocardiográficas encontradas nos pacientes.....	33
Tabela 8. Distribuição dos dados dos triatomíneos coletados.....	45
Tabela 9. Dados clínicos e resultados dos exames dos casos autóctones.....	57

RESUMO

O estado do Rio de Janeiro nunca foi considerado endêmico para doença de Chagas. Porém, 3,7% dos pacientes acompanhados no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas da Fundação Oswaldo Cruz são naturais do estado do Rio de Janeiro. O objetivo deste trabalho é esclarecer as formas de exposição a *Trypanosoma cruzi* nos pacientes portadores de doença de Chagas naturais do estado do Rio de Janeiro, bem como identificar as formas de apresentação clínica e suas respectivas progressões. O estudo foi dividido em quatro etapas, sendo as duas primeiras caracterizadas como um delineamento série de casos e as duas últimas como estudos seccionais de campo. Foram estudados 69 pacientes com doença de Chagas naturais do Rio de Janeiro no período de 1986 a 2011 (média de 12,5 anos de observação), sendo 67% oriundos de áreas urbanas do estado e 33% de áreas rurais. A transmissão congênita foi a mais frequente, 40% dos casos, seguida daqueles que adquiriram a infecção autóctone de forma natural (22%) e transfusional (15%). Houve predomínio do sexo masculino (67%) e de brancos (56,5%). A média de idade ao diagnóstico foi de 38 anos. A maior parte dos pacientes oriundos das áreas rurais residiu em casas de pau a pique, tinham o hábito de consumir animais silvestres e caldo de cana *in natura*. O conhecimento de barbeiros foi referido por 19% dos casos. A forma indeterminada foi a mais prevalente (56,5%), seguida da forma cardíaca (42%) e digestiva (10,5%). O bloqueio do ramo direito, o hemibloqueio anterior esquerdo e as extrassístoles ventriculares foram alterações eletrocardiográficas comuns. A hipertensão arterial estava presente em 23,2% e a diabetes mellitus em 7,2%. O tratamento etiológico foi realizado por 35% dos pacientes, sendo que nenhum paciente apresentou negatificação sorológica. A progressão para formas clínicas mais graves foi observada em 12% dos pacientes, sendo inferior a 1% ao ano entre os indeterminados. A insuficiência cardíaca congestiva foi a causa de óbito mais comum. Entre os 15 casos autóctones, a maior parte era oriunda de municípios do Norte Fluminense (87%). Além das sorologias positivas, 1 (8,3%) apresentou positividade ao xenodiagnóstico e 4 (36,3%) à PCR, sendo identificada infecção mista pelo genótipo (TcI/TcVI). A forma cardíaca estava presente em 54% dos casos. No estudo seccional de campo foram visitadas 245 propriedades rurais de São Sebastião do Alto e São Fidélis, sendo 84% de paredes de tijolos e 16% de pau a pique. O consumo de animais silvestres foi referido por 78% dos moradores e de caldo de cana por 88%. O conhecimento do barbeiro era comum a 34% dos habitantes, correspondendo a 31% das casas visitadas. Das 404 amostras de sangue coletadas, três revelaram positividade para a doença de Chagas (0,74% de prevalência). Foram capturados 49 triatomíneos da espécie *Triatoma vitticeps* no intradomicílio e 73% apresentaram positividade para *T. cruzi* do genótipo I pela PCR multiplex do gene do mini-exon. Trinta e quatro mamíferos silvestres foram capturados e a infecção pelo *T. cruzi* estava presente em 8,8%, sendo identificado o genótipo I em um roedor da espécie *Akodon cursor*. Constatou-se dois padrões epidemiológicos da doença de Chagas humana no Rio de Janeiro, um urbano com predomínio de infecções pela via congênita e outro rural com mecanismo de transmissão vetorial. A presença de reservatórios silvestres sinantrópicos, triatomíneos autóctones invadindo os domicílios e o hábito da caça são condições que propiciam o surgimento de casos humanos da doença no Rio de Janeiro.

Palavras Chaves: 1. Doença de Chagas; 2. Epidemiologia; 3. Clínica; 4. *Triatoma vitticeps*; 5. Transmissão; 6. Rio de Janeiro.

ABSTRACT

Rio de Janeiro State was never considered to be a Chagas disease endemic area. However, 3.7% of patients followed at the Evandro Chagas Clinical Research Institute of the Oswaldo Cruz Foundation were born at Rio de Janeiro State. The aim of this study was to clarify the Chagas disease mode of transmission faced by the patients born at Rio de Janeiro State and their clinical presentation and disease progressions. The study was performed in four steps: characterization of a case series and environmental studies. We retrospectively identified 69 patients with Chagas disease born at Rio de Janeiro followed at our institution between 1986 and 2011. From those, 67% lived in urban areas and 33% in rural areas. Most patients from rural areas lived in mud and wattle houses and used to consume wild animals' meat and drink fresh sugar cane juice. Most of the patients were males (67%) and whites (56.5%). The average age at diagnosis was 38 years. Hypertension was present in 23.2% and diabetes mellitus in 7.2% of the patients. Nineteen percent of the patients reported to know "kissing bugs". The most frequent transmission mechanism was congenital (40%), followed by autochthonous cases (22%) and transfusion (15%). The most prevalent clinical presentation was the indeterminate form (56.5%), followed by cardiac form (42%) and gastrointestinal (10.5%). The most common electrocardiographic changes present in patients with cardiac form were right bundle branch block, left anterior hemiblock and ventricular extrasystoles. Thirty-five percent of the patients received antitrypanosomal therapy, but none of them presented a negative serology afterwards. The mean follow-up time was 12.5 years. Disease progression occurred in 12% of the patients, but the progression rate per year was less than 1% among patients with the indeterminate form. Heart failure was the most common cause of death. Among the 15 autochthonous cases, most were born at the North Region of the Rio de Janeiro State (87%) and 54% them presented cardiac form. Besides the positive serological tests for Chagas disease, one (8.3%) of them presented a positive xenodiagnosis and 4 (36.3%) positive PCR. PCR identified mixed infection by genotype TcI and TcVI. In the environmental study, 245 dwellings (84% of brick walled houses and 16% mud and wattle houses) were visited in São Sebastião do Alto and São Fidélis. Most of the residents reported to consume wild animals' meat (78%) and sugar cane juice (88%). Thirty-four percent of the inhabitants, which represented 31% of the visited homes, reported to know "kissing bugs". The prevalence of positive serology for Chagas disease was 0.74% among 404 samples. Among 49 species of *Triatoma vitticeps* captured indoors, 73% were positive for *T. cruzi* I genotype. Among 34 wild mammals captured, *T. cruzi* infection was present in 8.8% and the genotype I was identified in a rodent species *Akodon cursor*. Therefore, two epidemiological patterns of human Chagas disease were found in Rio de Janeiro: an urban pattern with predominance of the congenital mode transmission and a rural one with a vectorial mode transmission. Wild reservoirs, autochthonous triatomines inside households and hunting habits are conditions that favor the occurrence of human Chagas disease in Rio de Janeiro.

Keywords: 1. Chagas disease; 2. Epidemiology; 3. Clinic; 4. *Triatoma vitticeps*; 5. Transmission; 6. Rio de Janeiro

1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas nunca foi considerada endêmica no estado do Rio de Janeiro, tendo-se como pré-suposto a distribuição domiciliar de triatomíneos e a transmissão vetorial (Silveira et al. 1984; Silveira 1985; SVS 2005; Silveira & Dias 2011). No Brasil, a área endêmica original foi delineada com base na distribuição vetorial domiciliar, principalmente naquelas regiões onde se constatou a presença de *Triatoma infestans* e de triatomíneos autóctones adaptados ao ambiente doméstico, como *Panstrongylus megistus* e *Triatoma brasiliensis* (Silveira et al. 1984; Silveira & Dias 2011). Apesar de não ter havido confirmação da transmissão vetorial no estado do Rio de Janeiro, focos de *T. infestans* encontrados em municípios da Baixada Fluminense (Duque de Caxias e Nova Iguaçu) na década de 1970 determinaram a inclusão do Rio de Janeiro na área de ações de controle da doença de Chagas em 1984 (Aragão & Souza 1971; Coura et al. 1971; Silveira et al. 1982, 1984; Silveira & Dias 2011). Tal fato poderia ser explicado pela possibilidade de transporte passivo de triatomíneos em bagagens de migrantes de áreas rurais endêmicas do Brasil para o Rio de Janeiro (Dias 1986).

As regiões metropolitanas do Sudeste do Brasil foram os principais destinos de fluxos migratórios das regiões rurais do país ocorridos no século XX (Brito 2009). Com isso, estudos de casos da doença de Chagas observados no Rio de Janeiro em décadas passadas tinham como característica predominante a origem dos pacientes em Minas Gerais e estados da região Nordeste (Coura 1966; Coura et al. 1983). Por outro lado, essas primeiras observações já evidenciavam a possibilidade de casos adquiridos no Rio de Janeiro (Coura 1966; Benchimol et al. 1954). O crescimento de casos adquiridos pela via transfusional e a história de viagens de nativos do Rio de Janeiro para outros estados endêmicos explicaria, pelo menos em parte, o surgimento de indivíduos com testes sorológicos positivos (Coura 1966; Moraes-Souza & Silva 2011). Contudo, alguns casos considerados autóctones não tiveram sua transmissão devidamente esclarecida (Benchimol et al. 1954; Coura 1966).

A transmissão congênita da doença de Chagas é considerada a terceira via mais importante de transmissão de *Trypanosoma cruzi* ao homem (Dias & Coura 1997). Após o controle da transmissão vetorial e transfusional nos países endêmicos da América do Sul, a via congênita passou a ganhar maior visibilidade e interesse da Saúde Pública, ao ser a única forma de transmissão ainda ativa e sem nenhum tipo de intervenção na maioria dos países endêmicos (OPS 2007). Carlos Chagas em seus estudos clínicos e epidemiológicos já suspeitava dessa via de transmissão (Chagas 1911), no entanto a via vetorial chamava mais

atenção pelo fato desta ser a principal forma de transmissão nas áreas endêmicas de um Brasil que tinha a maior parte de sua população vivendo no campo.

A taxa de transmissão de *T. cruzi* pela via congênita varia de 1% no Brasil até 4 a 12% em outros países da América do Sul, como Argentina, Bolívia, Chile e Paraguai (Carlier & Torrico 2003). Embora as taxas sejam baixas, estima-se que nas Américas existam dois milhões de mulheres em idade fértil portadoras de *T. cruzi*, das quais 4 a 8% transmitiriam a infecção ao feto por via transplacentária, o que levaria ao nascimento de aproximadamente 15.000 recém-nascidos com doença de Chagas congênita ao ano (OPS 2007).

Outro dado de interesse epidemiológico e de grande impacto na incidência da doença de Chagas nos grandes centros urbanos foi o surgimento de casos transmitidos pela via transfusional. Estimativas realizadas na década de 1970 apontavam para a ocorrência de 20.000 casos anuais da doença adquiridos pela via transfusional somente no Brasil (Dias & Schofield 1998). Há uma carência de dados na literatura da representatividade da transmissão transfusional em relação à prevalência da doença de Chagas, principalmente quando não havia controle sorológico rigoroso dos bancos de sangue. Dados recentes apontam para acentuada redução no surgimento de casos pela via transfusional, com a redução sistemática da prevalência entre doadores de sangue no Brasil, embora exista a possibilidade estatística de ocorrência devido a falhas inerentes aos exames sorológicos atualmente disponíveis (Moraes-Souza & Silva 2011).

Alguns estudos do passado tentaram encontrar casos autóctones de doença de Chagas no Rio de Janeiro. Todavia, a maioria deles não tinha uma metodologia de investigação epidemiológica precisa (Guimarães & Jansen 1943; Bustamante & Gusmão 1953; Coura 1966; Coura et al. 1971). Alguns chegaram a encontrar casos positivos da doença, mas não esgotaram a investigação de outras possibilidades de transmissão (Bustamante & Gusmão 1953; Coura 1966, Coura et al. 1971).

Nos últimos anos, foram comunicados focos de doença de Chagas no estado do Rio de Janeiro em localidades rurais dos municípios de Miguel Pereira e São Fidélis onde foram capturados espécimes de *Triatoma vitticeps* no intradomicílio (Lorosa et al. 2003; 2008). Nessas localidades foram identificados casos humanos da doença de Chagas, chamando a atenção para a possibilidade de transmissão vetorial da doença no Rio de Janeiro, fato até então não comprovado por nenhum estudo. Mais recentemente, foram identificados dois casos humanos da doença na localidade rural de Guarani no município de São Sebastião do Alto, região Serrana do Rio de Janeiro (Sangenis et al. 2012). Os dois casos identificados não tinham histórico de viagens para fora do estado e nem relato de transfusões de sangue e de órgãos. Comum aos outros relatos de Lorosa, as duas pessoas residiam numa casa na área

rural onde foram coletados espécimes de *T. vitticeps*, sendo que uma relatou já ter sido picada por barbeiros no intradomicílio.

A partir de uma revisão minuciosa dos prontuários médicos dos pacientes com doença de Chagas naturais do estado do Rio de Janeiro acompanhados no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC), buscou-se traçar o perfil clínico e epidemiológico desses indivíduos. Para entender melhor o surgimento de casos autóctones em áreas rurais do estado, foram desenvolvidos estudos seccionais de campo nas localidades onde recentemente identificaram-se casos humanos de doença de Chagas com suspeita de aquisição vetorial, a fim de investigar as condicionantes epidemiológicas. Além dos testes sorológicos, foram utilizados métodos parasitológicos, como o xenodiagnóstico e o hemocultivo, e métodos de biologia molecular através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para confirmar a infecção por *T. cruzi* dos casos humanos adquiridos no estado do Rio de Janeiro, identificar a presença de ciclos enzoóticos e caracterizar as linhagens predominantes.

1. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Panorama atual da doença de Chagas na América Latina e no mundo

A doença de Chagas (DC) persiste como um grande problema de saúde pública na América Latina, embora tenha sofrido grande mudança epidemiológica nas últimas décadas com acentuada diminuição do número de novas infecções e de óbitos. A soma de diversos fatores, como a acelerada redução da população rural, as bem sucedidas campanhas de combate aos principais vetores (*T. infestans* e *Rhodnius prolixus*) e a melhora do controle dos bancos de sangue foram decisivas para a diminuição da prevalência e incidência anual da doença (Dias & Schofield 1998; Vinhaes & Dias, 2000; Ponce 2007; Dias et al. 2008; Briceño-Léon 2009; Moraes-Souza & Silva 2011). A maior vitória contra a doença foi alcançada pelos países do Cone Sul certificados pela Organização Pan-americana de Saúde (OPS) e Organização Mundial de Saúde (OMS) como áreas livres de transmissão vetorial: Uruguai em 1997, Chile em 1999 e mais recentemente o Brasil em 2006. Praticamente todos os países da América Latina têm implantado programas de controle da transmissão vetorial e transfusional reduzindo de forma efetiva a prevalência e o número de transmissões (Dias 2007a, Moncayo & Silveira 2009).

Dados recentes estimam em 7,7 milhões os portadores da doença na América Latina com 41.200 novas infecções e 12.500 mortes ao ano (Rassi et al. 2010; WHO 2012). No

Brasil, estima-se em 1,9 milhão o número de infectados por *T. cruzi*, estando a maioria vivendo nos grandes centros urbanos (Dias 2007b; WHO 2007, Rassi et al. 2010). A prevalência da doença no país caiu de 4,2% na década de 1980 para cerca de 1% em 2005 (SVS 2005, Rassi et al. 2010). Inquérito de soroprevalência realizado recentemente em crianças de 0 a 5 anos de áreas rurais do Brasil aferiu uma prevalência de 0,03%, o que confirma a tendência de queda (Ostermayer et al. 2011)).

Apesar dos avanços no combate à doença, inúmeros desafios se impõem nos dias atuais. Aproximadamente 40% dos infectados apresentam doença cardíaca, digestiva, ou cardiodigestiva, gerando grande impacto econômico nos custos da saúde pública e da seguridade social (Hotez et al 2007; Rassi et al. 2010) . A transmissão congênita vem diminuindo com a redução do número de casos novos e o envelhecimento da população feminina infectada, todavia, ainda não conta com medidas de controle eficazes na maioria dos países afetados (Carlier & Torrico 2003; Arias 2007; OPS 2007; Dias 2009). O impacto da transmissão congênita é mal dimensionado e pouco estudado, mas tende a ganhar maior importância à medida que outras formas de transmissão estejam sobre controle, como vem ocorrendo nos últimos anos. Novos cenários epidemiológicos vêm chamando a atenção dos pesquisadores e das autoridades de saúde, como a emergência de casos agudos pela ingestão de suco de açaí e a transmissão por vetores silvestres não domiciliados observadas na região Amazônica (Valente et al. 1999; Dias et al. 2002; Coura & Junqueira 2012), e a domiciliação de vetores secundários, como vem ocorrendo na região Nordeste do Brasil (Sarquis et al. 2004; Lima et al. 2012a). O adoecimento de imigrantes latino-americanos na América do Norte, Europa e Ásia constitui-se em um novo problema de saúde. Estima-se que existam aproximadamente 300.000 portadores de DC nos EUA, 80.000 na Europa, 4.000 no Japão e 1.500 na Austrália (Schmunis 2007; Rassi et al. 2010). O surgimento de casos pela via transfusional fez com que vários países não endêmicos viessem a adotar o rastreamento sorológico em seus bancos de sangue e programas de vigilância (Gascon et al. 2010; Basile et al. 2011).

Talvez o maior desafio que ainda se impõem seja o desenvolvimento de novas drogas que possam tratar de forma eficaz o enorme contingente de doentes a um custo baixo. É necessário também capacitar melhor os profissionais de saúde para que possam detectar e tratar adequadamente os doentes sem necessidade de encaminhá-los para centros especializados. Os sistemas de vigilância epidemiológica devem manter-se em alerta pelo risco de domiciliação de vetores secundários e o surgimento de infecções por modalidades de transmissão alternativas (Dias & Amato Neto 2011). A DC ainda permanecerá como problema de saúde pública na América Latina por muitos anos, mas com tendência de redução

continuada das taxas de prevalência. Contudo, sua total erradicação constitui-se meta inatingível devido às suas características ecológicas e epidemiológicas (Dias et al. 2008).

2.2. Aspectos geográficos, econômicos e ambientais do estado do Rio de Janeiro (RJ).

O Rio de Janeiro é um dos menores estados do Brasil, possui área de aproximadamente 44.000 Km². Está situado na região Sudeste tendo como limites a oeste, o estado de São Paulo; a sudoeste, sul, sudeste e leste, o oceano Atlântico; a noroeste e norte, o estado de Minas Gerais e a nordeste, o estado do Espírito Santo (ES). Localiza-se entre 41°O e 45°O de longitude e a 20°S e 23°S de latitude. Está dividido em 92 municípios e oito regiões político-administrativas: Metropolitana, Médio Paraíba, Costa Verde, Centro-Sul Fluminense, Serrana, Baixada Litorânea, Norte Fluminense e Noroeste Fluminense (Figura 2.1). Possui a população de 15.989.929 de habitantes, pelo censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) de 2010, estando 96% concentrada nas áreas urbanas e apenas 4% nas áreas rurais (IBGE 2010b). Tem o segundo maior produto interno bruto (PIB) e a segunda maior região metropolitana do país. Em sua economia se destacam: a produção de petróleo, a siderurgia, as montadoras de automóveis, a indústria naval, a indústria química, o turismo e o setor de serviços. A produção agrícola possui pouca representatividade em relação ao PIB do estado, porém, podemos destacar a cultura da cana-de-açúcar, no Norte Fluminense, a olericultura, nas regiões Serrana e Centro-Sul, e a produção de leite e café, na região Noroeste (Dantas et al. 2005; Gomes et al. 2009; IBGE 2010a; CEPERJ 2010).

O RJ está totalmente inserido no bioma Mata Atlântica, apresenta 30,6% de seu território coberto por vegetação, sendo 26,5% correspondente a florestas (IESB 2007). Seu território se caracteriza por áreas montanhosas e baixadas, principalmente na faixa litorânea (baixadas de Sepetiba, Guanabara, São João e Macaé) e ao norte (baixada Campista) (Gomes et al. 2009). É cortado de oeste a nordeste em quase todo seu território pela Serra do Mar. Esta cadeia montanhosa inicia-se ao sul do estado na Serra da Bocaina, divisa do estado de São Paulo com o município de Paraty, se junta às Serras das Araras e dos Órgãos, na área central do estado, e termina ao norte na Serra do Imbé (Desengano), entre os municípios de Santa Maria Madalena, São Fidélis e Campos dos Goytacazes (Dantas et al. 2005; INEA). Na região do Médio Paraíba localiza-se o planalto de Itatiaia, parte integrante da Serra da Mantiqueira, na divisa do RJ com os estados de Minas Gerais e São Paulo. Aí se encontra o ponto culminante do estado, o pico das Agulhas Negras, com 2.791,55 m de altitude. Na Serra dos Órgãos, entre Teresópolis e Nova Friburgo, está localizada a montanha dos Três Picos a 2.316 m de altitude, sendo o ponto mais alto de toda Serra do Mar (Gomes et al. 2009, Wikipédia).

Possui cinco Parques Nacionais, 11 Parques Estaduais, além de diversas reservas biológicas e áreas de proteção ambiental (INEA).

Os municípios das regiões da Costa Verde, Centro-Sul, Baixada Litorânea e Serrana possuem as maiores taxas de cobertura florestal (Gomes et al. 2009). Historicamente, a região Metropolitana, Norte, Noroeste e do Médio Paraíba apresentam os maiores índices de desmatamento da cobertura florestal original, chegando a 100% no município de Aperibé, no Noroeste Fluminense (Soffiati 2004). Diversos ciclos econômicos que se iniciaram com a colonização portuguesa no século XVI aos poucos foram destruindo a vegetação nativa. A extração de pau-brasil e madeiras nobres para comercialização e construção de vilas e cidades, o ciclo da cana-de-açúcar e o ciclo do café foram responsáveis por grande parte da devastação observada nos dias atuais. Com o declínio da monocultura cafeeira, no final do século XIX, após a abolição da escravidão e o esgotamento dos solos, essas regiões foram se transformando em pastagens (Alentejano 2005; Dantas et al 2005; Soffiati 2004; INEA). Soma-se a isso, o grande processo de urbanização e êxodo rural ocorridos no século passado, que levaram ao crescimento desordenado das regiões metropolitanas do estado (Alentejano 2005; Dantas et al. 2005; INEA).

A bacia hidrográfica mais importante é a do Rio Paraíba do Sul e seus diversos afluentes, cortando todo estado de sul, em Resende, até sua foz, em São João da Barra, no Norte Fluminense (Marengo & Alves 2005; AGEVAP 2011). Outros rios importantes do estado são: Guandu, Itabapoana, São João, Macaé, Dois Rios e Piabanha. Todas as bacias do estado sofrem com o despejo do esgoto doméstico e industrial, além do assoreamento provocado pelo desmatamento de suas margens (Dantas et al. 2005; Gomes et al. 2009; AGEVAP 2011).

O RJ apresenta duas estações climáticas bem marcadas, uma mais quente e chuvosa e outra mais fria e seca. O clima predominante nas baixadas é o tropical, enquanto nas regiões planálticas e serranas, o tropical de altitude (Wikipédia). A variação térmica é muito ampla entre as estações do ano e as localidades do estado, podendo alcançar os 40° C no verão carioca, até temperaturas próximas de 0° C durante o inverno nas regiões de serras. Os índices pluviométricos anuais também apresentam grande variação, sendo inferiores a 800 mm na região de Cabo Frio e Búzios, até superiores a 2.000 mm em regiões localizadas na Serra do Mar (Dantas et al. 2005; Wikipédia).

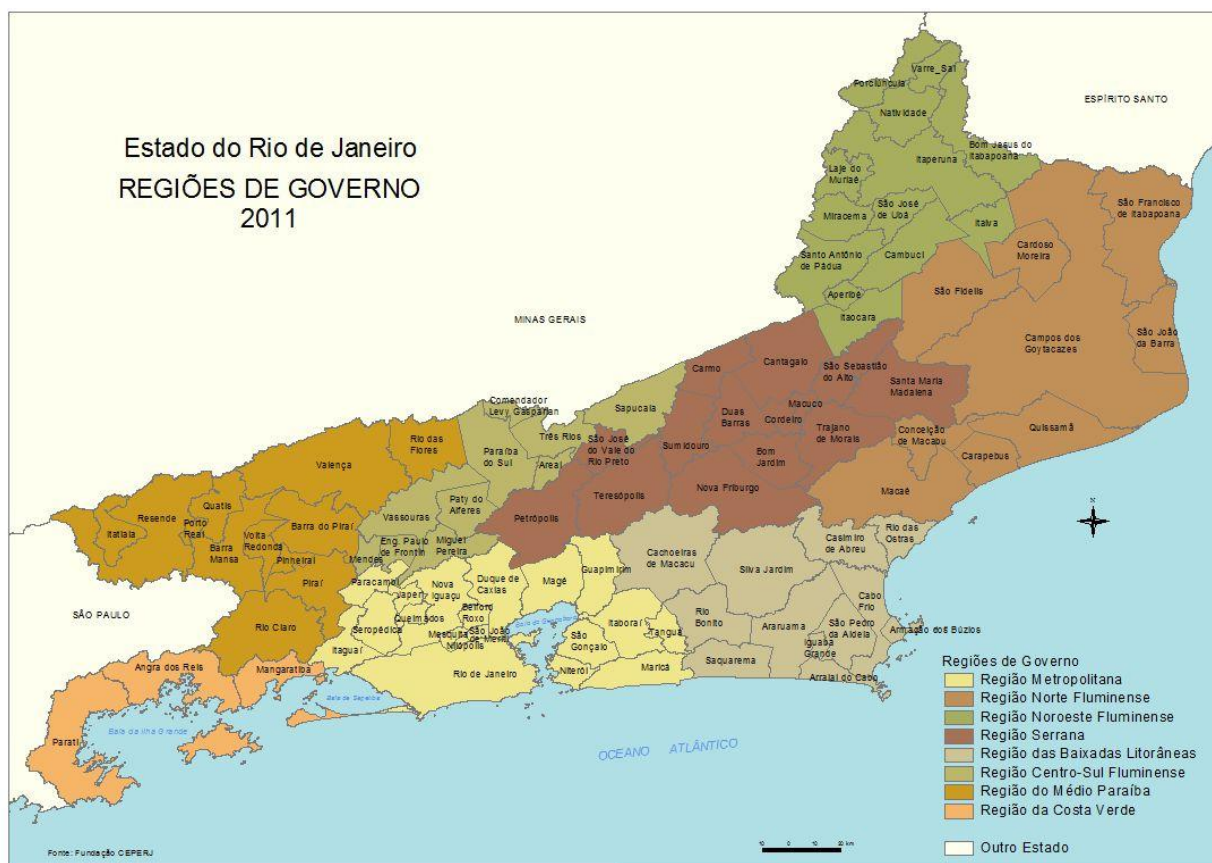


Figura 2.1. Mapa da divisão político-administrativa (regiões) do estado do Rio de Janeiro.
Fonte: Fundação CEPERJ - 2011

2.3. Histórico da doença de Chagas no estado do Rio de Janeiro

O RJ sempre foi caracterizado como uma área livre de transmissão vetorial ou de casos autóctones de DC. As poucas evidências da presença de triatomíneos domiciliados como *T. infestans* fez com que essa ideia ganhasse força nos meios científicos e acadêmicos. Predominava o conceito de que a doença era um problema de saúde típico da região Nordeste e de Minas Gerais. Os casos habitualmente observados no RJ eram de indivíduos oriundos destas regiões que migraram em busca de melhores condições de vida ou tinham recebido transfusão de sangue no passado (Coura 1966). De fato, essa realidade epidemiológica sempre predominou e foi constatada em alguns estudos como os realizados por Benchimol et al. (1954); Rodrigues da Silva et al. (1961); Coura (1966) e Coura et al. (1983). Entretanto, tais trabalhos já deixavam algumas dúvidas e chegaram a considerar a hipótese de autoctonia da DC no RJ em alguns casos em que não existia uma causa clara de transmissão. Contudo, sempre de forma acidental e sem esgotar todas as possibilidades, como a transmissão congênita. Em quase todos os relatos dessas séries de casos há pouca clareza sobre a história

materna dos doentes. Coura (1966) chega a citar a ausência de possibilidade de transmissão congênita em alguns indivíduos naturais da cidade do Rio de Janeiro, mas não descreve a história e a naturalidade das mães dos casos suspeitos. Outros detalhes que devem ser considerados são as limitações dos recursos laboratoriais a época. O exame de confirmação de infecção por *T. cruzi* era a reação de fixação de complemento (Guerreiro & Machado), método há mais de 20 anos abandonado pelas dificuldades de execução e menor sensibilidade e especificidade que os métodos atuais (Brasil 2010). Exames hoje muito utilizados na rotina da DC como a imunofluorescência indireta (IFI), o ensaio imunoenzimático (ELISA), a reação em cadeia da polimerase (PCR) e o ecocardiograma (ECO) não existiam na ocasião.

A presença de vetores da DC no RJ é um fato há muito conhecido e várias publicações relataram capturas de triatomíneos, alguns infectados com *T. cruzi*, tanto na cidade do Rio de Janeiro (antigo estado da Guanabara e Distrito Federal), quanto em outras regiões do estado (Neiva 1914; Neiva & Pinto 1922; 1923; Dias 1943; Guimarães & Jansen 1943; Lent 1942; 1943; Dias & Seabra 1943; Costa Leite 1960; Coura et al. 1966a; Silveira et al. 1982; Ferreira et al. 1986). E mais recentemente as publicações de Gonçalves et al. (1998); Fernandes et al. (1999); Lorosa et al. (2003; 2008); Giordano-Dias et al. (2010); Sangenis et al. (2012). Há predomínio de relatos relacionados com *Triatoma vitticeps*, triatomíneo que será abordado com maior profundidade adiante.

A presença de *T. infestans* no RJ foi documentada por Lent em 1942, no distrito de Engenheiro Passos, município de Resende (divisa com estado de São Paulo). Posteriormente, Bustamante & Gusmão (1953) novamente encontraram *T. infestans* em domicílios de várias localidades de Resende e Itaverá (atual município de Rio Claro), no Sul Fluminense. Na Baixada Fluminense, em Duque de Caxias e Nova Iguaçu, Aragão & Souza (1971) e Coura et al. (1971), também registraram a presença do vetor. Essas constatações na Baixada Fluminense orientaram as medidas de controle vetorial após os grandes inquéritos de abrangência nacional, entomológico e sorológico, realizados entre os anos de 1975 e 1983 e 1975 e 1980, respectivamente. Vale ressaltar que esse estudo estimou em 1,75% a prevalência de DC humana no RJ (Camargo et al. 1984). Em 1970, após comunicação feita por Aragão & Souza sobre a presença de *T. infestans* em cinco localidades de Duque de Caxias e Nova Iguaçu, Coura e colaboradores conduziram um estudo de campo nos bairros onde foram encontrados *T. infestans* infectados com *T. cruzi* colonizando vários domicílios. Neste trabalho foram identificadas seis pessoas com reação de fixação de complemento (Guerreiro & Machado) positiva para DC, três adultos e três crianças. Todas as três crianças eram naturais das localidades estudadas em Duque de Caxias. Dentre os adultos, um deles era natural de uma região endêmica de Minas Gerais e estava há apenas dois anos no RJ. Os

outros dois adultos eram oriundos de municípios do Norte Fluminense: Conceição de Macabu e Itaocara (distrito de Laranjeiras). Tais constatações serão alvo de discussão aprofundada ao final desta tese, onde vários achados aleatórios de pesquisas do passado sobre a DC no RJ irão se encaixar como um grande quebra-cabeça, após os relatos dos casos autóctones desta casuística e os resultados encontrados. Entre os anos de 1978 e 1980, Silveira e colaboradores realizaram novo inquérito entomológico nos municípios de Duque de Caxias e Nova Iguaçu. Foram coletados 535 exemplares de *T. infestans* no intra e peridomicílio de diversas localidades, porém, nenhum se mostrou infectado por *T. cruzi*. Posteriormente, foi aplicado inseticida de ação residual (BHC) para eliminação dos focos. Desde então, não se registrou mais a presença do vetor nos municípios em questão (Silveira et al. 1982).

Diversas pesquisas identificaram a presença de reservatórios silvestres de *T. cruzi* no RJ, sendo documentado por Guimarães & Jansen (1943), gambá e cuíca; Coura et al. (1966b), gambá; Fernandes et al. (1999), gambá, cuíca, preguiça-de-coleira, mico-leão-dourado, roedor; Gonçalves et al. (1998), gambá; Lisboa et al. (2000) mico-leão-dourado; Sangenis et al. (2012), gambá e roedores. Inquéritos sorológicos também foram desenvolvidos por diversos pesquisadores e fizeram parte de estudos de campo na investigação de casos humanos de DC (Bustamante & Gusmão 1953; Coura 1966; Coura et al. 1971; Camargo et al. 1984; Gonçalves et al. 1998; Giordano-Dias et al. 2010; Sangenis et al. 2012). Somente os estudos de Bustamante & Gusmão, Coura e Sangenis relataram casos humanos de DC com possibilidade de autoctonia. A hipótese de caso autóctone no RJ também é considerada na publicação de Benchimol et al. (1954), onde, de dois casos de pacientes naturais da cidade do Rio de Janeiro, um nunca havia se afastado ou viajado para fora da cidade. Nesse trabalho consta uma tabela com a procedência dos pacientes e chamou a atenção, além destes dois casos, um terceiro natural de Campos, no Norte Fluminense. Não era objetivo desse estudo uma investigação epidemiológica mais aprofundada, deixando dúvida sobre a real forma de transmissão.

Em seu trabalho de 1965, Coura cita a conhecida viagem de Charles Darwin ao continente Sul Americano no século XIX, onde foi picado por reduvídeos em sua passagem por Luxan, província de Mendoza, na Argentina. Documentado em seu diário de viagem, este episódio somou-se às doenças apresentadas pelo naturalista após sua volta a Inglaterra e fez com que se levantasse a hipótese dele ter falecido em consequência da DC (Darwin 1871; Coura 1966; Pena 2009). Coincidentemente, durante o levantamento bibliográfico da parte histórica da DC no RJ, foram encontrados textos que faziam alusão a Charles Darwin em sua passagem pelo Brasil e excursão ao Norte Fluminense, onde permaneceu por alguns dias na Fazenda do Sossego, em Conceição de Macabu. Descrita por Darwin como de construção

simples e com cômodos com janelas sem vidraça, nela dormiu algumas noites e se alimentou de carne de caça de animais silvestres caçados na região (Capozzoli 2009; Darwin 1871). Embora remota e até contestada por especialistas (Pena 2009), a DC de Darwin teria sido adquirida em Mendonza ou em Conceição de Macabu?

Podemos concluir que a possibilidade de transmissão humana da DC no RJ, apesar de ser provável pela existência de vetores infectados com *T. cruzi* e do ciclo enzoótico, nunca foi realmente confirmada pela falta de uma metodologia de investigação que esgotasse todas as possibilidades de transmissão. Ademais, a carência de recursos laboratoriais nos estudos conduzidos no passado deixa dúvida quanto aos resultados encontrados. Apesar da presença frequentemente documentada de *T. vitticeps* invadindo o ambiente domiciliar em várias localidades do RJ, seu baixo potencial vetorial gera incerteza entre especialistas sobre a sua importância no ciclo humano da doença.

2.4. Triatomíneos do estado do Rio de Janeiro

Trabalhos pioneiros de Arthur Neiva, Cesar Pinto, Herman Lent, Emmanuel Dias, Felipe Nery Guimarães, Geth Jansen, Pedro Wygodzinsky e Antônio Carlos Silveira foram de grande importância para o conhecimento da fauna de triatomíneos não só do RJ, como de várias regiões do Brasil e da América Latina. Estudo recente sobre a distribuição geográfica de vetores da DC aponta que no Brasil estão presentes 62 espécies, distribuídas pelos 27 estados da Federação (Gurgel-Gonçalves et al. 2012a). O RJ possui oito espécies de triatomíneos documentadas, predominando as de comportamento silvestre. São elas: *Microtriatoma borbai*, *Panstrongylus geniculatus*, *Panstrongylus megistus*, *Parabelminus carioca*, *Rhodnius domesticus*, *Triatoma rubrofasciata*, *Triatoma tibiamaculata* e *Triatoma vitticeps* (Lent & Wygodzinsky 1979; Jurberg et al. 2009; Gurgel-Gonçalves et al. 2012a). No RJ algumas espécies são estritamente silvestres (*M. borbai*, *P. geniculatus*, *P. Carioca*, *R. domesticus*, *T. tibiamaculata*), enquanto outras também podem ser encontradas em ambientes antrópicos (*P. megistus*, *T. rubrofasciata* e *T. vitticeps*) (Lent & Wygodzinsky 1979; Jurberg et al. 2009).

2.5. *Triatoma vitticeps* no estado do Rio de Janeiro e sua importância como vetor da doença de Chagas

O primeiro relato da presença de *T. vitticeps* no RJ data de 1914 quando exemplares foram capturados no então distrito de Macaé, Conceição de Macabu, Norte Fluminense, e

enviados para o Instituto Oswaldo Cruz (Neiva 1914; Neiva & Pinto 1923). Em 1923, Neiva & Pinto já expressavam preocupação com o comportamento deste vetor, que tem por hábito invadir as casas a procura de alimento, à medida que seu ambiente natural vai sendo eliminado. A espécie foi descrita pelo entomologista sueco, especialista em Hemípteros, Carl Stål em 1859, que o definiu como espécie típica do Rio de Janeiro (Neiva & Pinto 1923, Lent 1942). Dados da literatura indicam que *T. vitticeps* é encontrado em quatro estados do Brasil: Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro e Bahia (Silveira et al 1984; Gurgel-Gonçalves et al 2012a). Embora, o estudo de Silveira (1984) assinala a captura deste triatomíneo no município de Buriti Bravo no estado do Maranhão (Silveira et al 1984). Há uma vasta distribuição deste inseto em municípios do Norte e Nordeste de Minas Gerais e ES, principalmente em sua área central, parte do norte e do sul do estado, incluindo os municípios de Vitória e Vila Velha no litoral (Silveira et al. 1984; Sessa & Carias 1986, Dias et al. 1989; Santos et al. 2005; 2006a, Leite 2011). A presença de *T. vitticeps* foi assinalada em apenas três municípios do sul baiano: Jacaraci, Guaratinga e Itagimirim (Silveira et al. 1984, Gurgel-Gonçalves et al. 2012b).

No RJ existem vários relatos de sua presença em diversos municípios, particularmente nas regiões Norte, Serrana, Metropolitana e Noroeste. Há relatos da presença deste vetor nos municípios fluminenses de Conceição de Macabu, Campos dos Goytacazes, Macaé, São João da Barra e São Fidélis, na região Norte; Santa Maria Madalena, São Sebastião do Alto, Trajano de Moraes, Nova Friburgo e Petrópolis, na região Serrana; Itaocara e Porciúncula, na região Noroeste; Magé, Maricá, Niterói, Rio de Janeiro e Tanguá na região Metropolitana; Miguel Pereira, na região Centro-Sul; Silva Jardim e Cabo Frio na Baixada Litorânea (Neiva 1914; Neiva & Pinto 1923; Lent 1942, Ferreira et al. 1986; Fernandes et al.(1999), Gonçalves et al. 1998; Lorosa et al. 2003; 2008; Giordano-Dias et al. 2010; Santos-Mallet 2011 - comunicação pessoal; Sangenis et al. 2012) (Figura 2.2).

Com relação a sua ecologia, podemos afirmar que *T. vitticeps* está mais adaptado ao bioma Mata Atlântica. Confrontando-se as regiões onde o triatomíneo é encontrado com o mapa de biomas do Brasil, vemos que sua abrangência estende-se por regiões onde predomina a Floresta Tropical Atlântica, havendo uma área de transição com o Cerrado ao norte de Minas Gerais e sul da Bahia (IESB 2007; Gurgel-Gonçalves et al. 2012a). O ambiente úmido parece contribuir com a multiplicação de *T. vitticeps*. Observou-se que o aumento da umidade relativa do ar está relacionado com maiores taxas de eclosão dos ovos (Souza et al. 2010). *T. vitticeps* habita o ambiente silvestre, mas costuma invadir as casas a procura de alimento, sendo atraídos pelas luzes dos domicílios, principalmente nos meses mais quentes e chuvosos do ano (Neiva & Pinto 1923; Ferreira et al. 1986; Dias et al. 1989; Gonçalves et al. 1998;

Lorosa et al. 2008). Em seu artigo de 1942, Lent chegou a considerar a espécie predominante e principal transmissora da DC no RJ, devido à frequência que foi encontrada nos domicílios (Lent 1942). O potencial vetorial de *T. vitticeps* foi constatado no ES, onde é o principal vetor, exibindo altas taxas de infecção por *T. cruzi* (Santos et al. 1969b; Sessa & Carias 1986; Dias et al. 1989, Santos et al. 2006a). Embora, a prevalência de DC humana sempre tenha se revelado baixa em diversos inquéritos sorológicos naquele estado (Santos et al. 1969a; Barros et al. 1975; Dias et al. 1989; Sessa et al. 2002). Em estudo conduzido na localidade de Triunfo, no município de Santa Maria Madalena, região Serrana do RJ, também se constatou altas taxas de infecção de *T. vitticeps* por *T. cruzi* (Gonçalves et al. 1998). Apesar de invadir os domicílios em busca de alimento, raramente este triatomíneo é encontrado colonizando o ambiente domiciliar. A grande totalidade de capturas é de exemplares adultos, raramente de ninfas, habitualmente com baixa densidade domiciliar, o que caracteriza o reduzido potencial de colonização da espécie (Sessa & Carias 1986; Dias et al. 1989; Gonçalves et al. 1998; Santos et al. 2005).

Em relação ao comportamento alimentar, comparando-se *T. infestans* com *T. vitticeps*, este necessita de um tempo maior para completar sua refeição e evacuar, podendo mudar de fonte alimentar até estar totalmente saciado (Dias 1956; Diotaiuti et al. 1987; Gonçalves et al. 1988; Santos et al. 2006b). Todas estas características somadas comprometem seu potencial vetorial. *T. vitticeps* é bastante eclético com relação às fontes alimentares, particularmente quando capturado em ambientes antrópicos. Alguns pesquisadores se dedicaram a estudar os hábitos alimentares deste triatomíneo, identificando o sangue ingerido através do teste da precipitina nas fezes (Siqueira 1960; Dias et al. 1989; Gonçalves et al. 2000; Lorosa et al. 2003; Souza et al. 2011). Foi encontrada reação positiva para mais de uma dezena de diferentes antíssoros: humano, cão, porco, cavalo, bovino, gato, ave, lagarto, roedor, tatu e gambá. Todavia, no ambiente selvagem haja preferência por marsupiais e roedores (Jurberg et al 2009; Gurgel-Gonçalves et al. 2012b). No ES e em Santa Maria Madalena, na região Serrana do RJ, foi frequente a reação positiva com antíssoro humano (Dias et al 1989; Gonçalves et al. 1998).

Apesar das constatações sobre a baixa capacidade vetorial da espécie, nenhum estudo, até o momento, negou sua participação na transmissão da DC. Tais trabalhos dão conta da menor probabilidade de *T. vitticeps* transmitir a DC, mas não anulam esta possibilidade. O que pode ser notado em estudos conduzidos no Espírito Santo (Pinto et al. 1969; Santos et al. 2006b). Vale ressaltar que, embora o comportamento tardio de defecação seja o padrão comumente observado, um número significativo de triatomíneos desta espécie consegue evacuar logo após o repasto, igualando-a com as espécies de vetores mais eficientes (Santos et

al. 2006b). Provavelmente, *T. vitticeps* é também o principal vetor e responsável pelas transmissões dos casos autóctones de DC observados no RJ, o que será discutido ao final deste estudo. Após análise de publicações e relatos mais recentes sobre *T. vitticeps* no RJ, notou-se que a presença do vetor é marcadamente constatada nas regiões Serrana e Norte, locais onde se concentram a maioria dos casos autóctones observados nesta casuística (Ferreira et al. 1986; Gonçalves et al. 1998, Fernandes et al. 1999; Lorosa et al. 2003; 2008, Giordano-Dias et al. 2010; Sangenis et al. 2012).

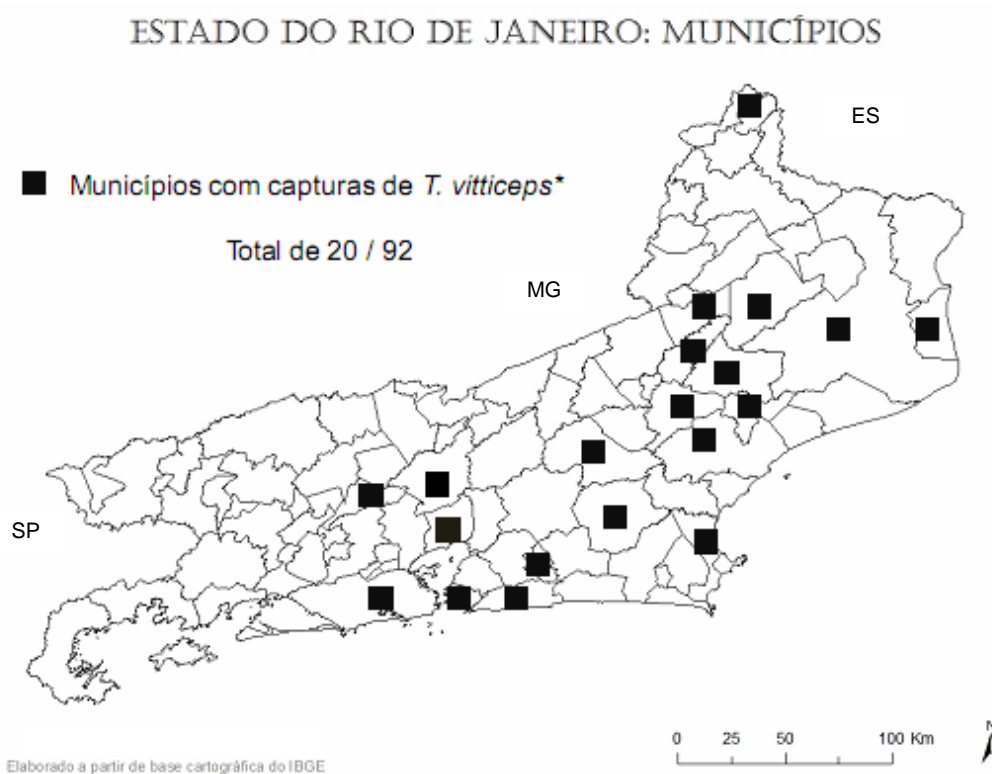


Figura 2.2. Mapa dos municípios do RJ com relato de captura de *Triatoma vitticeps* - * Neiva 1914; Neiva & Pinto 1923; Lent 1942, Ferreira et al. 1986; Fernandes et al. 1999; Gonçalves et al. 1998; Lorosa et al. 2003; 2008; Giordano-Dias et al. 2010; Santos-Mallet 2011 - comunicação pessoal; Sangenis et al. 2012

2.6. Formas de transmissão e aspectos clínicos da doença de Chagas

Descoberta e descrita por Carlos Chagas em 1909, muitos avanços científicos e tecnológicos foram agregados ao longo desses 100 anos para um maior conhecimento e melhor abordagem da DC (Chagas 1909, Rassi et al. 2010). Contudo, ainda existem lacunas, controvérsias e perguntas sem resposta acerca da história natural, imunopatogenia e comportamento de seu agente etiológico, *T. cruzi*. Muitos desafios ainda se impõem em

relação ao controle da transmissão, diagnóstico e tratamento (Dias et al 2008; Lannes-Vieira et al 2010; Coura & Borges-Pereira 2012).

No seu trabalho de 1909, Carlos Chagas atribui à picada do triatomíneo (barbeiro) o principal mecanismo de transmissão de *T. cruzi* aos animais hospedeiros (Chagas 1909). Em 1912, estudo de Brumpt demonstrou a possibilidade de transmissão através das fezes do barbeiro, mecanismo que foi classificado como contaminativo (Brumpt 1912, apud Dias 1934). Posteriormente, Emmanuel Dias desenvolveu um estudo aprofundado sobre os mecanismos de transmissão e concluiu que o contato com as fezes do barbeiro era a principal forma de aquisição de *T. cruzi* (Dias 1934). A transmissão vetorial foi a mais importante até o final da década de 1970. Com o processo de migração da população rural para as cidades em meados do século XX, começaram a surgir casos de transmissão da DC através de transfusões sanguíneas. Já na década de 1970, a via transfusional respondia por 20 mil novos casos anuais da doença só no Brasil, tornando-se a principal forma de transmissão na década de 1980 (Dias & Schofield 1998; Moraes & Silva 2011). Após medidas de controle, adotadas pela iniciativa dos países do cone sul, houve uma redução expressiva das transmissões pela via transfusional e vetorial (Dias 2007a).

A transmissão congênita é considerada uma das mais importantes formas de transmissão, principalmente em alguns países da América do Sul, como Bolívia, Argentina e Chile (Azogue et al. 1985; Gürtler et al. 2003; Apt et al. 2013). Com a diminuição da prevalência da doença e o envelhecimento da população infectada, esta forma de transmissão vem diminuindo nos últimos anos, mas ainda terá impacto na prevalência da DC nos países endêmicos pelos próximos 20 ou 30 anos (OPS 2007; Dias 2009).

Posteriormente, formas acidentais de transmissão por modalidades alternativas ganharam maior atenção dos pesquisadores em DC, como a transmissão por transplante de órgãos, com material de pesquisa em campo ou laboratório, a transmissão oral por consumo de alimentos contaminados com fezes de triatomíneos infectados por *T. cruzi*, o consumo de carne mal passada de animais silvestres, o consumo de alimentos infectados com urina ou secreção para-anal de marsupiais infectados por *T. cruzi* e a transmissão pelo leite materno (Dias 2006, Dias & Amato-Neto 2011). Algumas formas ainda mais raras, como a transmissão pela via sexual, o compartilhamento de seringas e agulhas contaminadas com *T. cruzi*, a picada do barbeiro com presença de conteúdo estomacal com *T. cruzi* na probóscida e a picada por outros vetores hematófagos contaminados com *T. cruzi* são possíveis, mas apresentam ocorrência excepcional (Dias 1979; Dias & Amato-Neto 2011).

Com relação à clínica e evolução natural, não existe um consenso na literatura de quem e quantos irão evoluir para as formas clínicas viscerais (cardíaca e digestiva). Estudos

clínicos do passado em áreas endêmicas estimavam que cerca de metade dos indivíduos infectados fosse evoluir para as formas clínicas sintomáticas após 30 anos de doença (Macedo 1997). Entretanto, provavelmente, o afastamento precoce dessas pessoas da área rural endêmica para os centros urbanos e o combate à transmissão vetorial levou a uma mudança na evolução natural e morbi-mortalidade da doença, devido à interrupção da possibilidade de reinfecções (Dias et al. 2000; Dias & Coura 1997).

A doença apresenta duas fases evolutivas, fase aguda e fase crônica. A fase aguda se inicia logo após a infecção por *T. cruzi* e na maioria dos casos é assintomática ou oligossintomática, mas pode evoluir com gravidade quando há complicações, como a meningoencefalite ou a miocardite, principalmente em crianças menores de dois anos (Dias & Macedo 2005). Os sinais clínicos clássicos da fase aguda, como a febre, o sinal de Romana, a hepatoesplenomegalia e a linfadenopatia habitualmente não são detectados (Dias & Macedo 2005). Na fase crônica a doença pode se apresentar de quatro formas: indeterminada, cardíaca, digestiva e cardiodigestiva ou mista (Dias & Coura 1997; SBC 2011). Há controvérsia sobre a porcentagem de indivíduos que permanecerão por toda vida na forma indeterminada (FI). Provavelmente, a maioria dos pacientes com DC nunca apresentarão sintomas ou evolução para a forma cardíaca ou digestiva, sendo que muitos nunca terão sua infecção detectada (Rassi et al 2010; Uranga & Herranz 2003).

A FI é caracterizada pela ausência de sintomas típicos da doença, além de eletrocardiograma de repouso, estudo radiológico de tórax, esôfago e cólons normais (SVS 2005). Não obstante, quando se utiliza recursos propedêuticos mais sofisticados, como a ecocardiografia, o Holter de 24 h, o teste ergométrico e a cintigrafia miocárdica, alguns pacientes classificados com FI e sem cardiopatia aparente apresentam alterações estruturais ou funcionais do coração. Embora, o significado clínico destes achados não tenha correlação clara com a evolução desfavorável dos pacientes classificados nessa forma clínica (SBC 2011). Estima-se que anualmente 2 a 3% dos pacientes com FI progridam para a forma cardíaca ou digestiva da DC (Dias & Coura 1997).

A forma cardíaca (FC) tem apresentação clínica muito variável na dependência da intensidade e gravidade do comprometimento miocárdico. A infecção crônica por *T. cruzi* leva à miocardite crônica com destruição das células miocárdicas e neuronais cardíacas, ocasionando fibrose difusa e destruição do sistema de condução (Andrade & Andrade 1979; Dias & Macedo 2005). Tais alterações são responsáveis pelas manifestações características da FC, como os bloqueios atrioventriculares, intraventriculares, disfunção do nódulo sinusal, bradiarritmias e taquiarritmias ventriculares, aneurisma apical, tromboembolismo, morte súbita e falência cardíaca (Dias & Macedo 2005). Habitualmente, as manifestações cardíacas

se instalam entre 10 a 30 anos após a infecção inicial (Rassi et al. 2010). O Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (CBDC) (SVS 2005) classifica os pacientes com FC em cinco subgrupos – A, B1, B2, C e D – na dependência de anormalidades encontradas no eletrocardiograma (ECG), ecocardiograma (ECO) e gravidade do comprometimento cardíaco: A – somente alteração do ECG, com ECO normal; B1 – ECG e ECO alterados, com fração de ejeção ventricular (FE) maior que 45%; B2 – ECG e ECO alterados, com FE menor que 45%, mas sem insuficiência cardíaca (IC); C – ECG e ECO alterados, com IC compensável; D – ECG e ECO alterados, com IC refratária. As alterações eletrocardiográficas mais comuns são o bloqueio do ramo direito, o hemibloqueio anterior esquerdo, as extrassístoles ventriculares, o alargamento do intervalo P-R, as alterações da repolarização ventricular e a baixa voltagem do QRS (Rassi et al. 2010). A combinação do bloqueio do ramo direito com o hemibloqueio anterior esquerdo é muito característico de cardiopatia chagásica (Rassi et al. 2010; SBC 2011). Na radiografia do tórax, a cardiomegalia pode estar presente, entretanto, este exame apresenta baixa acurácia na detecção da hipertrofia e da disfunção ventricular na cardiopatia chagásica quando analisado isoladamente (Perez et al. 2003; Ribeiro et al. 2012).

A ecocardiografia é um recurso diagnóstico de grande valia na DC, pois é capaz de identificar o aumento das câmaras cardíacas com maior precisão, áreas de hipocinesia e acinesia das paredes ventriculares, a fração de ejeção do ventrículo esquerdo, as disfunções diastólicas, os aneurismas apicais e a presença de trombos intracavitários (SBC 2004; Pereira 2011). No IPEC, o ECO é utilizado como exame de rotina em todos os pacientes com sorologia positiva para DC.

Os sintomas típicos da FC são: a palpitação, as tonturas, a síncope, a dispneia progressiva aos esforços, a turgência jugular e o edema de membros inferiores, podendo evoluir com anasarca nas formas mais graves. Contudo, parte significativa dos pacientes em processos iniciais da cardiopatia não queixe de nenhum sintoma (Dias & Macedo 2005). Daí a necessidade de realização periódica de exames, como o ECG e o ECO, na tentativa de identificar precocemente os pacientes com agravamento da infecção chagásica.

A forma digestiva (FD) se caracteriza pelo comprometimento de vísceras ocas, principalmente do esôfago (megaesôfago) e das porções terminais dos cólons (megacólon). O processo inflamatório crônico das fibras musculares do aparelho digestivo e da placa mioneural leva a drástica redução dos neurônios, comprometimento do sistema nervoso autônomo, perda da contratilidade e do tônus muscular, acarretando hipertrofia e dilatação progressiva (Rezende 1997; Dias & Macedo 2005). Estudos longitudinais em áreas endêmicas de DC apontam que o megaesôfago costuma anteceder o comprometimento cardíaco na fase crônica (Macedo 1997). O megaesôfago é classificado em quatro estágios, grau I até IV,

sendo o I o mais leve e o IV o mais grave (SVS 2005). Nos estágios iniciais a dilatação do esôfago é menos evidente, entretanto, já estão presentes alterações da motilidade. A disfagia é o sintoma mais característico, principalmente para alimentos sólidos (Dias & Macedo 2005). A doença pode progredir, ocasionando dilatação acentuada, disautonomia da porção terminal, perda da função do esfíncter esôfago-gástrico e acúmulo de alimentos (acalásia). O paciente passa a apresentar regurgitação, soluços, hiporexia e emagrecimento (Rezende 1997). No megacólon há perda da motilidade e processo de dilatação progressiva, sendo a constipação intestinal a queixa mais comum. Constipação por mais de sete dias é bastante sugestivo de megacólon chagásico (Dias & Macedo 2005). As porções terminais do intestino grosso (sigmoide e reto) geralmente são as mais acometidas (Rassi et al. 2010). Nos casos mais graves o paciente chega a ficar por semanas sem evacuar, podendo apresentar complicações, como a obstrução intestinal por fecaloma e o volvo do sigmoide, podendo necessitar de intervenção cirúrgica (Dias & Macedo 2005).

3. JUSTIFICATIVA

Existem muitas dúvidas que cercam a epidemiologia da DC no RJ, considerado área livre de transmissão vetorial, além de aspectos clínicos e evolutivos ainda pouco conhecidos numa casuística diferente daquela das áreas endêmicas típicas. A execução deste trabalho é de extrema importância para esclarecermos os aspectos clínicos e epidemiológicos da doença de Chagas adquirida no RJ. As perguntas principais que se colocam são: como pessoas naturais de um estado reconhecido como não endêmico para a DC foram infectadas por *T. cruzi*? Existe a possibilidade de aquisição da doença pela via vetorial ou oral no RJ? Há diferenças em relação à progressão e aos desfechos da doença numa população que, a priori, nunca morou ou se afastou precocemente das áreas endêmicas?

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Identificar e descrever os aspectos clínicos, laboratoriais e epidemiológicos da doença de Chagas em pacientes naturais do estado do Rio de Janeiro, buscando caracterizar a transmissão autóctone no estado.

4.2. Objetivos Específicos

- 1- Caracterizar o perfil clínico-epidemiológico dos pacientes naturais do estado do Rio de Janeiro com diagnóstico de DC matriculados no IPEC, identificando suas progressões e desfechos.
- 2- Identificar as formas de exposição a *T. cruzi* nos pacientes naturais do estado do Rio de Janeiro e as áreas/municípios do estado onde haja suspeita de exposição vetorial ou por formas alternativas.
- 3- Identificar tipos de moradia, conhecimento do vetor da doença, hábitos alimentares de risco nestes indivíduos como o consumo e o manuseio de carnes de caça de reservatórios conhecidos de *T. cruzi* (gambá, tatu, roedores), assim como a ingestão de bebidas e outros alimentos de forma *in natura* ou artesanal (caldo de cana, açaí da palmeira Juçara – *Euterpe edulis*).
- 4- Identificar as espécies de vetores (triatomíneos) presentes no ambiente domiciliar e extradomiciliar próximo das habitações dos indivíduos afetados e se os mesmos estão infectados por *T. cruzi*.
- 5- Identificar a presença de *T. cruzi* em prováveis reservatórios silvestres (gambá, tatu, roedores) que tenham correlação com o ambiente destes indivíduos.
- 6- Tipificar as linhagens de *T. cruzi* predominantes nos pacientes infectados com transmissão autóctone, vetores e reservatórios silvestres identificados.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Etapas do estudo

Este estudo foi dividido em quatro etapas com metodologias de investigação distintas: as duas primeiras caracterizadas como um delineamento série de casos e as duas últimas como estudos seccionais de campo (inquérito soropidemiológico).

1ª etapa: foi realizada apuração retrospectiva e descritiva dos dados registrados nos prontuários médicos para caracterização dos aspectos clínicos e epidemiológicos dos pacientes naturais do estado do Rio de Janeiro matriculados no IPEC com diagnóstico de DC. Um questionário especificamente elaborado para esta pesquisa foi aplicado contendo as seguintes perguntas: identificação dos pacientes, prováveis formas de transmissão, investigação dos possíveis comportamentos de risco (consumo de carnes de caça e a ingestão de bebidas artesanais), tipos de moradia, conhecimento de vetores, história materna dos pacientes, dados clínicos, exames laboratoriais, uso de medicamentos anti-*T. cruzi*, progressões e desfechos (Anexo 1). O conhecimento de vetores foi feito através de dois mostruários, um contendo espécimes adultos (macho e fêmea) de *T. infestans*, *P. megistus* e ninfas destas duas espécies e um segundo contendo espécimes adultos (macho e fêmea) de *T. vitticeps*.

2ª etapa: de todos os pacientes classificados como autóctones foram colhidas quatro amostras de 5 ml de sangue para execução dos seguintes exames: (1) realização de hemocultivo para *T. cruzi* como descrito por Lisboa et al. (2006); (2) xenodiagnóstico indireto, com metodologia adotada pelo Laboratório de Doenças Parasitárias do IOC, que utiliza 5 ml de sangue com heparina, colocado em dedo de luva de látex em recipiente de vidro com 40 ninfas de 3º e 4º estágios de duas espécies diferentes, *T. infestans* e *P. megistus* ou *T. vitticeps*. Após 45 dias as ninfas têm seus intestinos dissecados e analisados individualmente por microscopia ótica; (3) PCR pela técnica de amplificação do DNA do cinetoplasto (k-DNA), como descrita por Avila et al. (1993) e Ribeiro-dos-Santos et al. (1999) (Anexo 2); (4) PCR multiplex do gene do mini-exon, como descrita por Macedo et al. (1992), Vallejo et al. (1999) e Fernandes et al. (2001), e etapa complementar pela técnica de PCR-RFLP (*Restriction Fragment-Length Polymorphism*) para identificação dos genótipos TcII, TcV / TcVI e TcIII e TcIV como descrita por Rozas et al. (2007) e Westenberger et al. (2005) de acordo com a caracterização por DTUs (*discrete typing units*) como descrita por Zingales et al. 2009 (Anexo 3);

3ª etapa: foi realizado estudo de campo nas regiões onde provavelmente ocorreu a infecção dos casos autóctones. Foram investigados os tipos de moradia, os hábitos alimentares, o conhecimento de vetores, os triatomíneos e animais silvestres, prováveis reservatórios de *T. cruzi*, presentes nos domicílios e peridomicílios. O conhecimento dos vetores foi realizado através de um mostruário contendo um espécime adulto de *T. vitticeps*, um espécime adulto de *T. infestans* e duas ninfas de *T. infestans*.

4ª etapa: novos casos de infecção chagásica entre os moradores das áreas estudadas foram investigados através de coleta de sangue por punção digital em papel de filtro para análise sorológica pelos métodos de IFI (*BioManguinhos*) e ELISA (Biozima®) ou teste rápido (imunocromatografia – DPP Chagas® - *BioManguinhos*) (Anexo 9); Os indivíduos das áreas estudadas que apresentaram reações sorológicas positivas foram encaminhados para o IPEC para repetição da sorologia no soro pelos métodos de IFI e ELISA, realização de ECG, radiografia do tórax com esôfago contrastado e preenchimento do questionário clínico-epidemiológico aplicado aos pacientes da casuística do IPEC exposto no Anexo 1. Foram coletados e identificados vetores nos domicílios e peridomicílios das regiões estudadas. As fezes dos triatomíneos foram retiradas, colocadas em solução salina a 0,9% entre lâmina e lamínula e analisadas pela microscopia ótica (400X) para a identificação de tripanossomatídeos semelhantes a *T. cruzi*. Foi realizada a dissecação dos intestinos dos triatomíneos que se encontravam em melhor estado e submetidos à técnica de PCR multiplex do gene do mini-exon descrita por Fernandes et al. (2001) e adaptada por Silva et al. (2006) (Anexo 4). Pequenos mamíferos silvestres encontrados nos peridomicílios foram capturados utilizando-se armadilhas (modelo Tomahawk®) com o objetivo de realizar sorologia pela IFI, hemocultivo para *T. cruzi* e fazer a caracterização das linhagens predominantes pela PCR multiplex pela técnica do gene do mini-exon como descrita no Anexo 3. Os dados coletados nas etapas de campo foram anotados em formulário especificamente elaborado para este estudo (Anexo 5).

5.2. Locais de realização do estudo

A primeira etapa foi conduzida no Laboratório de Pesquisa Clínica em doença de Chagas (LapClin-Chagas) do IPEC. Na segunda etapa, a PCR com amplificação do DNA do cinetoplasto (k-DNA) foi realizada no Laboratório de Pesquisa em Farmacogenética do IPEC; o hemocultivo e a PCR multiplex do gene do mini-exon foram realizadas no Laboratório de

Biologia de Tripanossomatídeos do Instituto Oswaldo Cruz (IOC); o xenodiagnóstico indireto foi realizado no Laboratório de Doenças Parasitárias do IOC.

As duas últimas etapas foram conduzidas nas localidades, nos domicílios e peridomicílios onde habitam pelo menos parte dos pacientes identificados na primeira etapa como autóctones. As sorologias em papel de filtro para DC foram realizadas no Laboratório de Imunodiagnóstico do IPEC. A identificação dos vetores e a pesquisa de *T. cruzi* nas fezes e intestinos foram realizadas no Laboratório de Ecoepidemiologia em Doença de Chagas do IOC; o hemocultivo e a PCR multiplex do gene do mini-exon das amostras dos animais silvestres capturados foram realizadas no Laboratório de Biologia de Tripanossomatídeos do IOC.

5.3. Rotinas do LapClin-Chagas do IPEC

O IPEC é um centro de referência para diversas doenças infecciosas, como Aids, infecção pelo HTLV, tuberculose, micoses sistêmicas, leishmanioses, doenças febris agudas e entre elas a DC. O LapClin-Chagas recebe regularmente pacientes encaminhados pelos bancos de sangue situados na região metropolitana do RJ com triagem sorológica positiva e por outros serviços de saúde do SUS para investigação de DC. Até dezembro de 2010 existiam 1.963 pacientes cadastrados com diagnóstico de DC, sendo a maioria natural de estados da região nordeste e de Minas Gerais, cardiopatas crônicos e com idade superior a 40 anos (Meira et al. 2012).

Os portadores de DC são acompanhados por equipe multidisciplinar composta por médico infectologista, cardiologista, gastroenterologista e serviços de enfermagem, farmácia, nutrição e fisioterapia, dentre outros profissionais.

Todos os pacientes após a primeira consulta realizam teste sorológico de triagem para DC pelos métodos de IFI e ELISA. Após a confirmação da doença, é feita a abertura de prontuário, encaminhamento para consulta médica e realização de exames de rotina de DC que consta de: ECG de repouso com 12 derivações e D2 longo, radiografia do tórax em PA e perfil com esôfago contrastado, ECO bidimensional, exames de bioquímica sanguínea, lipidograma, hemograma, tipo sanguíneo, exame de urina (EAS) e parasitológico de fezes (EPF). O ECG, o ECO e a sorologia para DC são repetidos periodicamente para avaliar a evolução da doença. Os retornos e os agendamentos nas especialidades são definidos de acordo com o estado clínico individualizado de cada paciente, assim como a solicitação de outros exames de investigação como a EDA, a colonoscopia e o Holter de 24 horas. Xenodiagnóstico indireto, hemocultivo e PCR também são realizados em situações diversas,

como protocolos de pesquisa, acompanhamento terapêutico e em casos de resultados sorológicos discordantes ou duvidosos.

O IPEC também conta com centro hospitalar com 24 leitos, sendo quatro de UTI, apresentando uma média de cinco internações de pacientes com DC ao mês. Além disso, o LapClin-Chagas desenvolve diversas pesquisas nas áreas de clínica, prognóstico, diagnóstico, tratamento e epidemiologia da DC.

5.4. Casuística

A casuística englobou todos os pacientes do IPEC com doença de Chagas naturais do Rio de Janeiro e que foram cadastrados no período de 1986 a dezembro de 2011. Foram adotados os seguintes critérios de inclusão: (1) pacientes com diagnóstico de doença de Chagas com evidência sorológica de infecção de acordo com o CBDC (SVS 2005); (2) que abriram prontuário para acompanhamento no IPEC; (3) que tinham registro de pelo menos duas consultas e realizado exames básicos de rotina de DC que permitissem a classificação clínica dos mesmos; (4) que tinham nascido no estado do Rio de Janeiro.

Para segunda, terceira e quarta etapas deste estudo foram excluídos os pacientes que: (1) tinham suspeita de aquisição da doença por transfusões de hemoderivados ou transplante de órgãos; (2) tinham mãe natural de áreas endêmicas com transmissão vetorial conhecidas de DC; (3) residiram em áreas de transmissão vetorial conhecidas fora do RJ.

5.4.1. Classificação clínica e epidemiológica

Com relação às formas de transmissão, os casos foram classificados em quatro grupos básicos: (1) congênita; (2) autóctone; (3) transfusional; (4) doença adquirida fora do RJ (vetorial importado). Foram classificados no grupo de transmissão congênita os pacientes que tinham mães naturais de áreas endêmicas de DC e sem outro dado epidemiológico de risco de aquisição da doença. Para classificar o caso como autóctone foram excluídos todos os fatores de risco para aquisição de DC obedecendo aos seguintes critérios: (1) ausência de história de transfusão de hemoderivados ou recepção de órgãos; (2) possuir mãe natural do RJ e sem história de aquisição de DC por formas conhecidas; (3) não ter relato de moradia e viagens em áreas endêmicas conhecidas de DC. Todos os pacientes que tinham relato de transfusão de hemoderivados ou recepção de órgãos antes de 1992 foram alocados no grupo de aquisição transfusional, mesmo se apresentassem outros fatores de risco como mãe natural de área endêmica ou ter residido em área rural. Foram classificados como casos adquiridos fora do RJ

(vetorial importado) aqueles, que, embora tivessem nascido no RJ, relataram ter viajado e morado em áreas endêmicas conhecidas de DC. Os casos que tinham fatores de risco para aquisição da doença no RJ de forma natural (autóctone) e que possuíam mães naturais de regiões endêmicas conhecidas de DC foram alocados em um quinto grupo denominado autóctone/congênita. Os casos que tinham três fatores de risco (excetuando-se a transmissão transfusional) ou que não puderam ter sua forma de aquisição investigada adequadamente por abandono ou por dificuldade de localização foram classificados como inconclusivos.

A classificação clínica baseou-se no Consenso Brasileiro em Doença de Chagas de 2005: forma indeterminada; forma cardíaca (classe A, B1, B2, C e D), forma digestiva (megaesôfago grau I a IV e megacólon) (SVS 2005). Os pacientes com acometimento cardíaco e digestivo foram classificados como portadores de forma mista ou cardiodigestiva, segundo descrito na I Diretriz Latino-Americana para Diagnóstico e Tratamento da Cardiopatia Chagásica (SBC 2011).

5.5. Estratégia de análise

Para as duas primeiras etapas foram adotadas estratégias de análise descritivas dos casos como proporções e potencialmente descrevendo a progressão de doença desses pacientes. Para as duas últimas etapas foram adotadas estratégias de análise descritivas com ênfase nas localidades com proporções e prevalências de eventos de interesse para exposições à DC, taxas de infecção por *T. cruzi* em triatomíneos, animais reservatórios e moradores das áreas estudadas. Foi utilizado o sistema Epi Info versão 2010 para tabulação e análise estatística dos dados coletados em todas as etapas do estudo.

5.6. Obtenção de amostras e materiais biológicos

Dos pacientes classificados como autóctones foram coletadas três amostras de 5 ml de sangue em frascos com EDTA e encaminhadas para os Laboratórios do IPEC e IOC envolvidos na realização dos hemocultivos e métodos de biologia molecular (PCR). Para realização do xenodiagnóstico indireto, foi colhida outra amostra de 5 ml em frasco com heparina e encaminhada ao Laboratório de Doenças Parasitárias do IOC.

Na pesquisa de campo foram coletados triatomíneos presentes no domicílio e peridomicílio das localidades investigadas e enviados para o Laboratório de Eco-epidemiologia em doença de Chagas do IOC para identificação e coleta das fezes para pesquisa de tripanossomatídeos. Os triatomíneos que estavam em melhor estado tiveram seus

tubos digestivos dissecados para identificação de *T. cruzi* pela técnica de PCR multiplex do gene do mini-exon, descrita no Anexo 4. Foram coletadas amostras de sangue dos animais silvestres capturados no peridomicílio e ecótopos silvestres próximos das habitações e realizadas sorologia (IFI), hemocultivo e identificação de *T. cruzi* pela técnica de PCR multiplex do gene do mini-exon, descrita no Anexo 2. Dos moradores das localidades rurais do RJ foram coletadas amostras de sangue através de punção digital para realização de inquérito sorológico pelas técnicas de IFI e ELISA. Parte das amostras foi coletada em papel de filtro (Klabin 80) e outra parte foi utilizada na realização de teste rápido (imunocromatografia – DPP Chagas®, *BioManguinhos*) (Anexo 9). Foi considerado teste positivo, ELISA com índice de reatividade superior a 1,0 e IFI com títulos iguais ou superiores a 1/40 em humanos e 1/20 em animais silvestres.

6. ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do IPEC – FIOCRUZ com número de certificado 0023.0.009.000-10 e Licença 016/2011 (Anexo 6). Foram elaborados dois Termos de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE): (1) para os pacientes do IPEC naturais do RJ; (2) para os voluntários da etapa de campo nas localidades rurais do RJ (Anexos 7 e 8). O estudo com animais silvestres foi aprovado pelo Comitê de Ética de Utilização de Animais da FIOCRUZ com número de Licença 029/96.

7. RESULTADOS

7.1. Casuística do IPEC natural do estado do Rio de Janeiro

No período de 1986 a dezembro de 2011, havia 72 pacientes naturais do RJ com DC cadastrados no IPEC e com prontuário aberto, representando 3,7% do total de pacientes com DC cadastrados. Foram descartados três prontuários por estarem muito incompletos e sem o mínimo de exames necessários para a classificação do caso. Portanto, 69 pacientes foram analisados e estudados neste trabalho. Todos os 69 pacientes tinham pelo menos duas sorologias positivas para DC pelas técnicas de IFI e ELISA. O xenodiagnóstico foi realizado em 44 pacientes, sendo que em 13 (30%) o resultado foi positivo. O hemocultivo para *T. cruzi* foi realizado em 23 pacientes e apenas três (13%) apresentaram resultado positivo, sendo que dois foram positivos para *Trypanosoma rangeli*. Todos os pacientes realizaram ECG com 12 derivações e D2 longo, radiografia do tórax com esôfago contrastado em duas incidências (PA e perfil) e ECO bidimensional. Os pacientes com queixa de disfagia foram submetidos à EDA e aqueles com constipação por mais de seis dias à colonoscopia.

Dos 69 pacientes, 46 eram do sexo masculino (Figura 7.1). Houve predominância de indivíduos do sexo masculino nos três grupos principais de formas de transmissão (congenita, autóctone e transfusional), assim como entre as formas de classificação clínica (indeterminada, cardíaca, digestiva e mista). Em relação à cor, 39 (56,5%) eram brancos, 16 (23,2%) pardos e 14 (20,3%) pretos. A idade no momento do cadastro no IPEC variou de 15 a 69 anos com média de 38 anos. Observou-se média de idade mais baixa no grupo de pacientes com transmissão congênita (Tabela 1) e naqueles com forma indeterminada (Tabela 2).

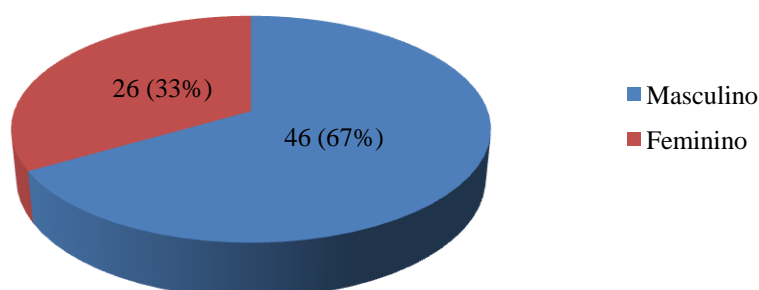


Figura 7.1. Distribuição por sexo entre 69 pacientes com DC naturais do RJ acompanhados no IPEC de 1986 a 2011.

Tabela 1. Faixas etárias dos pacientes com DC naturais do RJ de acordo com as formas de transmissão

Faixas etárias	Formas de transmissão					
	Congênita	Autóctone	Transfusional	Fora do RJ	Autóctone/congênita	Inconclusivo
15-29	10	2	2	2	-	1
30-44	14	5	4	4	3	-
45-59	2	6	3	1	3	4
≥ 60	-	2	1	-	-	-
Total/média (anos)	26 / 32,53	15 / 44,20	10 / 39,70	7 / 34,28	6 / 42,50	5 / 45,40

Tabela 2. Faixas etárias dos pacientes com DC naturais do RJ distribuídos de acordo com as formas clínicas

Faixas etárias	Formas clínicas			
	Indeterminada	Cardíaca	Digestiva	Cardiodigestiva
15-29	11	5	-	1
30-44	17	10	-	2
45-59	10	6	1	2
≥ 60	1	2	-	1
Total/Média (anos)	39 / 35,97	23 / 40,07	1 / 50,00	6 / 46,71

Em relação à procedência dos pacientes, 67% eram oriundos de áreas urbanas e 33% de áreas rurais do estado. A maior parte dos pacientes era natural da região Metropolitana, com destaque para o município do Rio de Janeiro com 27 casos, entretanto, chamou a atenção o elevado número de pacientes oriundos das regiões Norte e Serrana do estado – 17 casos (Figura 7.2).

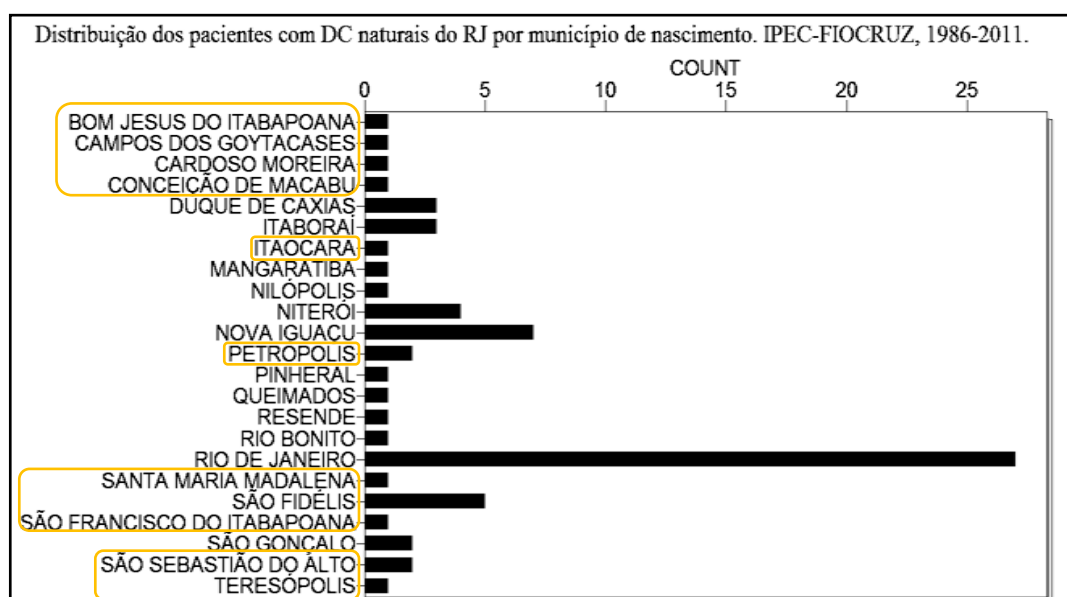


Figura 7.2 municípios localizados na região Serrana e Norte Fluminense

A maior parte dos pacientes descobriu ser portadora da doença após doação de sangue, seguido daqueles casos em que foi suspeitado por apresentar alguma doença cardíaca e por apresentar algum familiar portador de DC. Outros motivos foram anotados, como: pacientes que apresentaram doença digestiva (2); rastreamento sorológico positivo em doação de medula óssea (1); encontro de vetores da DC no domicílio (1) e periódico de exames da carreira militar (1) (Figura 7.3).

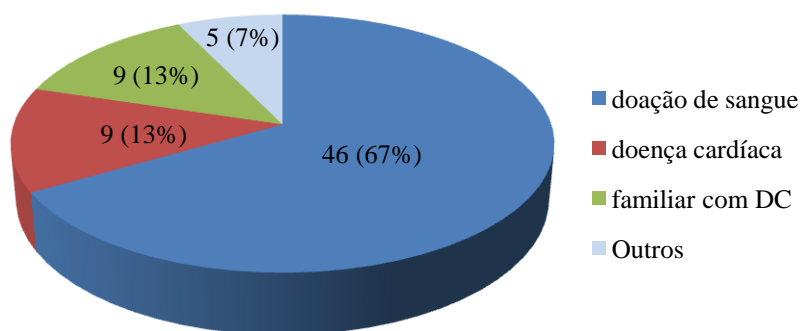


Figura 7.3. Motivo de realização da sorologia para DC na casuística do IPEC natural do RJ.

Em relação às formas de transmissão entre os naturais do RJ, a mais frequente foi a congênita, seguido dos casos autóctones e dos que adquiriram a doença por transfusão sanguínea em terceiro lugar (Figura 7.4). Dentre os 69 pacientes, 11 receberam transfusões sanguíneas, sendo que um na década de 1950, dois na década de 1960, cinco na década de 1970, três na década de 1980 e um na década de 1990. Um paciente relatou ter recebido duas transfusões, sendo uma em 1956 e outra em 1982. Como a transfusão ocorrida na década de 1990 se deu no ano de 1999, considerada de muito baixo risco para transmissão de DC, este caso foi alocado no grupo de transmissão congênita, visto que a mãe da paciente era natural de área rural do estado da Paraíba. Em relação aos hospitais onde se deram as transfusões, cinco ocorreram em hospitais públicos: dois da cidade do Rio de Janeiro, um de Niterói, um de Belo Horizonte e um de Erechim, Rio Grande do Sul. Apenas duas transfusões ocorreram em clínicas privadas, sendo uma localizada no Rio de Janeiro e outra em Niterói. Quatro pacientes não souberam dizer em quais hospitais foram submetidos à transfusão sanguínea.

Dois pacientes do grupo autóctone tinham mães com sorologia positiva para DC, havendo a possibilidade de aquisição da doença por via congênita, porém como as mães e avós destes pacientes eram naturais do RJ foram alocados nesse grupo, de acordo com os critérios adotados na metodologia deste estudo. Um paciente, apesar de ter nascido e morado

em área rural do município de Itaocara, no Noroeste Fluminense, recebeu transfusão sanguínea na infância e foi alocado no grupo transfusional. Pacientes com três possibilidades de aquisição da DC, exceto a transmissão transfusional, ou que tiveram dificuldade de classificação por abandono do acompanhamento foram classificados como inconclusivos.

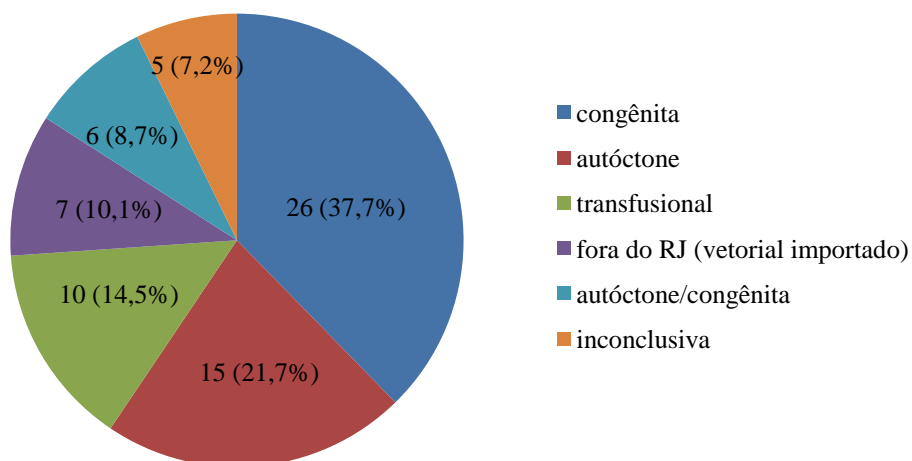


Figura 7.4. Distribuição das prováveis formas de transmissão de DC entre os pacientes naturais do RJ acompanhados no IPEC de 1986 a 2011.

Em relação à naturalidade materna, o estado mais citado foi o Rio de Janeiro, seguido de Minas Gerais, Bahia e Rio Grande do Sul. Foram detectados 20 pacientes com mães portadoras de DC com sorologia positiva. Outras nove mães realizaram sorologia em algum período da vida, mas os resultados foram negativos. A maioria dos pacientes desconhecia a condição sorológica materna para DC. Dentre os 69 pacientes, 17 referiram pelo menos um irmão com a doença, 10 negaram e nos outros 42 casos, a condição sorológica dos irmãos era desconhecida. A distribuição entre os tipos de transmissão dos pacientes de acordo com a naturalidade materna e a informação sobre o conhecimento da condição de portadora de doença de Chagas das mesmas encontra-se na Tabela 3.

Tabela 3. Naturalidade materna dos pacientes acompanhados no IPEC naturais do RJ e informação sobre a condição de portadora de DC e distribuídas de acordo com as formas de transmissão dos casos. N=69

Formas de transmissão	Naturalidade materna - UF													Mãe portadora de DC				
	AL	BA	CE	ES	MG	MS	PB	PE	PI	RJ	RN	RS	Ign	Total	Sim	Não	Ign	Total
Congênita	-	07	-	-	08	01	02	03	-	-	01	04	-	26	13	-	13	26
Autóctone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15	-	-	-	15	02	06	07	15
Transfusional	-	01	-	-	-	-	-	01	-	07	-	-	01	10	-	02	08	10
Autóctone/congênita	-	-	-	-	02	-	-	-	-	-	-	04	-	06	04	-	02	06
Fora do RJ (vetorial importado)	01	-	02	01	-	-	-	-	-	01	-	-	02	07	01	01	05	07
Inclusivo	-	-	-	-	-	-	-	-	01	02	-	-	02	05	-	-	05	05
Total	01	08	02	01	10	01	02	04	01	25	01	08	05	69	20	09	40	69

No questionário epidemiológico foi investigado se os pacientes já tinham residido em área rural, se já haviam habitado em vivendas de pau a pique e se tinham conhecimento prévio do barbeiro em seus locais de moradia. O hábito de caçar e consumir animais silvestres, assim como o consumo artesanal de caldo de cana e de açaí da palmeira Juçara, também foi investigado. Dos 69 pacientes, 31 (45%) relataram ter morado em área rural, sendo que destes, 29 (94%) afirmaram ter residido em casas de pau a pique. Os outros 38 pacientes (55%) negaram ter morado em área rural e em casas de estuque. O tempo de moradia na área rural variou de 1 a 55 anos com média de 18 anos.

Em relação ao conhecimento prévio do barbeiro, 46 (66,7%) negaram ter visto o inseto em seus locais de moradia, 13 (19%) afirmaram conhecer, cinco (7,2%) referiram não lembrar e em outros cinco casos (7,2%) esta informação não pode ser obtida. O hábito de caçar, preparar e consumir animais silvestres foi negado por 30 pacientes (44%), confirmado por 25 (36%) e em 14 casos (20%) esta informação não pode ser obtida. Os animais mais citados foram: tatu (21), gambá (15), preá (4) e paca (4). Outros animais foram citados com menor frequência: ave (juriti) e lagarto teiú, três vezes; capivara, ouriço-cacheiro, lebre e preguiça, uma vez. O consumo de caldo de cana artesanal foi referido por 25 pacientes (36%) e negado por 30 (44%). Apenas dois pacientes (3%) relataram o consumo artesanal de açaí da palmeira Juçara. Em 14 (20%) casos a informação sobre o consumo de bebidas artesanais não pôde ser obtida. A frequência dos achados epidemiológicos entre os grupos de pacientes classificados pelo tipo de transmissão encontra-se na Tabela 4.

Tabela 4. Distribuição de variáveis epidemiológicas de acordo com as formas de transmissão em pacientes do IPEC com DC naturais do RJ

Variáveis Transmissão	Habitou área rural	Habitou casa de pau a pique	Conheceu o Barbeiro	Consumo de animais silvestres	Consumo de bebidas artesanais	Total de pacientes
	Sim Não Ign	Sim Não Ign	Sim Não Ign	Sim Não Ign	Sim Não Ign	
Congênita	- 26 -	- 26 -	- 25 1	3 17 6	1 19 6	26
Autóctone	15 - -	15 - -	7 4 4	15 - -	15 - -	15
Transfusional	1 9 -	1 9 -	- 9 1	- 7 3	- 7 3	10
Autóctone/congênita	6 - -	5 1 -	3 3 -	4 2 -	5 1 -	6
Fora do RJ (importado)	7 - -	6 1 -	3 2 2	3 2 2	4 1 2	7
Inconclusivo	2 3 -	2 3 -	- 3 2	- 2 3	- 2 3	5
Total	31 38 -	29 40 -	13 46 10	25 30 14	25 30 14	69

A forma indeterminada predominou, com 39 (56,5%) pacientes e a forma cardíaca foi observada em 29 (33%) pacientes, sendo que seis (9%) também tinham comprometimento digestivo. Apenas um (1,5%) paciente tinha a forma digestiva isolada. Dentre os classificados com forma cardíaca, predominou as formas menos graves – classe A e B (Figuras 7.5 e 7.6). A distribuição dos pacientes pelos graus de gravidade de megaesôfago e megacólon são apresentadas na Tabela 5.

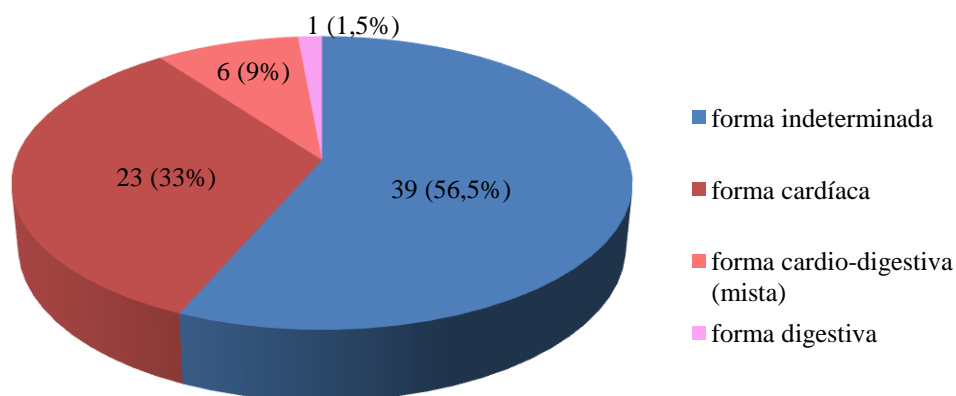


Figura 7.5. Distribuição da classificação clínica inicial da DC em 69 pacientes naturais do RJ acompanhados no IPEC de 1986 a 2011

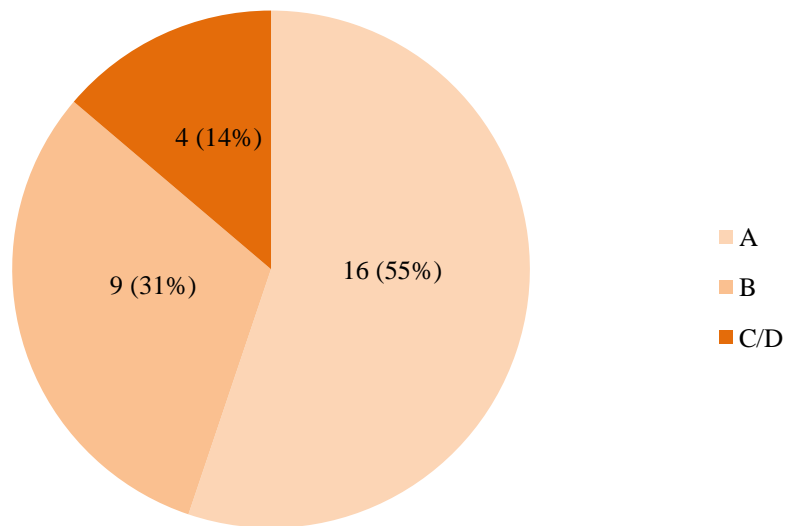


Figura 7.6. Distribuição da gravidade da forma cardíaca da DC entre os 29 pacientes naturais do RJ classificados com essa forma e acompanhados no IPEC de 1986 a 2011

Tabela 5. Classificação das formas digestivas de acordo com a gravidade entre os pacientes naturais do RJ e acompanhados no IPEC de 1986 a 2011

Forma digestiva: classificação	pacientes
Megaesôfago GI	3
Megaesôfago GIII	2
Megaesôfago GII+Megacólon	1
Megacólon	1
Total	7

A forma indeterminada foi predominante entre o grupo de transfundidos e a forma cardíaca predominante no grupo autóctone e naqueles que adquiriram a doença fora do RJ (vetorial importado). O grupo que adquiriu a DC pela via congênita apresentou uma distribuição mais equilibrada com ligeira predominância da forma indeterminada em relação à forma cardíaca. A distribuição das formas clínicas de DC entre os pacientes divididos de acordo com as formas de transmissão pode ser vista na Figura 7.7. Em relação aos sintomas referidos na primeira consulta de seguimento, 52 (75%) pacientes eram assintomáticos.

Dentre os 17 (25%) sintomáticos, a queixa mais comum foi palpitação, seguido de dispneia, constipação intestinal, disfagia, tontura, síncope e astenia. A frequência das queixas clínicas pode ser visualizada na Tabela 6.

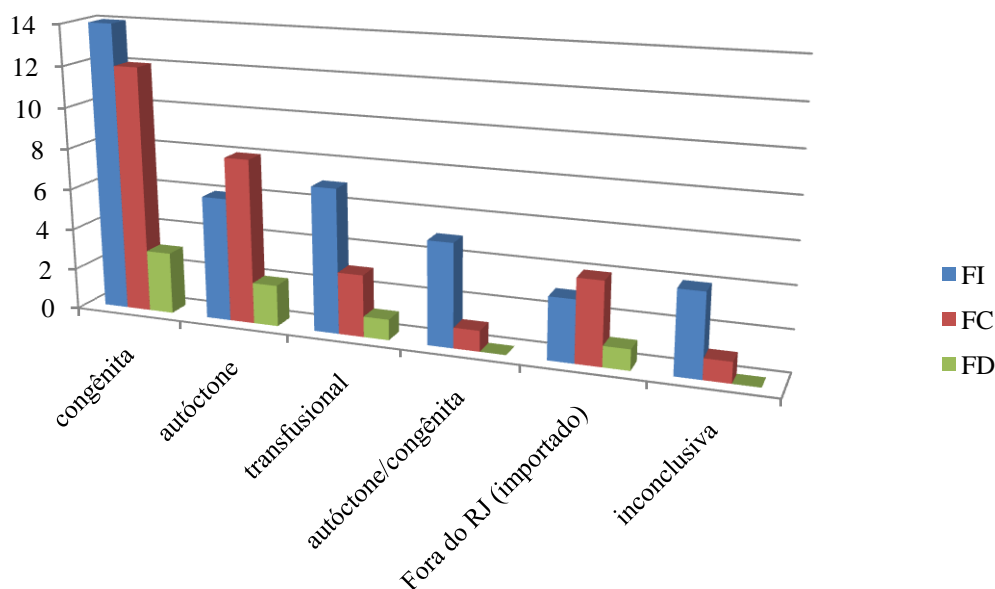


Figura 7.7. Distribuição das formas clínicas de DC entre os pacientes naturais do RJ de acordo com as formas de transmissão

Tabela 6. Frequências de sintomas referidos pelos pacientes com DC na primeira consulta de seguimento. N=69

Referiu sintoma		Sintoma referido						
		Palpitação	Dispneia	Constipação	Disfagia	Tontura	Síncope	Astenia
Sim	17 (25%)	9	5	3	3	2	2	1
Não	52 (75%)							

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) estava presente em 16 (23,2%) pacientes e o diabetes mellitus (DM) em 5 (7,2%), sendo que em quatro casos as duas doenças estavam associadas. Outras doenças foram assinaladas, mas com menor frequência: gastrite, depressão, dislipidemia, obesidade, úlcera péptica duodenal, DPOC, lombociatalgia, hipotireoidismo, câncer do colo uterino e doença diverticular dos cólons. Paracoccidioidomicose, strongiloidíase e tricuriase foram infecções encontradas isoladamente em três pacientes.

Na radiografia do tórax com esôfago contrastado, o aumento da área cardíaca estava presente em 6 (8,7%) e 3 (4,3%) apresentaram aumento do diâmetro do esôfago. No ECG

inicial dos 29 pacientes com FC, a associação do bloqueio do ramo direito (BRD) ao hemibloqueio anterior esquerdo (HBAE) foi a alteração eletrocardiográfica mais comum, estando presente em 12 (42%) casos. A extrassistolia estava presente em 9 (31%) pacientes, sendo 5 com ventriculares (EV) e 4 com supraventriculares (ESV). Outras alterações observadas foram: BRD completo, BRD incompleto, HBAE, bloqueio atrioventricular (BAV) de primeiro e de segundo graus, baixa voltagem no plano frontal (BVF), bloqueio do ramo esquerdo (BRE), bradicardia sinusal (BS), desvio do eixo elétrico para esquerda (DEE) e alterações da repolarização ventricular (ARV) (Tabela 7).

Tabela 7. Alterações eletrocardiográficas encontradas nos pacientes com forma cardíaca de acordo com a classificação de gravidade do CBDC, n=29

FC: classe	Alterações no ECG													Total (pacientes)
	BRD+HBAE	EV	ESV	BRDC	BRDI	BAV1G	BAV2G	HBAE	BS	BRE	BVF	DEE	ARV	
A	7	2	1	2	3	2	1	2	2	1	1	2	2	16
B	3	1	1	-	1	-	-	1	1	1		2	1	9
C/D	2	2	2	-	-	-	-	-	1	-	1		-	4
Total	12	5	4	2	3	2	1	3	4	2	2	4	3	29

Os pacientes com FC classe B, C e D apresentaram alterações no ECO inicial. Todos tinham disfunção sistólica com hipocinesia ou acinesia das paredes do VE, sendo o comprometimento dos seguimentos inferior, posterior e apical o mais comumente observado. A FE também estava diminuída em todos os pacientes. Dos nove pacientes classificados com FC/B, seis possuíam disfunção sistólica leve com FE > 45%, sendo classificados como B1 e três pacientes tinham FE < 45%, classificados como B2. Dentre os quatro pacientes com FC classes C/D, todos possuíam FE < 35%. O aumento das câmaras cardíacas foi observado em dois pacientes do grupo B, átrio esquerdo (AE) em um paciente e ventrículo esquerdo (VE) em outro. A disfunção diastólica de grau I estava presente em três pacientes deste grupo. Em um paciente do grupo C/D foi observado aumento de todas as câmaras cardíacas e aumento do AE em outro. Dois pacientes apresentaram disfunção diastólica, um com grau II e outro com grau IV. Outro paciente apresentou insuficiência mitral grave e imagem sugestiva de ruptura de cordoalhas, mas provavelmente sem correlação com complicações da DC. O aneurisma apical do VE foi observado em dois pacientes com FC/B.

A EDA foi realizada em 10 pacientes, sendo que seis apresentavam megaesôfago: três com grau I, um com grau II e dois com grau III. Três pacientes foram submetidos à colonoscopia e dois apresentaram megacólon.

Dentre os 69 pacientes, 5 (7,2%) necessitaram de implante de marcapasso definitivo (MP). Em dois pacientes, o MP foi implantado antes de iniciarem o acompanhamento no IPEC, sendo este o evento que motivou a realização de sorologia para investigação da DC. Em nenhum paciente desta casuística foi implantado desfibrilador definitivo, assim como nenhum deles se submeteu à cirurgia de transplante cardíaco. Um paciente apresentou acidente vascular cerebral (AVC), entretanto, por se tratar de um paciente com a FI, não houve correlação do episódio com complicações da cardiopatia chagásica. Três pacientes realizaram tratamento cirúrgico das formas digestivas, dois com megaesôfago e um com megacólon.

O tratamento etiológico contra *T. cruzi* foi realizado em 24 (35%) pacientes, sendo 18 com FI, quatro com FC/A e dois com FC/B. Todos iniciaram o tratamento com benzonidazol (BZN), sendo que 10 (42%) pacientes apresentaram algum efeito adverso e precisaram interromper o tratamento. As reações cutâneas foram as mais frequentes, estando presentes em oito (80%) casos. Outros efeitos observados foram: cefaleia em dois casos, turvação visual em um e febre em outro. Em quatro casos o BZN foi substituído pelo cetoconazol; três reiniciaram o uso do BZN em dose mais baixa e puderam completar o tratamento. Em outros dois casos, que apresentaram reações alérgicas mais graves, o tratamento foi descontinuado. Nesse grupo, dois pacientes abandonaram o seguimento, impossibilitando a conclusão do tratamento, sendo que um deles abandonou após ter apresentado reação alérgica e não retornou para continuar o tratamento. O tempo de uso do BZN variou de 16 a 180 dias, sendo que 20 pacientes utilizaram o medicamento por no mínimo 50 dias. Nenhum paciente submetido ao tratamento anti-*T. cruzi* apresentou negativação sorológica até o final da observação do presente estudo. Dos 24 pacientes tratados, 23 realizaram xenodiagnóstico, sendo que em 12 (52%) o resultado mostrou-se positivo. Nove pacientes repetiram o xenodiagnóstico após o tratamento e em todos houve negativação parasitológica.

Em relação à progressão da DC, oito pacientes apresentaram piora da classificação clínica inicial. Três pacientes com FI progrediram para FC, sendo que dois permaneceram na classe A até o final deste estudo e um apresentou progressão continuada passando para classe A, B1 e B2. Entre os pacientes que já apresentavam FC, cinco evoluíram com piora durante o acompanhamento, sendo caracterizado como progressão da DC. Um paciente classificado como FC/A apresentou bloqueio atrioventricular total (BAVT) necessitando de implante de MP de urgência. Outro paciente nesta classificação evoluiu com insuficiência cardíaca, sendo

reclassificado como classe C. Outro paciente classificado como FC/B, também apresentou piora da função cardíaca, sendo reclassificado como classe C. Outros dois pacientes que inicialmente haviam sido classificados como FC/C tiveram piora da função cardíaca, passando para a classe D (insuficiência cardíaca refratária ao tratamento). Podemos concluir que apenas 12% dos pacientes apresentaram progressão da DC no período de observação do estudo (25 anos). Entretanto, 18 pacientes abandonaram o acompanhamento e não puderam ser observados até o final do estudo. Caso fosse considerado somente os 51 pacientes que não abandonaram o tratamento, esta proporção subiria para 16%. Dos 39 pacientes classificados com a FI, três (8%) apresentaram progressão para FC, verificando-se uma proporção de progressão inferior a 1% dos casos/ano nos 25 anos de observação do estudo. Podemos afirmar que mais de 90% dos pacientes com a FI permaneceu nesta forma clínica durante o período estudado.

No tocante aos desfechos, 51 pacientes mantiveram o seguimento e 18 abandonaram o acompanhamento, caracterizado por mais de dois anos sem comparecer às consultas regulares. Dentre os 51 pacientes que mantiveram o seguimento, cinco evoluíram para o óbito. As causas de morte foram: insuficiência cardíaca, três casos; morte súbita, um caso; câncer do colo uterino, um caso. O grupo com maior número de óbitos foi o de casos autóctones, onde a forma cardíaca predominou.

7.2. Estudo ecoepidemiológico dos casos autóctones de doença de Chagas no estado do Rio de Janeiro

Após um minucioso trabalho de revisão de prontuários e estudo de cada caso, que abrangeu até o auxílio à lista telefônica pelo serviço *102 on line*, consultas às certidões de óbitos das mães dos pacientes, busca ativa nos endereços e entrevistas com familiares, concluiu-se que 15 pacientes do estudo adquiriram a DC no RJ de forma natural e, provavelmente, pela via vetorial. Nestes 15 casos não havia nenhum outro dado epidemiológico que gerasse dúvida sobre a forma de transmissão da doença. Todos os pacientes eram oriundos e tinham mães naturais do estado do Rio de Janeiro, negaram viagens ou moradia fora do estado e não tinham história de transfusões de hemoderivados e de recepção de órgãos.

Constatou-se que 13 casos ocorreram no centro-norte do RJ, englobando três regiões político-administrativas, porém, em municípios com fronteiras contíguas – São Sebastião do Alto, Santa Maria Madalena, na região Serrana; São Fidélis, Conceição de Macabu, Campos dos Goytacazes, Cardoso Moreira, São Francisco de Itabapoana, na região Norte Fluminense;

e Bom Jesus do Itabapoana, na região Noroeste Fluminense. O município de São Fidélis apresentou o maior número de casos (5), seguido de São Sebastião do Alto (2) e os demais com apenas uma ocorrência. Os outros dois casos ocorreram fora dessa região, sendo um originário de Itaboraí, na região Metropolitana e o outro de Resende, na região do Médio Paraíba (Figura 7.8).

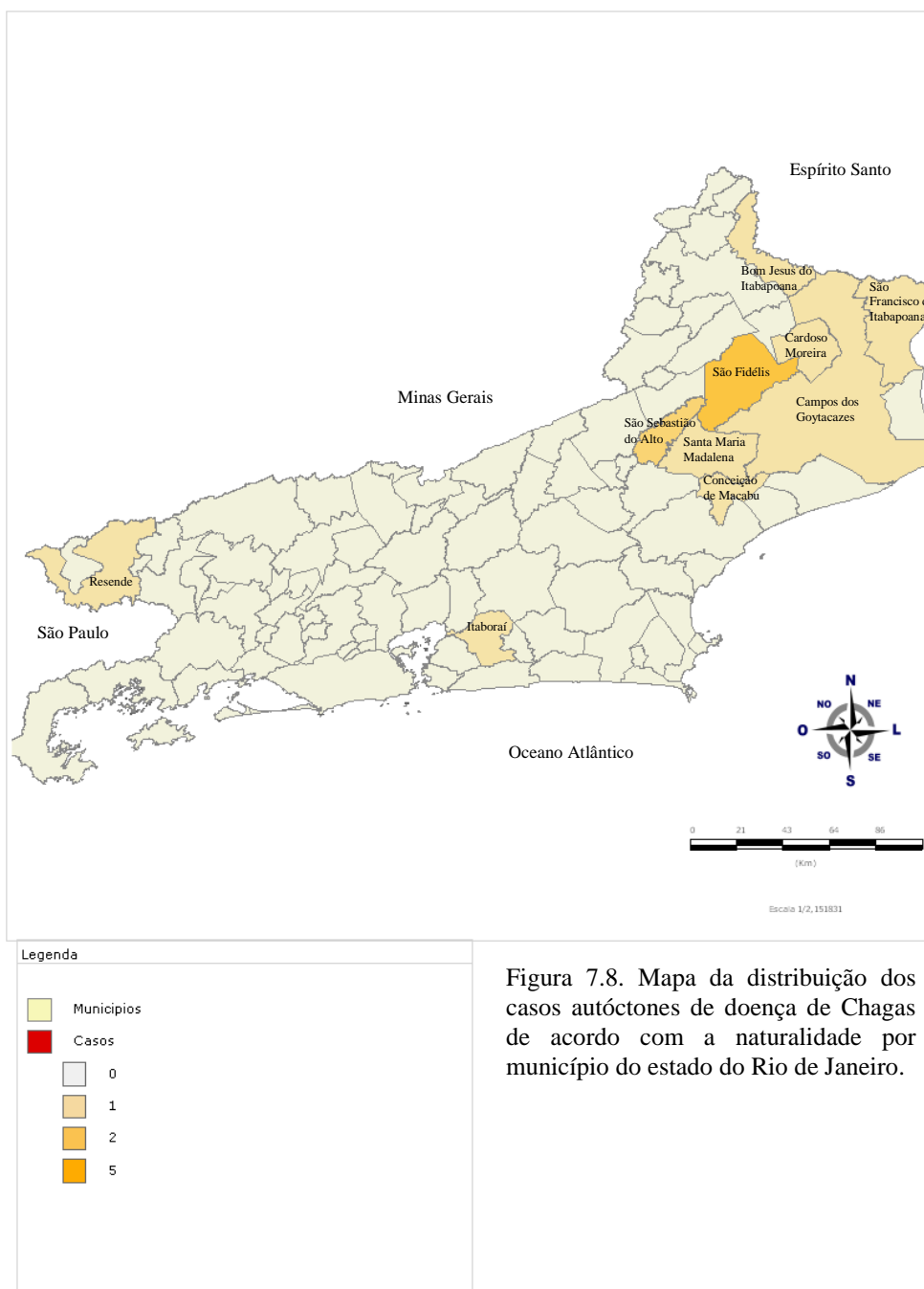


Figura 7.8. Mapa da distribuição dos casos autóctones de doença de Chagas de acordo com a naturalidade por município do estado do Rio de Janeiro.

Nota. Mapa elaborado através de recursos de Geoprocessamento utilizando o programa TerraView versão 4.2.1. Foram utilizadas as bases cartográficas (*shapes*) da malha municipal e estadual do IBGE: 1:250.000/Lat.Long/Sirgas 2000 (Sangenis LHC, Buzanovsky LP, Ribas JS).

7.2.1. Aspectos históricos, econômicos e ambientais do Norte Fluminense

Os municípios do norte do RJ possuem características históricas e econômicas comuns. Alguns apresentam colonização bem antiga que datam do século XVI logo após o descobrimento do Brasil e a divisão do território em capitânicas hereditárias, pertencendo à capitania de São Tomé, que compreendia o território do sul do Espírito Santo até a região de Cabo Frio, englobando a grande planície Goytacá (Baixada Campista) (Biazzo 2009). A extração de madeiras nobres e a cultura da cana-de-açúcar foram as primeiras atividades econômicas da região (Soffiati 2004). Após um início difícil, pela falta de recursos financeiros e inúmeros ataques de índios nativos da região (Goytacazes e Puris), a cultura da cana foi inicialmente abandonada, sendo implantada a criação de gado (Soffiati 2004; Biazzo 2009). Somente no século XVIII que o ciclo da cana-de-açúcar ganha força, impulsionando a colonização e o crescimento de toda a região (Biazzo 2009). Junto com o desenvolvimento, o desmatamento foi se intensificando e atingiu o ápice no início do século XX com o crescimento da cultura de café, particularmente na região Noroeste (Alentejano 2005). As atividades agrícolas que se desenvolveram no Norte e Noroeste Fluminense contribuíram não só para a supressão das matas nativas como também para a redução da biodiversidade faunística, agravada pela caça (Soffiati 2004).

A parte norte da Serra do Mar fluminense, limítrofe a região Norte e Noroeste, compreendendo os municípios de São Sebastião do Alto, Santa Maria Madalena e Trajano de Moraes tiveram sua colonização iniciada no final do século XVIII e início do XIX motivados pela procura de ouro no leito dos diversos rios que cortam a região e a cultura de café, além de suas terras servirem de rota de ligação entre as regiões de Cantagalo, na serra, e de Macaé, no litoral. No entanto, ambos firmaram-se historicamente como regiões de produção agrícola. A abertura da estrada de ferro do ramal Leopoldina, no século XIX, ajudou a consolidar o desenvolvimento desses municípios (IBGE 1948).

A região viveu seu apogeu econômico até o final do século XIX e na primeira metade do século XX, impulsionado pela produção sucroalcooleira e de café. Após esse período, ocorreu um processo de estagnação econômica e êxodo rural que se intensificou nos últimos 40 anos. Comparando-se dados censitários do IBGE de décadas passadas com os atuais, observa-se que alguns municípios perderam parte significativa de seus contingentes populacionais, caracterizando um crescimento negativo (IBGE 1948; Alentejano 2005; IBGE 2010b). Por outro lado, grande parte de seus habitantes ainda reside na área rural, sendo que em alguns municípios a população rural se iguala ou até supera a população urbana. A baixa

densidade demográfica também é uma característica comum entre os municípios da região (IBGE 2010b).

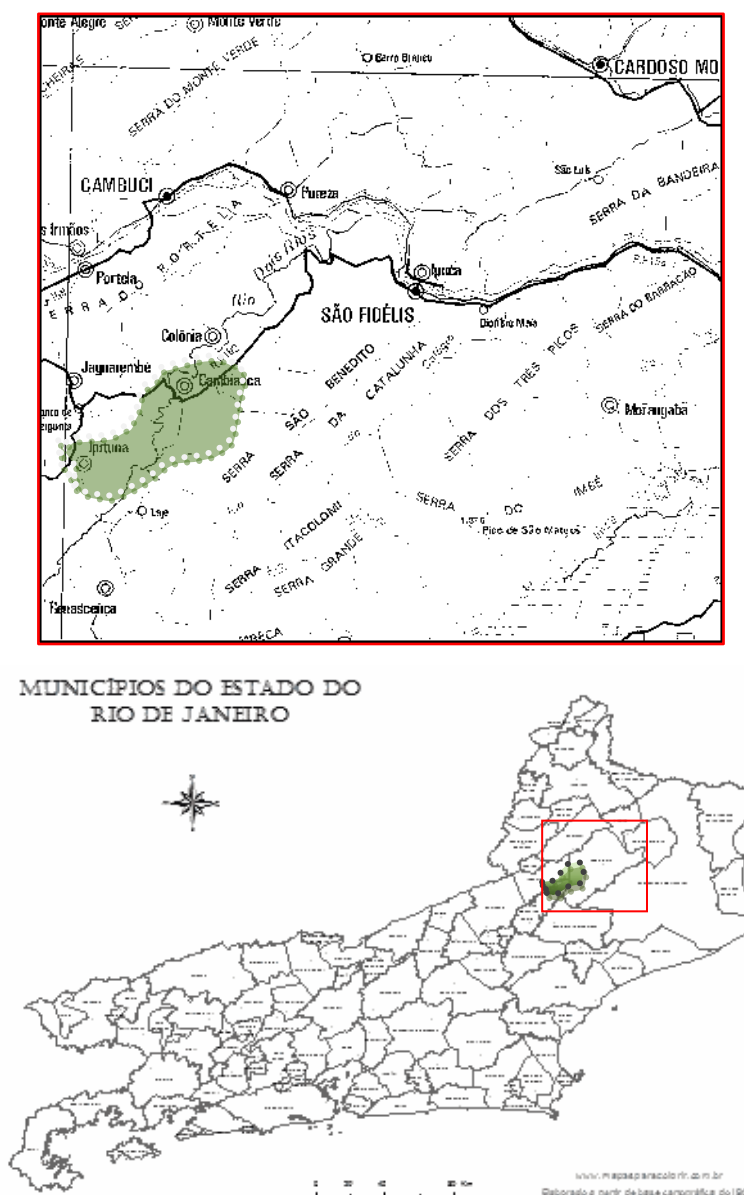
Os municípios da porção norte da região Serrana, da região Noroeste e parte dos municípios da região Norte Fluminense permanecem com suas economias atreladas a atividades agropecuárias (Alentejano 2005). Atualmente, as atividades mais importantes são a produção de cana, café, legumes, hortaliças, frutas e a pecuária leiteira (Alentejano 2005; Biazzo 2009). Em relação ao índice de desenvolvimento humano (IDH), apesar de apresentarem um índice médio, alguns municípios dessas regiões apresentam os mais baixos indicadores de desenvolvimento do estado (SEBRAE-RJ 2011). Apesar do grande crescimento econômico observado no Norte Fluminense relacionado à exploração de petróleo nas últimas décadas, a maior parte dos municípios da região pouco se beneficiou de melhorias estruturais que pudessem influir de forma positiva em seu desenvolvimento, particularmente naqueles mais interioranos como São Fidélis, Cardoso Moreira e Conceição de Macabu (Biazzo 2009).

A altitude da região apresenta grande variação, indo de 10 m no litoral de São Francisco de Itabapoana até acima de 1.000 m em algumas localidades serranas de Trajano de Moraes. O clima predominante é o tropical com verões quentes e chuvosos e invernos mais frios e secos. Os municípios localizados na parte setentrional da Serra do Mar (São Sebastião do Alto, Santa Maria Madalena e Trajano de Moraes) apresentam o clima tropical de altitude com maior intensidade de chuvas e temperaturas mais amenas. Os índices pluviométricos anuais no norte do RJ variam de 750 a 1250 mm. A temperatura média anual nos municípios da região gira em torno de 20 a 24°C (André et al. 2008; Wikipédia). A região possui relevo bastante diversificado, predominando a planície na baixada campista e o planalto nas áreas serranas. A bacia do Rio Paraíba do Sul é a mais importante da região, tendo como principais afluentes os rios Muriaé, Pomba e Dois Rios. Outros rios importantes da região são o Itabapoana, o Macabu, o Macaé e o Ururaí. As bacias hidrográficas da região sofrem com a destruição das matas ciliares, com o assoreamento dos seus leitos e com o despejo do esgoto doméstico e industrial (Dantas et al. 2005; AGEVAP 2011).

7.2.2. Investigação Ecoepidemiológica em áreas rurais do Norte Fluminense

Após uma viagem inicial, em abril de 2010, da equipe envolvida no projeto para o reconhecimento da região, percorremos várias localidades de municípios das regiões Serrana, Noroeste e Norte Fluminense (São Sebastião do Alto, Santa Maria Madalena, Itaocara, Santo Antônio de Pádua e São Fidélis). Elegemos duas regiões para estudo: as localidades de

Ipituna, no 2º distrito de São Sebastião do Alto e Cambiasca, no 5º distrito de São Fidélis (Figura 7.9). Os critérios para escolha foram: (1) localidades onde foram observados casos autóctones recentes de DC da casuística deste trabalho; (2) municípios onde havia vigilância ambiental estruturada com relato de capturas regulares de triatomíneos intradomiciliares; (3) presença de PACS ou ESF (Programa de Agentes Comunitários de Saúde ou Estratégia de Saúde da Família) atuante nas localidades; (4) municípios que apresentaram maior número de casos de DC.



Mapa 7.9. Mapa da área escolhida para investigação ecoepidemiológica, compreendendo as localidades de Ipituna em São Sebastião do Alto e de Cambiasca em São Fidélis, em verde.

7.2.2.1. Investigação em Ipituna e Cambiasca

Foram estudadas as localidades rurais de Guarani no bairro de Ipituna, localizado no distrito de Valão do Barro (2º distrito do município de São Sebastião do Alto), e as localidades de Boa Esperança e Valão dos Milagres, localizadas em Cambiasca (5º distrito de São Fidélis). A região está localizada a 240 km da capital do estado numa área de transição entre a região Serrana e as regiões Norte e Noroeste Fluminense com aproximadamente 200m de altitude e coordenadas $21^{\circ}45'18''\text{S} / 41^{\circ}58'12''\text{O}$ e $21^{\circ}43'23''\text{S} / 41^{\circ}52'28''\text{O}$. A região é cortada pelos rios Negro e Grande, que se unem em Cambiasca para formar o Rio Dois Rios, um dos principais afluentes do Rio Paraíba do Sul. A região apresenta-se bastante degradada com muitas pastagens e nichos de matas secundárias. Na parte alta dos morros notam-se fragmentos de Mata Atlântica (Figura 7.10).

A maior parte das moradias da área estudada é composta por pequenas propriedades rurais com características de agricultura familiar. A produção de legumes e de gado leiteiro são as principais atividades econômicas da região.



Figura 7.10. Paisagem característica da região estudada no município de São Fidélis, localidade de Boa Esperança, com áreas desmatadas, predomínio de pastagens e fragmentos de Mata Atlântica no topo dos morros. (Fonte: Sangenis, LHC.)

Em julho de 2010, foram visitados todos os domicílios cadastrados pela ESF, num total de 120 propriedades rurais na localidade de Guarani em Ipituna, distrito de Valão do Barro, município de São Sebastião do Alto. Em 106 (88,3%) domicílios foi possível contato com moradores para resposta do questionário e coleta de sangue da polpa digital em papel de filtro e posterior realização de sorologia para DC. As localidades do distrito de Cambiasca em São Fidélis (Boa Esperança e Valão dos Milagres) foram visitadas nos meses de novembro e dezembro de 2011, perfazendo o total de 139 casas (54% das casas cadastradas pelo PACS da região) e 170 amostras de sangue coletadas. As amostras de Cambiasca foram submetidas ao teste rápido (TR) para doença de Chagas pela técnica de imunocromatografia (DPP Chagas® - *BioManguinhos*) Das 245 casas visitadas, 39 (16%) eram de pau a pique, sendo que apenas 11 delas (29%) apresentavam paredes com reboco; 206 (84%) apresentavam paredes de tijolos, sendo que 35 (17%) também não tinham reboco (Figura 7.11). Em relação ao teto das moradias, 201 (82%) possuíam teto de telhas; 43 (17,5%) possuíam teto de laje e apenas uma (0,5%) tinha teto de madeira. Nenhum morador mencionou o uso de telas nas janelas. A criação de galinhas estava presente em 84% das propriedades, cão em 71%, bovinos em 62%, porcos em 42% e gato em 34%. Apenas 15 casas não possuíam nenhum animal doméstico. O consumo de carne de caça (gambá, tatu, preá e paca) foi referido por 78% dos moradores e de caldo de cana artesanal por 88%.



Figura 7.11. Casa de pau a pique no primeiro plano e ao fundo outra casa com paredes de tijolos sem reboco na localidade de Guarani, município de São Sebastião do Alto (Fonte: Sangenis, LHC.)

O conhecimento de barbeiros foi investigado através de um mostruário contendo dois espécimes adultos, um de *T. vitticeps* e outro de *T. infestans*, e duas ninfas de *T. infestans*. Cento e quarenta e dois moradores (35%) referiram já terem visto o inseto em seus domicílios o que correspondeu a 31% das casas visitadas. Em 50% dos domicílios e peridomicílios foi feita busca ativa de triatomíneos, tendo sido dada prioridade às moradias onde houve confirmação pelos moradores de invasão vetorial. Foram capturados 25 triatomíneos adultos da espécie *T. vitticeps* (7 machos e 18 fêmeas) em 20 casas. A pesquisa de tripanossomatídeos no exame direto das fezes foi positiva em apenas um triatomíneo (9%), dentre 11 examinados.

A idade dos voluntários variou de 2 a 90 anos. Foram colhidas 404 amostras de sangue através de punção da polpa digital. Em Guarani, foram colhidas 234 (74% dos moradores) amostras em papel de filtro (Klabin 80) e em Cambiasca, 170 (23% dos moradores) amostras para realização do teste rápido (DPP-Chagas). Após a coleta em Guarani, as amostras em papéis de filtro foram embaladas em sacos plásticos e encaminhadas para o Laboratório de Imunodiagnóstico do IPEC. As amostras foram eluídas e submetidas aos métodos de IFI (*BioManguinhos*[®]) e ELISA (*BIOZIMA*[®]) para detecção de IgG anti-*T. cruzi*. Apenas três amostras foram positivas (2 em papel de filtro e 1 pelo TR). As três amostras positivas pertenciam aos casos já conhecidos de DC das localidades estudadas, sendo que nenhum caso novo foi encontrado, conferindo uma prevalência de 0,74% entre os moradores pesquisados.

7.2.2.2. Estudo dos mamíferos silvestres capturados em Guarani

Armadilhas (modelo Tomahawk[®]) para captura de pequenos mamíferos silvestres foram colocadas por quatro noites consecutivas no peridomicílio e ecótopos silvestres próximos das habitações da localidade de Guarani. Foram coletados 34 pequenos mamíferos, sendo duas espécies de marsupiais (*Didelphis aurita* e *Philander frenatus*) e quatro de roedores (*Akodon cursor*, *Nectomys squamipes*, *Olygoryzomys nigripes* e *Rattus rattus*). A espécie com maior ocorrência foi *Akodon cursor* (24 espécimes). Dos 34 mamíferos capturados, três apresentaram exames positivos para infecção por *T. cruzi* (prevalência de 8,8%). Amostras de sangue dos animais capturados foram coletadas para realização de exame sorológico pelo método de IFI e hemocultivo para *T. cruzi*. A sorologia estava positiva em dois animais, sendo um roedor da espécie *Rattus rattus*, com titulação de 1:20 e um marsupial – *Didelphis aurita* – com titulação de 1:80. Um roedor da espécie *Akodon cursor* apresentou hemocultivo positivo (Figura 7.12). O isolado de *T. cruzi* foi caracterizado como do genótipo

I (TcI) através da PCR multiplex do gene do mini-exon. Os dois roedores positivos (um na IFI e outro no hemocultivo) foram capturados no peridomicílio dos casos humanos de DC residentes na localidade de Guarani em São Sebastião do Alto.

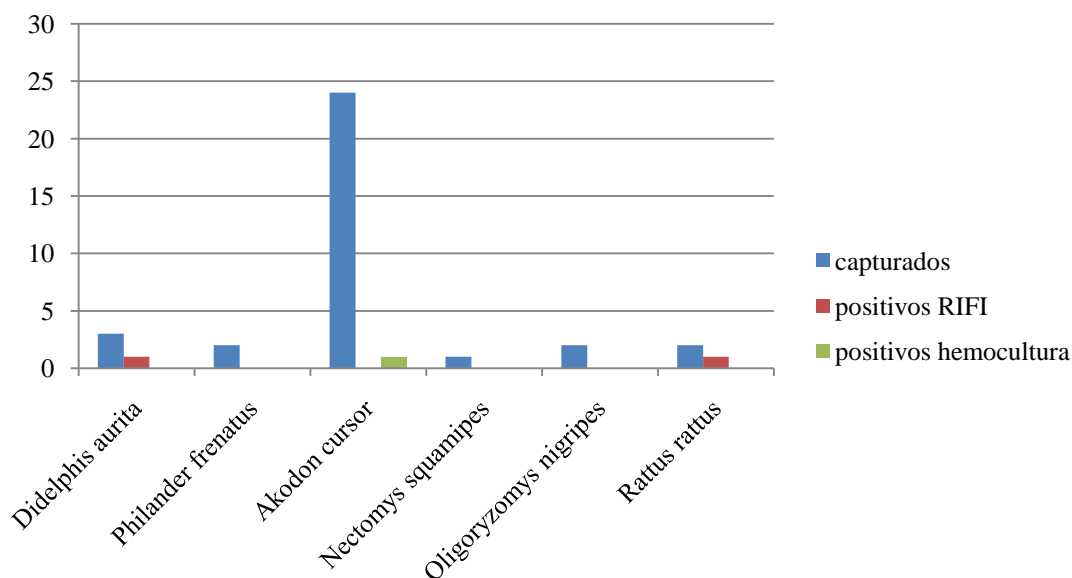


Figura 7.12: Espécies dos pequenos mamíferos capturados na localidade de Guarani, São Sebastião do Alto, e resultados da sorologia (RIFI) e hemocultivo para *T. cruzi*. (Fonte: Fernandes FA)

7.2.2.3. Estudo dos triatomíneos coletados nas localidades rurais do Norte Fluminense.

Foram coletados, de julho de 2010 a março de 2012, 49 triatomíneos em 39 casas de três municípios do centro-norte fluminense – 25 deles nas localidades onde o estudo eco-epidemiológico foi conduzido. Todos pertenciam à espécie *T. vitticeps* e foram coletados no intradomicílio (Figuras 7.13 e 7.14). A maior parte das coletas ocorreu entre os meses de novembro e abril. Houve predomínio do estágio adulto e de fêmeas (proporção de 2,8:1). A maior parte dos triatomíneos coletados apresentava-se seca, sem nenhum ou muito pouco conteúdo intestinal, o que dificultou a análise das fezes pela microscopia ótica. Além das coletas realizadas pela equipe envolvida neste estudo nas localidades investigadas, também foram coletados triatomíneos pela vigilância ambiental dos municípios de São Sebastião do Alto e São Fidélis em outras localidades e entregues a nossa equipe para análise. Dos 26 triatomíneos que tiveram as fezes analisadas através da microscopia ótica, três (11,5%) apresentaram tripanossomatídeos semelhantes a *T. cruzi*. E dos 11 triatomíneos que tiveram os intestinos submetidos à caracterização pela PCR multiplex do gene do mini-exon, oito

(73%) mostraram-se positivos para *T. cruzi* do genótipo I (Figura 7.15). Os dados a respeito dos triatomíneos coletados podem ser visualizados na Tabela 8.

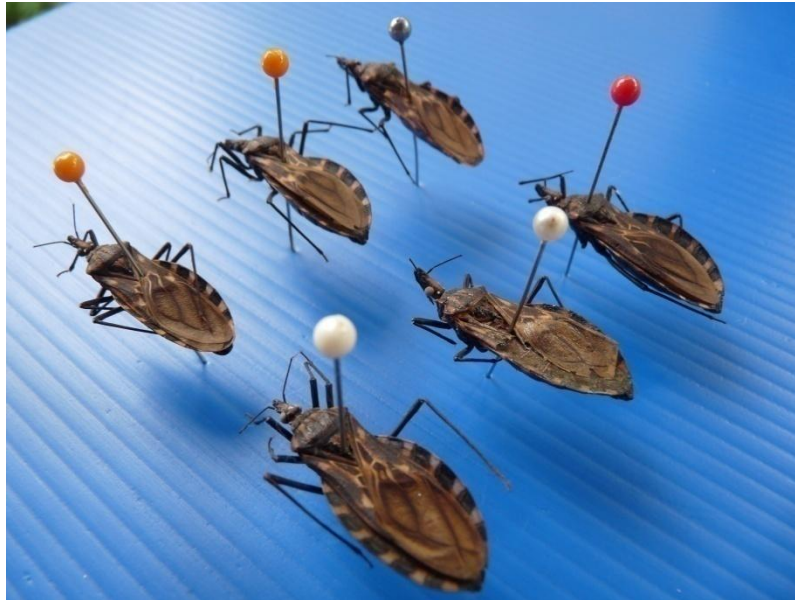


Figura 7.13. *T. vitticeps* coletados no intradomicílio de várias localidades de São Sebastião do Alto-RJ (Fonte: Sangenis, LHC.)



Figura 7.14. Fêmea de *T. vitticeps* coletada em uma casa na localidade de Triunfo em Santa Maria Madalena - RJ (Fonte: Sangenis, LHC.).

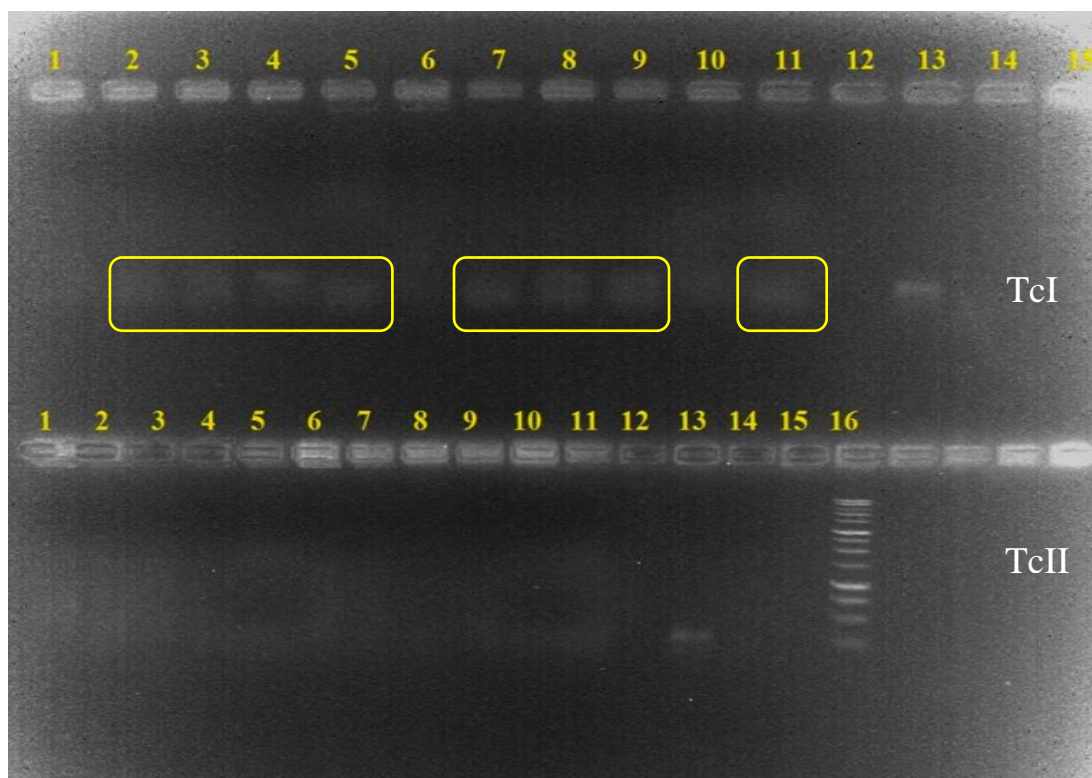


Figura 7.15. Gel de agarose do PCR multiplex do gene do mini-exon extraído do intestino de 11 *T. vitticeps* coletados nos municípios de São Sebastião do Alto e Santa Maria Madalena no norte do RJ apresentando marcações de bandas para TcI nos poços 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9 e 11. Poço 12 vazio e poço 13 controle positivo, TcI na fileira superior e TcII na fileira inferior e sem marcações.

Tabela 8. Distribuição dos dados dos triatomíneos da espécie *Triatoma vitticeps* coletados no intradomicílio de localidades de três municípios do norte do Rio de Janeiro. N=49

Localidade	Distrito	Município	Número de triatomíneos									
			Adultos	Ninfas	Machos	Fêmeas	Microscopia	Positivos	%	PCR	Positivos	%
Guarani	Valão do Barro	S. Sebast. Alto	8	-	3	5	5	-	-	4	3	75
Cabeceira	Valão do Barro	S. Sebast. Alto	2	-	-	2	1	-	-	1	-	-
Centro	S. Sebast. Alto	S. Sebast. Alto	6	-	2	4	3	-	-	2	2	100
Centro	Valão do Barro	S. Sebast. Alto	4	-	1	3	1	-	-	1	1	100
Valão dos Milagres	Cambiasca	São Fidélis	3	-	1	2	2	1	50	-	-	-
Boa Esperança	Cambiasca	São Fidélis	13	-	2	6	4	-	-	-	-	-
São Tomé	Cambiasca	São Fidélis	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Grumarim	São Fidélis	São Fidélis	1	-	-	1	1	1	100	-	-	-
Retiro Saudoso	Colônia	São Fidélis	1	6	-	1	7	1	14,3	-	-	-
Colégio de Cima	Colônia	São Fidélis	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Triunfo	Triunfo	S.M.Madalena	3	-	1	2	2	-	-	3	2	66
Total			42	7	11	31	26	3	11,5	11	8	73

Nota. Alguns dados de São Fidélis foram cedidos pela vigilância ambiental do município

7.2.2.4. Investigação epidemiológica em outros locais de naturalidade dos casos autóctones fora da área eleita.

Além das localidades de Valão do Barro (Guarani) e Cambiasca (Valão dos Milagres), foram visitadas as localidades de naturalidade de outros seis pacientes do grupo autóctone. A maioria dos pacientes já não residia mais nesses locais, tendo migrado para a região metropolitana do RJ ainda jovens. Os casos naturais de Bom Jesus do Itabapoana, Resende, São Francisco de Itabapoana e um de São Fidélis relataram não ter mais contato com nenhum parente desses locais e não sabiam informar nomes de possíveis familiares e vizinhos. Com isso, somente as localidades de Triunfo em Santa Maria Madalena, Sambaetiba em Itaboraí, Colônia e Centro em São Fidélis, Boa Esperança em Cardoso Moreira e Piteira em Conceição de Macabu foram visitadas para busca de novos casos em parentes, vizinhos e coleta de vetores. Em Triunfo foram coletados três triatomíneos da espécie *T. vitticeps* em casas de vizinhos da família do caso. Ao todo foram realizados 33 testes rápidos (DPP Chagas ®) em vizinhos e parentes dos casos avaliados, mas nenhuma amostra mostrou-se positiva para DC. Não foi possível localizar parentes do caso natural de Campos dos Goytacazes.

7.3. Relatos dos casos de doença de chagas autóctones do estado do Rio de Janeiro

Dos 69 pacientes naturais do RJ com DC, 15 foram classificados como autóctones e, provavelmente, adquiriram a doença por via vetorial ou por via oral de forma acidental. Todos apresentaram características epidemiológicas comuns, a saber: (1) oriundos de áreas rurais do estado; (2) habitaram em casas de pau a pique; (3) um número significativo tinha conhecimento prévio do barbeiro; (4) referiram o consumo de carne de caça de mamíferos silvestres e de caldo de cana artesanal; (5) comportamento migratório para grandes cidades em busca de melhores condições de vida. Confrontando-se o perfil epidemiológico dos pacientes do RJ com de outras regiões tradicionalmente endêmicas de DC, como o norte de Minas Gerais e o sertão nordestino, nota-se um padrão semelhante (Brasil 2012, dados não publicados).

A ordem dos relatos obedeceu à cronologia dos cadastros dos pacientes no IPEC. Primeiro foram descritos os casos mais antigos e por último, o caso de DC mais recente. Foi considerada a idade que o paciente tinha na data de abertura do cadastro no IPEC. Nenhum paciente tinha histórico de viagens e moradia fora do estado do Rio de Janeiro, bem como todos negaram recepção de sangue e de órgãos. Os métodos sorológicos utilizados para o diagnóstico da DC foram a Imunofluorescência Indireta (IFI) e o Ensaio Imunoenzimático

(ELISA). O eletrocardiograma (ECG) foi feito com 12 derivações e D2 longo. Foi utilizado o ecocardiograma (ECO) bidimensional. O cálculo da fração de ejeção (FE) foi estimado pelo método de Teicholz (Teicholz & Kreulen 1976). A radiografia do tórax foi realizada em duas incidências (PA e perfil) com esôfago contrastado. Somente quatro pacientes necessitaram de avaliação por endoscopia digestiva alta (EDA). Por se tratar de um estudo descritivo de revisão de prontuários, onde houve registro de três óbitos e um abandono antes do início deste estudo, exames de xenodiagnóstico não puderam ser realizados em três pacientes e hemocultivo e PCR para *T. cruzi* em quatro. Como nenhum paciente deste grupo queixou-se de constipação por mais de seis dias, não foi realizado exames de imagem dos cólons. Os dados dos pacientes autóctones, municípios de naturalidade, classificação clínica inicial da DC e resultados dos exames laboratoriais encontram-se listados na Tabela 9.

Caso 1

JFF, sexo masculino, 34 anos, branco, casado, taxista, natural de Conceição de Macabu. Foi encaminhado para o IPEC pelo cardiologista particular em 1987. Dois anos antes apresentou episódios de dispneia e tonturas, quando foi diagnosticado bradicardia grave e bloqueio atrioventricular (BAV). Implantado MP definitivo no mesmo ano. Na história epidemiológica, relato de ter nascido na área rural de Conceição de Macabu e residido em casa de pau a pique até os 16 anos de idade, quando se mudou para o Rio de Janeiro. Mãe também natural de Conceição de Macabu, tendo sido investigada para DC na ocasião do diagnóstico do filho, mas com sorologia negativa. Negou conhecimento de barbeiros no domicílio. Relato de consumo de mamíferos silvestres na infância (tatu e gambá) e de caldo de cana artesanal. Sorologia para DC com título de 1/320 na IFI e 1/640 no ELISA, na admissão. Xenodiagnóstico negativo. PCR não realizada. ECG com ritmo de marcapasso e extrassístoles ventriculares isoladas. Radiografia do tórax com área cardíaca normal. Manteve-se estável até 1998, quando passou a queixar de dispneia progressiva aos esforços. Realizado ECO que demonstrou disfunção sistólica moderada, com FE de 45% e hipocinesia difusa das paredes do VE. Iniciado captopril em dose baixa com relativa melhora. Paciente com diagnóstico de depressão com indicação de tratamento psicoterápico. Em 2004, houve piora da dispneia e voltou a queixar de tonturas. O ECG mantinha o padrão do ritmo de marcapasso e extrassístoles. ECO com piora da função ventricular e hipocinesia difusa do VE. FE de 35% (disfunção sistólica grave). Aumentada dose de captopril, iniciado varfarina e diurético. Em 20 de dezembro de 2004 evoluiu para óbito subitamente quando nadava numa piscina, aos 51 anos.

Caso 2

APB, sexo masculino, 40 anos, branco, casado, técnico em química, natural de São Fidélis. Descobriu ser portador da DC após rastreamento sorológico em banco de sangue em 1989, quando foi encaminhado para o IPEC para confirmação da doença. Queixava-se há meses de palpitações, tonturas e dispneia paroxística noturna. Na história epidemiológica relatou ter nascido na localidade de Água Preta, na área rural de São Fidélis e residido em casa de pau a pique até os 18 anos de idade. Tinha o hábito de caçar e comer animais silvestres (tatu, preá e gambá) e beber caldo de cana artesanal. Conhecia o barbeiro e os via no domicílio. Com 18 anos mudou-se para o Rio de Janeiro, vindo a se radicar no município de Nilópolis. Mãe natural de São Fidélis e com sorologia para DC negativa. Sorologia para DC com título de 1/640 na IFI e 1/1280 no ELISA. Não foram realizados xenodiagnóstico e PCR. Radiografia do tórax com cardiomegalia. ECG, na admissão, com BRD completo, HBAE e extrassístoles supraventriculares e ventriculares monomórficas (Figura 7.16). O ECO inicial revelou aumento do AE, hipocinesia difusa, disfunção sistólica e diastólica graves com FE de 35%. No ano de 2000 houve piora da arritmia com extrassístoles em salvas e baixo débito cardíaco, demandando implante de MP intratorácico. A doença cardíaca continuou a evoluir com piora da função sistólica, aumento das câmaras cardíacas, hipocinesia das paredes do VE e queda da FE. Fez uso de furosemida, espirolactona, enalapril e carvedilol com pouca melhora. Passou por várias internações, vindo a falecer aos 51 anos em 31/03/2001 de insuficiência cardíaca em sua última internação no IPEC.

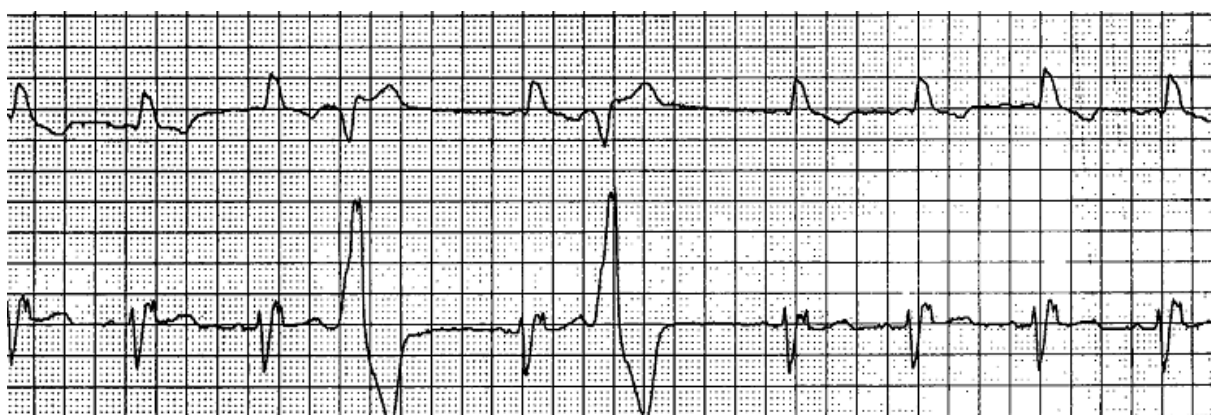


Figura 7.16. ECG do caso 2, APB, com BRD completo e extrassístoles supraventriculares e ventriculares monomórficas.

Caso 3

BO, sexo masculino, 48 anos, pardo, casado, técnico de telefonia, natural de Resende, tendo nascido no distrito de Engenheiro Passos em 1944. Descobriu a DC após apresentar

rastreamento sorológico positivo em banco de sangue aos 47 anos. Em abril de 1993 foi cadastrado no IPEC para acompanhamento. Não queixava de nenhum sintoma relativo à DC. Na história epidemiológica relatou ter residido em casa de pau a pique até os oito anos de idade. Conhecia o barbeiro e os via frequentemente nas paredes do domicílio, já tendo sido picado. Sua mãe era natural também de Resende e faleceu aos 78 anos de causas naturais. A condição sorológica materna para DC era desconhecida. Relatou possuir um irmão portador de DC, que atualmente reside em Minas Gerais. Referiu o consumo de animais silvestres (tatu e paca) na infância e consumo de caldo de cana artesanal. Diagnóstico secundário de hipertensão arterial sistêmica, fazendo uso regular de captopril. Sorologia para DC com título de 1/640 na IFI e de 1/1280 no ELISA. O xenodiagnóstico e os exames de PCR foram negativos. Radiografia do tórax normal. O ECG revelou BRD completo e HBAE (Figura 7.17). O ECO demonstrou função sistólica e diastólica dentro dos parâmetros normais e FE de 75%. Atualmente com 68 anos em acompanhamento regular no IPEC com a doença estabilizada.

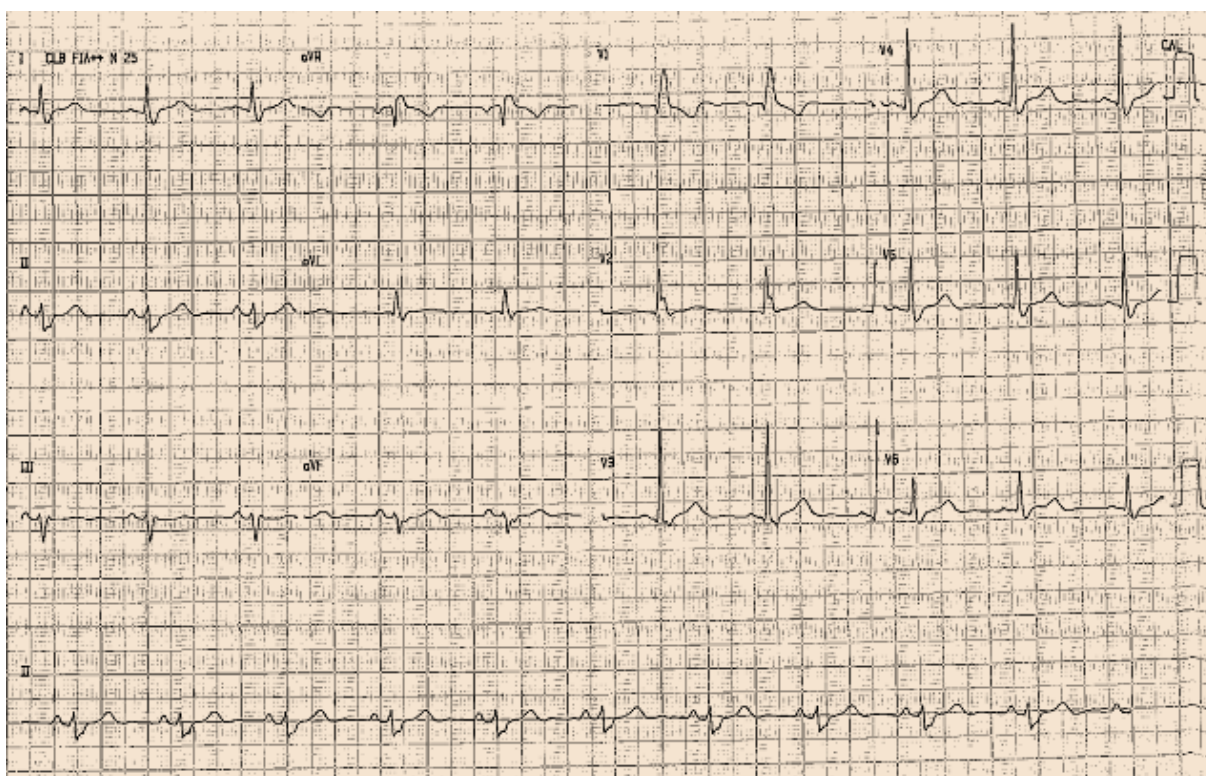


Figura 7.17. ECG do caso 3, BO, com BRD completo e HBAE

Caso 4

JRSA, sexo feminino, 65 anos, branca, viúva, costureira aposentada, natural de São Fidélis. Como apresentava várias alterações eletrocardiográficas sugestivas de DC, seu cardiologista solicitou a sorologia em 1992 e a encaminhou para o IPEC. Em junho de 1993 foi cadastrada para acompanhamento no IPEC com o diagnóstico de DC. Na história epidemiológica, relato de ter nascido na área rural de São Fidélis e ter residido em casa de pau a pique até os 25 anos de idade. Quando jovem alimentou-se de animais silvestres (tatu e gambá) e caldo de cana artesanal. Conhecimento prévio de barbeiros ignorado. Mãe da paciente natural de São Fidélis e já falecida na ocasião do cadastro, com sorologia desconhecida para DC. Morou um período na área rural de Campos e mudou-se posteriormente para o distrito de Papucaia em Cachoeiras de Macacu. Queixava-se de palpitações, tonturas e episódio de síncope. Sorologia na admissão: IFI 1/320 e ELISA 1/640. Os exames de xenodiagnóstico e PCR não foram realizados. Radiografia do tórax com área cardíaca normal. ECG com BRD completo, HBAE, extrassístoles supraventriculares, bigeminismo e intervalo P-R no limite superior da normalidade. Presença de hipertensão arterial associada. Foi medicada com captopril, hidroclorotiazida e amiodarona, evoluindo com melhora. No ECO, a função sistólica estava preservada com FE de 60%. Presença de disfunção diastólica grau I e alterações degenerativas mitroaórticas com insuficiência valvular leve. Holter de 24 horas realizado em 1993 demonstrou alta incidência de BAV de 2º grau Mobitz I e períodos de baixa incidência de BAV de 2º grau Mobitz II. Em 2001 foi diagnosticado câncer do colo uterino em estágio avançado. Chegou a ser acompanhada no Hospital Mario Kröeff. Sua última consulta no IPEC foi em setembro de 2002. Faleceu em decorrência de complicações do câncer no ano de 2003 aos 75 anos de idade.

Caso 5

JBB, sexo masculino, 49 anos, branco, casado, barbeiro, natural de Cardoso Moreira (antigo distrito de Campos, emancipado em 1989). Em 1993 após rastreamento sorológico positivo em banco de sangue, foi encaminhado ao IPEC, tendo sido cadastrado no mesmo ano. Relatou ter morado na área rural de Cardoso Moreira em casa de pau a pique até os 20 anos de idade. Alimentou-se de carne de caça (tatu e gambá) e caldo de cana artesanal na mesma época. Negou conhecer o barbeiro. Mãe natural de São Fidélis e portadora de cardiopatia chagásica, vindo a falecer no Hospital Universitário Pedro Ernesto em 1988 de insuficiência cardíaca. Na admissão, queixava-se de palpitações. Presença de hipertensão arterial. Sorologia para DC com título de 1/320 na IFI e ELISA 1/640. Xenodiagnóstico e exames de PCR com resultados negativos. Radiografia do tórax e ECG sem anormalidades. Em 1993, o ECO revelou

presença de persistência do canal arterial (PCA), mas sem repercussões funcionais. Função sistólica e diastólica preservadas com FE de 62%. Ausência de hipertensão da artéria pulmonar. Em 2009, apresentou episódio de pneumonia bacteriana e derrame pleural, necessitando internação no IPEC. ECO realizado em 2010 demonstrou piora da função sistólica com FE de 49%, aumento das câmaras cardíacas, presença do PCA, hipocinesia difusa, mais acentuada em parede inferior e disfunção diastólica grau I. Medicado com enalapril, carvedilol e furosemida. Atualmente com 66 anos, em acompanhamento regular nas especialidades de cardiologia e infectologia.

Caso 6

FM, sexo masculino, 46 anos, pardo, casado, vigilante, natural de Triunfo, Santa Maria Madalena. Descobriu a DC após rastreamento sorológico positivo em banco de sangue. Cadastrado no IPEC em abril de 1995. Na história epidemiológica relatou ter nascido no distrito de Triunfo, área rural de Santa Maria Madalena, onde residiu em casa de pau a pique até os 19 anos de idade. Atualmente reside em Belford Roxo, na baixada fluminense. Mãe do paciente também natural de Triunfo e condição sorológica para DC desconhecida. Tinha o hábito de caçar e comer animais silvestres (tatu, gambá e paca), além de consumir caldo de cana artesanal. Relatou conhecer o barbeiro e os via dentro de casa, quando morava em Triunfo. Sorologia para DC com título de 1/320 na IFI e ELISA 1/320. Xenodiagnóstico negativo. Os exames de PCR foram negativos para *T. cruzi*. Radiografia do tórax com laudo normal. O ECG revelou BRD de 2º grau e HBAE. No ECO a FE foi calculada em 66% e a função sistólica e diastólica estavam preservadas. Em 2002 foi diagnosticado HAS. Atualmente com 63 anos, encontra-se com a doença estabilizada. Está em acompanhamento regular no IPEC em uso de captopril, propranolol e hidroclorotiazida

Caso 7

NBC, sexo masculino, 55 anos, pardo, casado, auxiliar de serviços gerais, natural de Bom Jesus do Itabapoana. Descobriu a DC após rastreamento sorológico positivo em banco de sangue em 1997. Foi encaminhado para o IPEC, sendo cadastrado em março de 1998. Nasceu no distrito de Carabuçu, em Bom Jesus do Itabapoana, no ano de 1942. Morou em casa de pau a pique na área rural até os 14 anos. Comia carne de caça de mamíferos silvestres (tatu e paca) e bebia caldo de cana artesanal. Relatou que sua mãe era natural da mesma localidade. Referiu não se lembrar da presença de barbeiros no domicílio. Mudou-se para o Rio de Janeiro com a família em 1957 e, atualmente, mora em Belford Roxo, na Baixada Fluminense. Ausência de sintomas clínicos das formas crônicas de DC. Constatou-se

hipertensão arterial e diabetes mellitus. Prescrito captopril, hidroclorotiazida e metformina. Sorologia para DC com título de 1/640 na IFI e ELISA com índice de reatividade (IR) de 5,0. Xenodiagnóstico negativo. A PCR pela técnica de amplificação do k-DNA revelou resultado positivo para *T. cruzi*. ECG com BRE e desvio do eixo elétrico para esquerda. ECO sem anormalidades e FE de 75% e radiografia do tórax normal. Em 2004, apresentou arritmia cardíaca com extrassístoles ventriculares frequentes, com boa resposta ao tratamento clínico. Em 2011, passou a apresentar febre vespertina, tosse e perda de peso, sendo diagnosticada tuberculose pulmonar sensível as drogas habituais. Mantém acompanhamento e tratamento regular no IPEC.

Caso 8

BPB, sexo masculino, 57 anos, pardo, casado, pedreiro, natural de São Fidélis – irmão do paciente APB (caso 2). Devido à doença do irmão, resolveu realizar sorologia para DC no IPEC, sendo cadastrado em setembro de 2000. Nasceu na localidade de Araponga, área rural de São Fidélis. Morou em casa de pau a pique até os 24 anos. Caçava e consumia animais silvestres, como tatu, gambá, preá, preguiça, ouriço-cacheiro e lagarto. Bebia regularmente caldo de cana artesanal e raramente suco de açaí da palmeira juçara. Referiu conhecer o barbeiro e os via dentro do domicílio. Aos 24 anos mudou-se para Nilópolis, na região Metropolitana. Mãe natural de São Fidélis com teste sorológico negativo para DC e falecida em 2005, aos 91 anos. Hipertensão arterial e diabetes mellitus associadas. Referia disfagia para alimentos sólidos na admissão. Sorologia para DC com título de 1/640 na IFI e ELISA com IR de 4,4. O xenodiagnóstico foi positivo. Os exames de PCR foram negativos. A radiografia do tórax com esôfago contrastado demonstrou dilatação do esôfago e área cardíaca normal. ECG com BRD completo. ECO com FE de 76% e sem anormalidades. A endoscopia digestiva alta (EDA) revelou megaesôfago grau III. Em 2001, foi submetido à dilatação endoscópica do esfíncter esôfago-gástrico, evoluindo com melhora da disfagia. Atualmente, mantém acompanhamento e uso regular de captopril, bromoprida, metformina e glibenclamida.

Caso 9

JCR, sexo masculino, 33 anos, pardo, casado, inspetor de trânsito, natural de São Fidélis. Descobriu a doença após rastreamento sorológico positivo em banco de sangue em 2001, sendo cadastrado em outubro do mesmo ano no IPEC. Na história epidemiológica relatou ter morado na área rural de São Fidélis em casa de pau a pique nos primeiros anos de vida. Consumiu carne de animais silvestres (tatu e gambá) e caldo de cana artesanal. Por ser muito

pequeno, não se lembrava de barbeiros no domicílio. Mãe natural de São Fidélis, tendo sido investigada para DC em 2002 no IPEC, apresentando sorologia com resultado negativo. Não queixava de nenhum sintoma das formas crônicas da DC. Mudou-se ainda criança para Nova Iguaçu e atualmente reside em Queimados, na Baixada Fluminense. Sorologia com título de 1/320 na IFI e IR de 5,7 no ELISA. Xenodiagnóstico e exames de PCR negativos para *T. cruzi*. Radiografia do tórax sem anormalidades. ECG com desvio do eixo elétrico para esquerda e alterações da repolarização ventricular. ECO com hipocinesia difusa, disfunção sistólica leve, FE de 53% e VE aumentado de volume. Iniciado captopril em dose baixa. Após alguns anos de abandono, retornou em 2011 para retomar seu acompanhamento. Atualmente, encontra-se com a doença estabilizada.

Caso 10

JLNS, sexo masculino, 41 anos, branco, casado, agricultor, natural de São Fidélis. Em 2004, após encontrar vários triatomíneos em seu domicílio na localidade de Valão dos Milagres em São Fidélis, foi encaminhado para o IPEC para investigação de DC. Os testes sorológicos foram positivos, sendo cadastrado em outubro de 2004. Na história epidemiológica referiu ser natural de Valão dos Milagres, distrito de Cambiasca, área rural de São Fidélis. Reside até hoje na localidade. Trabalha na agricultura e cuida do gado da fazenda do patrão. Relatou já ter consumido animais silvestres (tatu e lagarto) e caldo de cana artesanal. Mãe natural da mesma região, mas não testada para a doença. Negou sintomas das formas crônicas da DC. Sorologia com título de 1/40 na IFI e ELISA com IR de 2,0. Xenodiagnóstico e PCR com resultados negativos. Radiografia do tórax normal. ECG com traçado normal e ECO com FE de 68% função sistólica e diastólica normais. Atualmente mantém-se assintomático e em acompanhamento anual regular.

Caso 11

PRGS, sexo masculino, 50 anos, pardo, divorciado, catador de material reciclável, natural de Campos dos Goytacazes. Mudou-se para Duque de Caxias em 1971. Em 2004, foi encaminhado para o IPEC pelo médico gastroenterologista para investigação de DC. Na admissão, queixava de disfagia há 12 anos e agravamento nos últimos meses. Referiu ter nascido e morado na área rural de Campos por 18 anos em casa de pau a pique, já tendo consumido carne de animais silvestres (tatu e gambá) e caldo de cana artesanal. Negou o conhecimento de barbeiros. Mãe natural de Campos e não testada para DC. Sorologia com título de 1/40 na IFI e ELISA com IR de 1,5. Xenodiagnóstico e PCR não realizados. EDA revelou megaesôfago grau III e acalásia. ECG com traçado normal. ECO não realizado. No

ano de 2005, após seis consultas no IPEC, abandonou o acompanhamento, voltando a se tratar no serviço de gastroenterologia do hospital de origem.

Caso 12

SSS, sexo masculino, 24 anos, preto, solteiro, caseiro, natural de Itaboraí. Descobriu a DC após rastreamento sorológico positivo em banco de sangue no ano de 2006, sendo cadastrado no IPEC em janeiro de 2007. Na história epidemiológica, relatou ter nascido no distrito de Sambaetiba, área rural de Itaboraí. Morou em casa de pau a pique até os 12 anos de idade. Comia frequentemente carne de gambá que sua mãe caçava e preparava. Consumiu caldo de cana artesanal e açaí da palmeira juçara. Negou conhecer o barbeiro. Mãe natural da mesma região e com teste sorológico para DC negativo, assim como seu pai e seus três irmãos. Sorologia com título de 1/80 na IFI e ELISA com IR de 4,1. Xenodiagnóstico negativo. Os exames de PCR foram positivos pelas duas técnicas empregadas, amplificação do k-DNA e multiplex do gene do mini-exon, demonstrando infecção mista para TcI e TcVI na caracterização pela técnica da PCR-RFLP (Figuras 7.18 e 7.19). Radiografia do tórax com área cardíaca normal. ECG com traçado normal. ECO com FE de 65%, área cardíaca normal e função sistólica preservada. De abril a junho de 2007 foi tratado por 60 dias com BZN na dose de 300mg/dia. Não apresentou efeitos adversos. Importante ressaltar que a PCR mostrou-se positiva mesmo após quatro anos do tratamento com BZN. Atualmente, mantém-se com sorologia para DC positiva, assintomático e em acompanhamento regular.

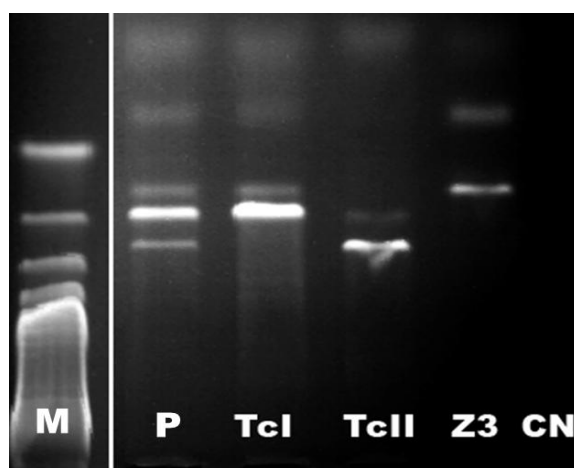


Figura 7.18. Caracterização molecular de DNA de *T. cruzi* extraído de amostra de soro de paciente portador de doença de Chagas. PCR multiplex do gene de miniexon, P- paciente SSS com infecção mista TcI+TcII/TcV/TcVI; controles positivos: TcI, TcII(TcII/TcV/TcVI) e Z3 (TcIII/TcIV); CN-controle negativo.

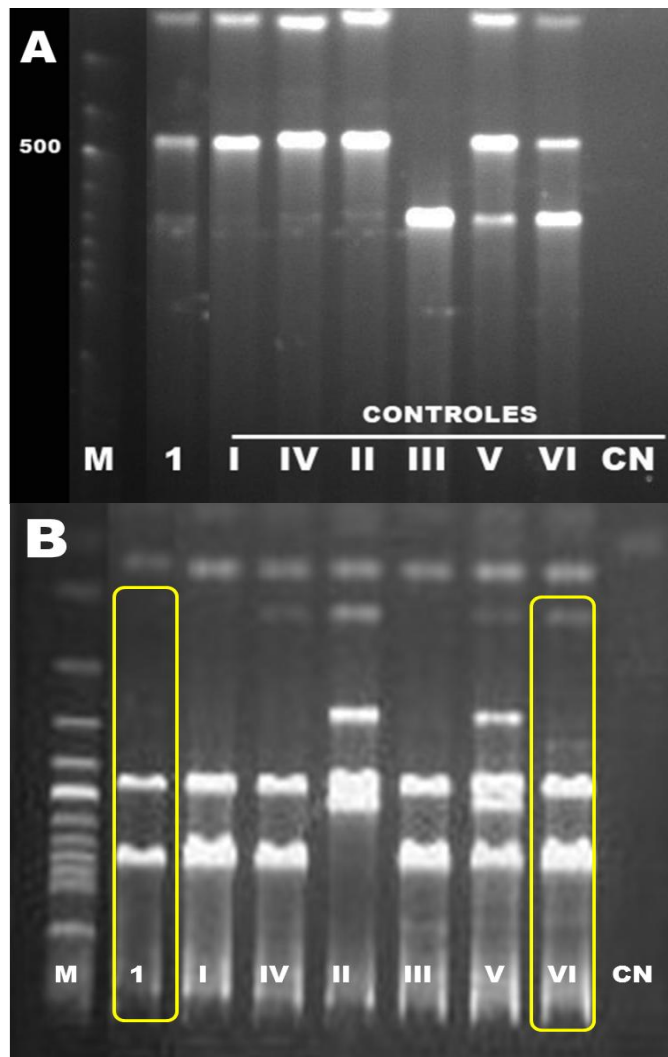


Figura 7.19. Esquema para genotipagem de infecção mista de DTU's TcI+TcII/TcV/TcVI de *T. cruzi* pela técnica de PCR- RFLP. **A**- Perfil de fragmentos dos produtos de PCR do gene H3 após digestão com enzima de restrição AluI, 1-Paciente SSS; controles positivos de *T. cruzi* I-VI, CN-controle negativo da reação. **B**-Perfil de fragmentos dos produtos de PCR do gene gp72 após digestão com enzima de restrição TaqI, 1-Paciente SSS; controles positivos de *T. cruzi* I-VI, CN-controle negativo da reação. M-peso molecular 100 pb.

Caso 13

GCSM, sexo feminino, branca, 15 anos, solteira, estudante, natural de São Sebastião do Alto. Descobriu a doença após doação de medula óssea para o irmão mais novo, que se encontrava em tratamento de leucemia, sendo cadastrada no IPEC em outubro de 2007. Na história epidemiológica, referiu morar na localidade de Guarani, área rural de São Sebastião do Alto, onde nasceu em 1992. Morou em casa de pau a pique até os 13 anos de idade. Relatou ter consumido carne de gambá e tatu caçados na região, assim como caldo de cana artesanal. Conhecia o barbeiro e os via ocasionalmente dentro do domicílio, já tendo sido picada. Mãe natural da mesma localidade, tendo apresentado teste positivo para DC na mesma ocasião. Negou sintomas das formas crônicas de DC. Sorologia para DC com título de 1/160 na IFI e ELISA com IR de 6,2. Xenodiagnóstico negativo. PCR pela amplificação do k-DNA positiva.

Radiografia do tórax normal. ECG com traçado normal. ECO com FE de 67%, área cardíaca normal, função sistólica e diastólica normais. Foi instituído tratamento com BZN, o qual interrompeu no 15º dia devido à intensa reação alérgica dermatológica. Após a melhora do efeito adverso, foi prescrito Cetoconazol, tendo tomado por 60 dias. Atualmente, mantém-se assintomática, com sorologia para DC positiva e acompanhamento ambulatorial regular.

Caso 14

ACS, sexo feminino, branca, 34 anos, casada, dona de casa, natural de São Sebastião do Alto. Foi investigada devido à doença da filha GCSM (caso 13), sendo cadastrada no IPEC em abril de 2008. Relatou ter sempre morado na localidade de Guarani, em São Sebastião do Alto, assim como sua mãe. Habitou em casa de pau a pique até os 33 anos de idade. Conhecia o barbeiro e os via no domicílio. Mencionou já ter se alimentado de animais silvestres caçados na região (gambá, tatu, lagarto) e ingerido caldo da cana plantada em sua propriedade. Na consulta de admissão estava assintomática e com exame clínico normal. Sorologia para DC com título de 1/160 na IFI e IR de 6,4 no ELISA. Radiografia do tórax com contraste sem alterações. ECG com traçado normal e ECO com FE de 68%, diâmetro cardíaco e função sistólica normais. Xenodiagnóstico negativo. O exame de PCR foi positivo pela técnica de amplificação do k-DNA. Não foi realizado tratamento parasitológico porque a paciente alegou dificuldade de deslocamento da sua casa até o IPEC durante os meses de uso do BDN. Mantém-se assintomática e em acompanhamento regular anualmente.

Caso 15

ASF, sexo masculino, branco, 68 anos, divorciado, vendedor, natural de São Francisco de Itabapoana. No ano de 2009, foi matriculado no IPEC para tratamento de paracoccidiodomicose. Como a radiografia do tórax havia revelado cardiomegalia e possuía história epidemiológica comum a outros casos de DC do RJ observados neste estudo, foi solicitada a sorologia. Na história epidemiológica, relatou ter nascido na área rural de São Francisco de Itabapoana, onde residiu em casa de pau a pique até os oito anos de idade. Mudou-se posteriormente para Serrinha do Imbé em Campos, onde trabalhou na agricultura. Comia carne de caça (tatu, gambá, paca e capivara) e bebia caldo cana artesanal. Atualmente reside e trabalha em Armação dos Búzios. Negou conhecer o barbeiro. Mãe natural de São Francisco de Itabapoana, já falecida, e com estado sorológico desconhecido para DC. Não referiu nenhum sintoma sugestivo de cardiopatia e das formas digestivas de DC, entretanto, a EDA realizada recentemente no IPEC revelou Megaesôfago G I. Sorologia com título de 1/80 na IFI e IR de 1,1 no ELISA. O xenodiagnóstico e os exames de PCR tiveram resultados

negativos. Radiografia do tórax com aumento da área cardíaca. ECG com BRD de 1º grau. ECO com FE de 74%, disfunção diastólica grau I, diâmetros cavitários e função sistólica normais. Atualmente, encontra-se com critérios clínicos e laboratoriais de cura da paracoccidiodomicose e acompanhamento regular no ambulatório de doença de Chagas.

Tabela 9. Dados clínicos registrados na admissão e resultados dos exames laboratoriais dos pacientes com DC naturais do RJ e classificados como autóctones. IPEC-FIOCRUZ 1986-2011 (n=15)

Caso	Paciente	Naturalidade	Dados clínicos e laboratoriais										
			Idade	Sexo	Forma clínica	IFI	ELISA	ECG	ECO (FE%)	Rx de tórax c/contraste	Xeno	PCR kDNA	PCR m.exon
1	JFF	Conceição de Macabu	34	M	FC	1/320	1/640	MP, EV	Hipocinesia (45)	Normal	Neg	-	-
2	ABP	São Fidélis	40	M	FC	1/640	1/1280	BRD, HBAE, EV, ESV	Hipocinesia ↑ AE (35)	Cardiomegalia	-	-	-
3	BO	Resende	48	M	FC	1/640	1/1280	BRD, HBAE	Normal (75)	Normal	Neg	Neg	Neg
4	JRSA	São Fidélis	65	F	FC	1/320	1/640	BRD, HBAE, EV	Disfunção diast g1 (60)	Normal	-	-	-
5	JBB	Cardoso Moreira	49	M	FI	1/320	1/640	Normal	PCA (62)	Normal	Neg	Neg	Neg
6	FM	Santa Maria Madalena	46	M	FC	1/320	1/320	BRD, HBAE	Normal (66)	Normal	Neg	Neg	Neg
7	NBC	Bom Jesus do Itabapoana	55	M	FC	1/640	IR 5,0	BRE, desvio de eixo/esq, EV	Normal (75)	Normal	Neg	Pos	Neg
8	BPB	São Fidélis	57	M	FC/FD	1/640	IR 4,4	BRD	Normal (76)	Megaesôfago	Pos	Neg	Neg
9	JCR	São Fidélis	33	M	FC	1/320	IR 5,7	Desvio de eixo/esq, ARV	Hipocinesia ↑ VE (53)	Normal	Neg	Neg	Neg
10	JLNS	São Fidélis	41	M	FI	1/40	IR 2,0	Normal	Normal (68)	Normal	Neg	Neg	Neg
11	PRGS	Campos dos Goytacazes	50	M	FD	1/40	IR 1,5	Normal	-	Megaesôfago	-	-	-
12	SSS	Itaboraí	24	M	FI	1/80	IR 4,1	Normal	Normal (65)	Normal	Neg	Pos	Pos
13	GCSM	São Sebastião do Alto	15	F	FI	1/160	IR 6,2	Normal	Normal (67)	Normal	Neg	Pos	Neg
14	ACS	São Sebastião do Alto	34	F	FI	1/160	IR 6,4	Normal	Normal (68)	Normal	Neg	Pos	Neg
15	ASF	São Francisco de Itabapoana	68	M	FI?	1/80	IR 1,1	BRD incompleto	Disfunção diast g1 (74)	Cardiomegalia	Neg	Neg	Neg

8. DISCUSSÃO

8.1. Casuística do IPEC natural do estado do Rio de Janeiro

Apesar do número de pacientes ser pequeno para se fazer qualquer afirmação categórica, os achados não deixam de ser significativos e dá ideia do perfil epidemiológico e clínico da DC no RJ, predominantemente um estado urbano e localizado fora da área endêmica original. Outro dado relevante é que nenhum outro estudo do passado analisou de forma aprofundada casos de DC em indivíduos naturais do RJ. Coura (1966) e Coura et al. (1983) analisaram casos de DC na cidade do Rio de Janeiro, mas os grupos estudados eram originários de vários estados do Brasil e compostos, em sua maioria, por migrantes do Nordeste e Minas Gerais.

No trabalho de 1965, após 7.156 reações sorológicas de fixação de complemento (Guerreiro & Machado), somente 24 casos de DC foram classificados como naturais do RJ (Coura 1966). Em 1983, dentre os 510 casos analisados, somente 29 pacientes eram naturais do RJ (Coura et al. 1983). No estudo de Benchimol et al. (1954) foram descritos 32 casos de cardiopatia chagásica na cidade do Rio de Janeiro e apenas três pacientes eram naturais do RJ, sendo que um deles foi considerado autóctone. No trabalho de 1965, Coura chega a investigar a forma de transmissão de 11 casos naturais da Guanabara, que apresentaram reação de fixação de complemento positivas na triagem sorológica de bancos de sangue e do Serviço de Doenças Infecciosas da Faculdade Nacional de Medicina. Dentre os 11 casos investigados, seis haviam viajado ou residido em áreas endêmicas conhecidas fora do RJ, dois receberam transfusões de sangue prévias, dois pernoitaram várias vezes em áreas de mata da cidade do Rio de Janeiro e apenas um não teve sua forma de transmissão esclarecida. Há poucas referências a transmissão congênita e a naturalidade materna não é citada na maioria dos estudos do passado. Na década de 1960 a transmissão congênita não tinha tanta visibilidade e importância como nos dias atuais, provavelmente por ser um evento ainda raro em áreas urbanas, tendo em vista que a intensificação das migrações de áreas rurais endêmicas para as regiões metropolitanas do Sudeste ocorreu após a década de 1950 (Brito 2009).

Apesar de ter sido encontrado 24 casos com sorologia positiva em naturais do estado do Rio, somente 11 pacientes foram investigados por Coura, porque o estudo priorizou os indivíduos nascidos no então estado da Guanabara (hoje cidade do Rio de Janeiro), ficando de fora os outros 13 casos de DC naturais de outras cidades do RJ. O trabalho de Coura de 1965 também descreve outro grupo de 170 pacientes com DC que foram acompanhados pelos Serviços de Doenças Infecciosas e de Cardiologia da Faculdade Nacional de Medicina.

Destes, 22 eram naturais do RJ, sendo 11 da Guanabara e 11 do estado do Rio. Entretanto, não há referência aos municípios de origem e nem às formas de transmissão desses casos. Observa-se nos estudos de Coura que os naturais do RJ apresentavam em sua maioria formas clínicas assintomáticas e benignas da DC (Coura 1966; Coura et al.1983).

No presente estudo analisamos 69 pacientes naturais do estado do Rio de Janeiro, 3,5% do total de portadores de DC acompanhados no IPEC entre 1986 e 2011, sendo a maioria dos casos procedentes de áreas urbanas da região Metropolitana do estado. Houve predomínio de indivíduos do sexo masculino, brancos e com mais de 30 anos de idade. Nas duas séries de casos de DC descritos anteriormente por Coura na cidade do Rio de Janeiro (1966 e 1983), também houve predomínio de indivíduos do sexo masculino, de brancos e com média de idade semelhante. Dados da literatura demonstram que a DC não tem predileção por sexo e raça (Dias & Coura 1997). Estudos conduzidos em outros serviços de referência corroboram com essas constatações, observando-se grande variação entre as raças e o predomínio de pacientes do sexo feminino em alguns (Almeida et al. 2007; Kamiji & Oliveira 2005; Bertanha et al. 2008), e do sexo masculino em outros (Bozelli et al. 2006; Cruz et al. 2003; Gontijo et al. 1996). Há poucas informações sobre a procedência dos pacientes da maioria desses estudos, que embora tenham sido desenvolvidos em centros urbanos de São Paulo, Minas Gerais e do Paraná, provavelmente, grande parte dos casos seja oriunda de outros estados da federação. No presente estudo, a maior parte dos pacientes descobriu ser portadora da DC após doação de sangue (67%), seguidos daqueles que realizaram a sorologia por apresentarem alguma doença cardíaca. O fato da maioria dos pacientes desta série ter sido encaminhada ao IPEC pelos bancos de sangue pode ter contribuído para o maior número de indivíduos do sexo masculino, levando-se em conta que a doação de sangue é mais frequente entre homens jovens (Sasaki & Guariento 2003, Wendel 1997).

Na distribuição das faixas etárias, houve predomínio de pacientes mais jovens no grupo de transmissão congênita. Tal fato pode ser explicado pelo próprio comportamento epidemiológico da DC nos centros urbanos, considerando que grande parte da migração rural-urbana ocorreu entre as décadas de 1950 e 1970 (Brito 2009), os filhos dos migrantes nascidos no RJ são constituídos, em sua maioria, de indivíduos com menos de 40 anos de idade. Já a variação de idade entre o grupo de transmissão autóctone demonstrou maior amplitude. O caso mais jovem tinha 15 anos e o caso mais idoso 68 anos, o que aponta para existência de transmissão vetorial contínua de DC no RJ. Porém, de caráter esporádico e pelo fato de não ser conhecida, não foram adotadas medidas de controle, provavelmente porque a domiciliação de triatomíneos no RJ não era significativa. Não obstante, ao que tudo indica, poucas informações eram sabidas sobre a importância vetorial de *T. vitticeps* no RJ, que

apesar de invadir os domicílios, raramente foi notado colonizando o ambiente doméstico (Dias et al. 1989; Gonçalves et al. 1998; Santos et al. 2005).

O predomínio de faixas etárias mais jovens no grupo de indeterminados e mais velhas no grupo de cardíacos e digestivos pode ser uma expressão do caráter evolutivo da DC (Coura et al. 1983; Almeida et al. 2007). Por outro lado, como o IPEC é um centro de referência para a DC e recebe pacientes encaminhados não só pelos bancos de sangue, como por serviços de cardiologia e de gastroenterologia, as médias de idade costumam ser maiores entre os sintomáticos, o que pode ter influenciado nesse resultado.

Apesar da maioria dos pacientes ter sido oriunda de áreas urbanas e de cidades da região Metropolitana do RJ, chamou a atenção o grande número de indivíduos naturais de áreas rurais e de cidades das regiões Serrana e Norte Fluminense. Podemos afirmar que existem dois perfis epidemiológicos distintos no RJ: um urbano com predomínio de transmissões pela via congênita e transfusional e outro rural, semelhante ao das regiões tradicionalmente endêmicas, onde a transmissão vetorial é a mais comum.

Pautado em estudos desenvolvidos no passado por Coura (1966) e Wendel (1997) e o que sabemos a respeito da transmissão da doença em áreas urbanas (Schmunis 1999, Coura & Viñas 2010) talvez se esperasse um predomínio de transmissões pela via transfusional, o que não se observou. Por outro lado, constatou-se um grande número de transmissões congênicas, representando quase 40% dos casos de DC no RJ. Este fenômeno deve se repetir em outros centros urbanos do Brasil que receberam grandes contingentes de migrantes de áreas rurais, dado que não foi possível confirmar pela carência de publicações do comportamento epidemiológico da doença em áreas urbanas do país. Há uma grande lacuna sobre a representatividade e o impacto da transmissão congênita em relação à prevalência da DC no Brasil. Todavia, a transmissão congênita é mais conhecida e estudada em outros países da América do Sul, como Bolívia e Argentina (Azogue et al. 1985; Negrette et al. 2005) e motivo de preocupação em países não endêmicos da Europa e da América do Norte (Schmunis 2007; Yadon & Schmunis 2009; Muñoz 2009).

Com referência à naturalidade das mães dos pacientes nascidos no RJ e classificados no grupo de transmissão congênita, predominou a procedência dos estados reconhecidos como endêmicos e com taxas mais altas de prevalência de DC como Minas Gerais, Bahia, Rio Grande do Sul, Pernambuco e Paraíba (Camargo et al. 1984).

Chamou a atenção o número elevado de mães naturais do Rio Grande do Sul. Recente estudo desenvolvido no estado de Minas Gerais estimou em 0,2% o risco de transmissão vertical da DC naquele estado (Gontijo 2009). Já estudos desenvolvidos no estado da Bahia na década de 1970 estimaram a incidência de transmissão vertical dos partos a termo em 1,6%

e de 10,5% em partos prematuros (Bittencourt 1984). Somando-se os casos do grupo de transmissão congênita com o grupo autóctone/congênita, identificaram-se oito casos com alta probabilidade de transmissão congênita em mães gaúchas, igual ao que foi aferido entre mães baianas. Apesar do reduzido número de casos analisados, tal resultado pode indicar maiores taxas de transmissão congênita no Rio Grande do Sul do que em outros estados do Brasil, tendo em vista que o fluxo de migrantes nordestinos e mineiros para o RJ foi muito maior que o de gaúchos. Provavelmente, existem características geográficas relacionadas à linhagem de *T. cruzi* presente no Rio Grande do Sul e em outros países do cone sul, onde foi constatada a presença de Tc IId (TcV) (Zingales et al. 2009), que propiciam maiores taxas de transmissão congênita nessas regiões (Burgos et al. 2007; Corrales et al. 2009). Dados recentes do último grande inquérito de soroprevalência também indicaram maiores taxas de infecção congênita em crianças do Rio Grande do Sul em relação a outros estados do Brasil (Ostermayer et al. 2011). Estudos conduzidos no norte da Argentina, região geográfica fronteiriça e com latitudes similares ao estado do Rio Grande do Sul, encontraram taxas de transmissão próximas a 9% (Blanco et al. 2000; Negrette et al. 2005).

A maior parte dos pacientes desconhecida a condição sorológica materna e dos irmãos para DC, o que indica que devem existir muitos doentes que não sabem que são portadores da doença. Provavelmente, o número real de portadores de DC não só no Brasil como em todo mundo seja desconhecido (Uranga & Herranz 2003).

Apesar da via transfusional ter ficado em terceiro lugar entre as formas de transmissão desta casuística, os 10 casos observados não deixa de ser expressivo, considerando a carência de relatos de DC adquirida por via transfusional descritos na literatura (Wendel 1997; Dias & Schofield 1998). Em seu trabalho de 1965, Coura identificou três casos de transmissão transfusional em naturais do estado da Guanabara, sendo que apenas um paciente apresentou sinais clínicos sugestivos da fase aguda da DC após a transfusão (Coura 1966). Em sua publicação de 1999, Schmunis conclui que a transmissão transfusional no Brasil pode ter sido superestimada, considerando que grande parte do sangue doado em centros urbanos como São Paulo foi submetida à triagem sorológica, mesmo quando não havia um controle rígido governamental. (Schmunis 1999).

Analisando os resultados das variáveis epidemiológicas, se reforçou a ideia da presença de dois padrões no RJ, um urbano e outro rural. Quase todos os pacientes dos grupos de transmissão congênita e transfusional negaram ter morado em área rural e em casas de pau a pique, não conheciam o barbeiro e não consumiram carne de caça e bebidas artesanais. Por outro lado, os pacientes classificados no grupo de transmissão autóctone referiram ter morado em casas de pau a pique, uma parcela significativa tinha conhecimento prévio do barbeiro e

tinha o hábito de consumir carne de caça e bebidas artesanais, como o caldo de cana. Nota-se um perfil semelhante entre os casos autóctones e aqueles classificados no grupo de casos importados e que residiu em áreas endêmicas de outros estados do Brasil. Cerca de metade dos pacientes do grupo autóctone conhecia o vetor e os via no intradomicílio, sendo que alguns relataram ter sido picado.

Foi observada a prevalência da FI em 56,5% dos pacientes, da FC em 42 % e da FD em 10,5%, sendo que 9% tinham a forma mista ou cardiodigestiva. O megaesôfago foi a manifestação digestiva mais comum. Houve predomínio das formas cardíacas menos graves e sem comprometimento da função ventricular. Os números encontrados estão de acordo com a literatura (Prata & Macedo 1984; Gontijo et al. 1996; Dias & Coura 1997; Rassi et al. 2010). A FI foi mais prevalente entre os casos de transmissão pela via transfusional e a forma cardíaca entre os pacientes que adquiriram a infecção chagásica por via vetorial autóctone ou importada. Já entre os congênitos houve maior equilíbrio entre a distribuição das formas clínicas. O reduzido número de casos impede uma avaliação mais aprofundada destas observações. Entretanto, podemos inferir que talvez as infecções transfusionais evoluam de forma mais benigna e as adquiridas pela via vetorial de forma mais grave. Tal fato pode estar relacionado à carga parasitária presente nestes dois mecanismos de transmissão, haja vista que a grande maioria dos doadores encontra-se na fase crônica da doença, quando as formas sanguíneas do parasito raramente são encontradas. Ademais, o processo de liofilização do sangue reduziria o risco de transmissão pela via transfusional (Schmunis 1999). Também foi observado que a maior parte dos pacientes do grupo transfusional relatou somente um episódio de transfusão, o que provavelmente difere dos indivíduos expostos em áreas endêmicas onde o contato com o vetor infectado costuma ser mais frequente, aumentando as chances de reinfecções e de surgimento de formas clínicas mais graves (Dias & Coura 1997).

Apenas 17 pacientes (25%) referiram algum sintoma, sendo a palpitação, a dispneia, a constipação e a disfagia os sintomas mais mencionados, semelhante ao que foi observado por Coura (1966; 1983). A baixa frequência de sintomas pode ser explicada pelo predomínio, nesta casuística, da forma indeterminada e de formas cardíacas leves, que normalmente cursam de forma assintomática (Dias & Macedo 2005).

Em relação à associação com outras doenças, a HAS foi a comorbidade mais frequente, seguida do DM, semelhante ao observado por Bozelli et al. (2006) no Paraná e Almeida et al. (2007) em São Paulo e menores do que aferido por Santos et al. (1999) em estudo conduzido no Triângulo Mineiro. Porém, a média de idade da casuística de Santos foi maior do que a estudada no presente estudo, o que pode ter influenciado nas maiores taxas de HAS e DM encontradas em Minas Gerais.

Foi observado que apenas 8 (12%) pacientes apresentaram progressão clínica da DC, sendo inferior ao anotado em estudos desenvolvidos em áreas endêmicas por Borges-Pereira et al. (1985) e Coura et al. (1985). Em relação à proporção da progressão da FI para a FC, também foi inferior ao descrito na literatura, sendo menor que 1% dos casos/ano (Dias & Coura 1997, Dias & Macedo 2005). O fato dos pacientes viverem em áreas urbanas fora das regiões endêmicas e com menor possibilidade de reinfecções, poderia levar a índices mais baixos de progressão (Dias & Coura 1997). Outro fator, é que as médias de idade dos casos sintomáticos identificados em áreas rurais hiperendêmicas, muitos com manifestações clínicas da fase aguda, costumam ser mais baixas que nas casuísticas de centros de referência urbanos, havendo maiores chances de evoluírem para as formas clínicas crônicas e sintomáticas da DC com o passar dos anos, como observado por Dias (1982).

As alterações eletrocardiográficas com predomínio da associação do BRD com o HBAE, o BRD e o HBAE isolados foram concordantes com a literatura (Dias & Macedo 2005, Rassi et al. 2010). As extrassístoles ventriculares e supraventriculares também foram alterações comuns e se relacionaram com os estágios mais graves de cardiopatia. A radiografia do tórax apresentou maior sensibilidade na detecção da cardiomegalia, entretanto, em alguns casos, não houve concordância com o ecocardiograma que aferiu apenas quatro casos de aumento de câmaras cardíacas. As alterações ecocardiográficas observadas, como a redução da FE e o comprometimento dos segmentos inferior, posterior e apical estão de acordo com os achados característicos da cardiopatia chagásica (SBC 2004). Graus mais elevados de disfunção diastólica foram observados em pacientes com formas mais graves de cardiopatia, estando de acordo com estudo de Siciliano et al. (2006). A presença de aneurisma apical estava presente em dois pacientes com FC/B e não se correlacionou com a gravidade da cardiopatia, diferindo do observado por Xavier et al. (2005). Porém, o número reduzido de pacientes deste estudo não permitiu uma análise mais aprofundada desses achados.

O implante de MP definitivo foi realizado em cinco pacientes (7,2%). Dois pacientes com MP implantado evoluíram para óbito, entretanto, estes pacientes apresentavam graus elevados de comprometimento da função miocárdica, o que impede de correlacionar o uso do MP de forma isolada como preditor de mortalidade, estando de acordo com os achados de Holanda (2008).

Em relação ao tratamento parasitológico, 24 pacientes foram tratados (35%), sendo 18 (75%) classificados com a FI. O xenodiagnóstico mostrou-se um bom marcador de resposta ao tratamento, visto que todos aqueles que apresentaram positividade no pré-tratamento e que repetiram o exame no pós-tratamento demonstraram negatificação, o que já havia sido constatado por Coura et al. (1997), Fabbro et al. (2007) e Hasslocher-Moreno (2010). Porém,

nenhum paciente tratado apresentou negatificação sorológica até o final deste estudo e dois pacientes apresentaram PCR positiva mesmo tendo sido tratados, fato observado por Lana et al. (2009) e Britto et al. (1995).

A negatificação sorológica é considerada o único método tradutor de cura na DC (SVS 2005). Porém, a maioria dos estudos de tratamento parasitológico na fase crônica demonstra índices baixos de negatificação sorológica (Hasslocher-Moreno 2010). Talvez com maior tempo de observação, ainda possamos constatar alguma negatificação sorológica, como foi observado por Fabbro et al. (2007). A incidência de efeitos adversos relacionados ao BZN e o predomínio de manifestações dermatológicas estão de acordo com dados da literatura (Coura et al. 1997; FNS 1997). Somente em dois casos eles se mostraram de forma mais grave, sendo necessária a descontinuação do tratamento. Diferente do relatado em outros estudos, não foi observado nenhum caso de neurite periférica nos pacientes desta casuística tratados com BZN (Coura et al. 1997; Pontes et al. 2010).

No tocante aos desfechos, chamou a atenção o número expressivo de abandonos durante o acompanhamento (26%). Isto não é exclusividade da DC, se observando esse comportamento em pacientes com outras doenças crônicas. A DC possui algumas características importantes que talvez contribua para um número elevado de abandonos: i) grande parte dos doentes é assintomática e possuem formas leves da doença com baixo risco de evolução para formas mais graves; ii) ausência de um tratamento efetivo e curativo na fase crônica, não havendo previsão de alta; iii) como muitos pacientes descobrem a doença na fase mais produtiva da vida, há dificuldade de conciliar os horários de trabalho com os horários de consulta médica; iv) alguns pacientes moram em cidades distantes, dificultando o deslocamento até o IPEC; v) retorno dos pacientes para seus estados de origem.

Dentre os 69 pacientes analisados, somente oito pacientes progrediram para formas clínicas mais graves. O que diferiu de outros estudos de série de casos que tinham como característica a observação de populações rurais, que provavelmente tinham maior probabilidade de se expor a picada do vetor e se reinfectar (Dias 1982, Borges-Pereira et al. 1985, Coura et al. 1985). Além disso, como mencionado anteriormente, a faixa etária das casuísticas dos centros de referência urbanos costumam ser mais elevadas e são caracterizadas por pacientes na fase crônica da doença, o que também foi observado no presente estudo (Bozelli et al. 2006; Gontijo et al. 1996; Santos et al. 1997).

Em relação aos óbitos, apesar de poucos (5/69 – 7,2%), foram condizentes com as causas de morte da DC (Rassi et al. 2010). Entretanto, prevaleceram as mortes por falência cardíaca, diferente do relatado em outros estudos onde a morte súbita foi o mecanismo mais comum (Rassi et al. 2001; Xavier et al. 2007). Porém, a ICC foi a principal causa de morte no

grupo de pacientes com classificação de comprometimento cardíaco C/D e com FE < 35%, o que está de acordo com os achados de Xavier (2007). Apenas uma morte não se relacionou com a DC, representado pelo óbito de uma paciente idosa com câncer do colo uterino. Estudo em idosos portadores de DC demonstrou que quando estes atingem mais de 60 anos, as causas de óbito se assemelham às causas da população com a mesma faixa etária não portadora da doença, predominando as mortes por neoplasias malignas (Menezes et al. 1989).

8.2. Estudo ecoepidemiológico dos casos autóctones de doença de Chagas no estado do Rio de Janeiro

Os 15 (22%) pacientes classificados como autóctones e com provável transmissão vetorial em áreas rurais do RJ foi o segundo grupo mais numeroso. Observou-se que 13 casos (87%) possuíam origem geográfica comum, a região norte do estado, compreendida entre a transição da região Serrana com a região Norte Fluminense, passando pelo Noroeste até a fronteira com o ES.

Várias evidências aos poucos foram revelando uma coerência nesses achados. Durante o levantamento bibliográfico do histórico da DC no RJ, as primeiras publicações comunicavam a presença de espécimes de *T. vitticeps* coletados em uma casa de Conceição de Macabu, no Norte Fluminense (Neiva 1914; Neiva & Pinto 1923). Outros trabalhos desenvolvidos posteriormente, também documentaram a presença do vetor no Norte Fluminense (Lent 1942; Ferreira et al. 1986; Gonçalves et al. 1998; Lorosa et al. 2008; Giordano-Dias et al. 2010). Após as visitas preliminares do presente estudo aos municípios da região, constatou-se que pelo menos em três deles (São Fidélis, São Sebastião do Alto e Santa Maria Madalena) havia coletas regulares de triatomíneos nos domicílios e alguma ação de vigilância sobre esse evento. Posteriormente, após contato com a vigilância ambiental de outros municípios, verificou-se que em Conceição de Macabu e Trajano de Moraes também ocorriam coletas regulares de triatomíneos em domicílios da área rural. Como mencionado no capítulo do histórico da DC no RJ, no inquérito desenvolvido por Coura (1971) na Baixada Fluminense, entre seis exames sorológicos positivos de moradores de Duque de Caxias, dois pertenciam a naturais da região norte do estado. Na casuística de Benchimol de 1954, dentre os três casos de DC identificados em naturais do RJ, um deles também era oriundo de Campos dos Goytacazes, no Norte Fluminense.

Outras evidências importantes foram os diversos relatos na literatura de casos de DC no ES e frequentemente associados à presença de *T. vitticeps* no ambiente domiciliar (Santos et al. 1969c; Barros 1975; Dias et al. 1989; Sessa et al. 2002). Podemos afirmar que existe

uma semelhança entre o comportamento epidemiológico da DC no ES com o observado no Norte Fluminense. A DC nessas regiões tem como principais condicionantes a invasão domiciliar habitual por *T. vitticeps*, normalmente com elevadas taxas de infecção por *T. cruzi*, e a presença de reservatórios silvestres peridomiciliares. Por outro lado, a colonização das casas por esse vetor é pouco frequente e as taxas de prevalência de infecção humana são baixas (Dias et al. 1989; Gonçalves et al. 1998; Santos et al. 2005). No presente estudo, das 39 casas onde foram encontrados triatomíneos, somente em duas (5,1%) foram capturadas ninfas. O ES faz divisa com as regiões Norte e Noroeste Fluminense e também está inserido no bioma Mata Atlântica. Apresenta clima e índices pluviométricos similares, teve grande parte de suas florestas desmatadas e viveu ciclos econômicos semelhantes ao RJ. Nos dias atuais, o ES possui apenas 7% de sua cobertura florestal original (Leite et al. 2011).

Diversos fatores associados podem estar influenciando na presença de casos autóctones de DC no RJ, como: a presença histórica e recorrente de *T. vitticeps*, espécie endêmica no Norte Fluminense (Neiva 1914; Neiva & Pinto 1923; Lent 1942; Ferreira et al. 1986; Gonçalves et al. 1998; Giordano-Dias et al. 2010; Sangenis et al. 2012); o contínuo processo de desmatamento com sucessivos ciclos econômicos na região; a presença de populações rurais com atividades agrícolas permanentes; altas taxas de moradias de baixo padrão econômico. Pelo tipo de comportamento do vetor, que costuma invadir e não colonizar o ambiente doméstico, normalmente atraído pelas luzes das casas (Lent 1942; Gonçalves et al. 1998; Lorosa et al. 2008), a ausência de forro no teto das moradias e as janelas sem vidros e telas são condições mais decisivas, do que o tipo de paredes, para o encontro de triatomíneos no domicílio, como foi observado no estudo de campo do presente estudo. Além do desmatamento, o hábito de caçar e se alimentar com animais silvestres provavelmente contribuem para o aparecimento de casos humanos de DC, não apenas pelo risco de infecção acidental pelo consumo da carne mal passada (Dias & Amato-Neto 2011; Valente 2011), como pela diminuição das fontes alimentares dos triatomíneos, que não encontrando alimento nas áreas silvestres, passam a invadir o ambiente doméstico (Forattini 1980).

Pautado nos inúmeros conhecimentos até agora levantados a respeito do processo de domiciliação dos triatomíneos e nos dados históricos de atividades antrópicas no Norte Fluminense, *T. vitticeps*, a que tudo indica, não demonstra capacidade de adaptação ao ambiente doméstico. Vemos que o vetor mantém o mesmo comportamento no RJ há pelo menos 100 anos (Neiva 1914). Diferente de outros vetores, como *P. megistus*, *T. sordida* e *T. brasiliensis*, que em várias regiões do Brasil, passaram a ter comportamento domiciliar (Forattini 1980).

Nas áreas rurais do norte do RJ verificaram-se algumas características similares ao observado em algumas regiões da Amazônia Brasileira, como a invasão domiciliar noturna de vetores silvestres atraídos pela luz, presença de áreas modificadas por atividade antrópica, redução da oferta de reservatórios silvestres e surgimento de casos de DC humana por transmissão vetorial (Coura et al. 1994; Valente et al. 1999; Dias et al. 2002; Coura & Junqueira 2012). No trabalho de campo, observou-se também grande número de habitações com animais domésticos, que podem servir de reservatório de *T. cruzi* e interligar ciclos zoonóticos com a população humana residente, como foi observado por Lima et al. (2012) em cães no Ceará.

O consumo de bebidas artesanais como o caldo de cana pode ser um fator de risco para a infecção chagásica (Cardoso et al. 2006). Porém, pouco provável neste estudo, visto que a maioria dos relatos da literatura em relação ao envolvimento do consumo de suco da cana como causador de infecções chagásicas se referem à ocorrência de surtos agudos e à ingestão de grande quantidade de parasitos, sendo o barbeiro triturado junto com a planta (Shikanai-Yasuda et al 1991; SVS 2007; Pereira et al. 2009), o que não foi observado no RJ. Alguns pacientes relataram o consumo de açaí de palmeira Juçara (*E. edulis*), árvore comum em remanescentes de Mata Atlântica. Porém, mais uma vez, a transmissão por esse mecanismo é pouco provável no RJ, visto que a transmissão oral por consumo de açaí, documentada na Amazônia, habitualmente acontece quando o triatomíneo é macerado junto com os frutos do açazeiro ou por contaminação acidental do suco por fezes do inseto, observando-se números expressivos de casos com manifestações agudas da doença e ocorrências de surtos familiares (Valente et al. 1999, Valente 2011). Ademais, há uma carência de estudos ecológicos sobre a correlação da palmeira Juçara com triatomíneos silvestres da Mata Atlântica no RJ. Contudo, parece que o consumo do fruto da Juçara por populações rurais do estado não seja comum, pois apenas dois pacientes desta casuística referiram o consumo esporádico da bebida.

Outra possibilidade que podemos levantar em relação à transmissão oral é a ocorrência de contaminação acidental de alimentos por formas infectantes de *T. cruzi* pelo conteúdo da glândula anal de gambás infectados – marsupiais sinantrópicos com elevadas taxas de infecção natural pelo protozoário (Deane et al. 1984; Dias & Amato-Neto 2011) – ou com fezes de triatomíneos infectados (Dias & Amato-Neto 2011). No presente estudo, foi constatada a infecção natural por *T. cruzi* de triatomíneos e animais silvestres capturados em domicílios das áreas investigadas, inclusive de um gambá (*Didelphis aurita*), o que reforça essa possibilidade.

Como constatado por Gonçalves et al. (1998), a maior parte das capturas de *T. vitticeps* deste estudo ocorreu nos meses mais quentes e chuvosos, quando a temperatura e a

umidade relativa do ar costumam ser mais elevadas, o que coincide com o período de maior dispersão dos triatomíneos (Zeledón & Rabinovich 1981; Souza et al. 2010). Assim como foram capturados mais fêmeas do que machos, semelhante aos resultados encontrados no ES por Santos et al. (2006). Verificou-se que grande parte dos triatomíneos capturados no intradomicílio estava sem nenhum conteúdo intestinal, indicando a dificuldade de encontrar fontes alimentares no ambiente silvestre, o que pode influir na maior intensidade de dispersão do vetor (Gonçalves et al. 1998). De acordo com o relato de alguns moradores de São Sebastião do Alto, os triatomíneos normalmente aparecem no verão à noite nas luzes das casas, quando o ar fica quente, antes da chegada da chuva de uma frente fria, fenômeno conhecido como aquecimento pré-frontal (Diametto & Rocha 2006).

Prevaleceu o encontro de *T. cruzi* da linhagem I (TcI) nos três representantes dos estágios do ciclo do protozoário: vetor, animal reservatório e hospedeiro humano; sendo que no caso humano foi constatada a presença de infecção mista de TcI e TcVI, pela nova classificação de caracterização pautada nas DTUs (Zingales et al. 2009).

Houve predomínio das formas viscerais (cardíaca e digestiva) entre os pacientes autóctones, inclusive com registro de três óbitos neste grupo, o que pode contradizer os conceitos de que as formas clínicas associadas ao tipo silvestre (TcI) seriam mais benignas, com menor acometimento visceral e que entre naturais do RJ a morbidade da doença seria menor (Coura, 1966; Coura et al. 1983; Coura & Borges-Pereira 2012). Por outro lado, o único paciente que teve seu genótipo identificado (caso 12) era jovem, encontrava-se na forma indeterminada e tinha se submetido ao tratamento com BZN. Nenhum paciente autóctone com cardiopatia, doença digestiva ou com evolução fatal teve a linhagem de *T. cruzi* identificada. Contudo, formas graves de cardiopatia já foram documentadas na Amazônia, região onde predominam infecções pela linhagem I (Fernandes et al. 2001; Albajar et al. 2003; Xavier et al. 2006). Até o momento TcVI só havia sido identificado no Brasil em vetores capturados no Rio Grande do Sul (Zingales et al. 2009). Considerando o ineditismo das constatações de epidemiologia molecular no RJ evidenciadas neste estudo e as interações parasito/hospedeiro ainda pouco conhecidas relacionadas às diferentes linhagens de *T. cruzi*, novos estudos serão necessários para esclarecer melhor essas correlações e suas implicações na morbidade da DC, não só no RJ como em outras regiões do Brasil e da América Latina, tendo em vista as recentes descobertas sobre a biodiversidade genética de *T. cruzi* (Zingales et al. 2009; Zingales et al. 2012).

Em relação aos dois casos da doença do grupo autóctone e que não eram oriundos do Norte Fluminense – um de Resende, no Médio Paraíba e outro de Itaboraí, na região Metropolitana – levantam algumas hipóteses. Como foi relatado no capítulo do histórico da

DC no RJ, nas décadas de 1940 e 1950 havia em Engenheiros Passos, distrito de Resende, a presença de *T. infestans* (Lent 1942; Bustamante & Gusmão 1953) que provavelmente veio do Vale do Paraíba paulista, mais precisamente do município de Queluz, que faz divisa com Engenheiro Passos (Bustamante & Gusmão 1953; Silva et al. 2011). Há vários indícios que levam a concluir que o vetor implicado na transmissão do paciente de Resende (caso 3) foi *T. infestans*. O paciente nasceu na área rural do município no distrito de Engenheiro Passos em 1944, morou em casa de pau a pique e referiu conhecer o barbeiro, pois os via diariamente dentro de casa na parede do quarto. No inquérito de 1952 desenvolvido por Bustamante & Gusmão no Sul Fluminense não há relato da presença de outro vetor além de *T. infestans* capturados na região, assim como não foi encontrada nenhuma publicação que fizesse referência à presença de outros triatomíneos invadindo domicílios em Resende. Ademais, foram encontrados no mesmo estudo *T. infestans* infectados por *T. cruzi* no distrito de Engenheiro Passos.

O caso de Itaboraí possui alguns dados em sua história epidemiológica que deixam em aberto o real mecanismo de transmissão da DC. Segundo relato do paciente, este tinha o hábito de comer frequentemente gambás caçados e preparados por sua mãe e consumir bebidas artesanais. Embora tenha negado o conhecimento do barbeiro, sempre morou na área rural do município, no distrito de Sambaetiba, em casas de construção simples, sem forro no teto e sem telas nas janelas. Ademais, verificou-se no município de Tanguá, fronteiro a Sambaetiba, a presença de *T. vitticeps* em domicílios da área rural (Santos-Mallet 2011 – comunicação pessoal). Portanto, existem duas possibilidades de transmissão, ou por via oral ou por mecanismo vetorial, similar aos demais casos autóctones do RJ. Na investigação realizada na localidade de Sambaetiba, nenhum outro familiar do caso apresentou teste sorológico positivo para DC e nenhum vetor foi encontrado no domicílio e anexos localizados no peridomicílio, embora o endereço de moradia atual da família, apesar de ser no mesmo distrito, não seja mais aquele em que o paciente nasceu e morou nos primeiros anos de vida.

9. CONCLUSÕES

1. Existem dois padrões epidemiológicos no RJ, um urbano com predomínio de transmissões pela via congênita e transfusional e outro rural com mecanismo de transmissão vetorial.
2. A forma clínica indeterminada prevaleceu nos grupos de transmissão transfusional e congênita e a forma cardíaca entre os pacientes com transmissão vetorial.
3. Houve baixa incidência de progressões, sendo que somente 12% dos pacientes mudaram de classificação clínica e entre os indeterminados apenas 8%, observando-se, neste grupo, proporção de progressão inferior a 1% dos casos/ano.
4. Observaram-se poucos óbitos na casuística de DC do RJ, sendo a insuficiência cardíaca a principal causa de morte.
5. As áreas rurais do Norte Fluminense apresentam ciclos enzoóticos de DC com esporádicas transmissões humanas onde *T. vitticeps* é o principal transmissor e animais silvestres sinantrópicos (marsupiais e roedores) os principais reservatórios de *T. cruzi*, constatando-se a presença da endemia no RJ.
6. O processo histórico de desmatamento da Mata Atlântica, as habitações rurais de baixo padrão econômico (casas sem forro e com janelas simples) que facilitam a invasão do vetor, o hábito da caça e o consumo de bebidas artesanais incrementam o risco de transmissão da DC no RJ.
7. *T. cruzi* do genótipo I (TcI) de origem silvestre predominou nos três componentes do ciclo da DC (animal silvestre reservatório, vetor e hospedeiro humano), constatando-se infecção mista TcI e TcVI na etiologia humana da DC no RJ.

10. RECOMENDAÇÕES E PERSPECTIVAS

1. A sorologia para DC deve ser solicitada no pré-natal de toda mulher oriunda de áreas endêmicas originais da doença, como o sertão nordestino e o norte de Minas Gerais. Convém incluir também o exame de triagem em gestantes oriundas de áreas endêmicas do Rio Grande do Sul, tendo em vista os indícios de maior risco de transmissão observado no presente estudo.
2. Medidas de educação em saúde e de alerta às vigilâncias epidemiológicas municipais e do estado do Rio de Janeiro devem ser adotadas para prevenção de novas infecções e controle de potenciais focos domiciliares de *T. vitticeps* no Estado.
3. Novos estudos epidemiológicos e inquéritos de soroprevalência devem ser conduzidos na região centro-norte fluminense para melhor conhecimento da magnitude da endemia.
4. Novos estudos de morbidade em pacientes de centros de referência urbanos relacionados aos mecanismos de transmissão devem ser desenvolvidos para melhor conhecimento do prognóstico e evolução da DC.
5. Desenvolver novos estudos de epidemiologia molecular, correlacionando os diferentes genótipos atualmente conhecidos de *T. cruzi* com as formas de apresentação clínica, morbidade e mortalidade da doença.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGEVAP (Associação Pró-Gestão das Águas da Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul). Relatório técnico – Bacia do Rio Paraíba do Sul – subsídios às ações de melhoria da gestão 2011. Disponível em: <http://www.agevap.org.br/downloads/Relatorio%20Geral%20versao%20para%20site%2029dez11.pdf>

Albajar PV, Laredo SV, Terrazas MB, Coura JR 2003. Miocardiopatia dilatada em pacientes com infecção chagásica crônica. Relato de dois casos fatais autóctones no Rio Negro, Estado do Amazonas. *Rev Soc Bras Med Trop* 36: 401-407.

Alentejano PRR 2005. A evolução do espaço agrário fluminense. *GEOgraphia (UERJ)* 13: 49-70.

Almeida EA, Barbosa-Neto RM, Guariento ME, Wanderley JS, Souza ML 2007. Apresentação clínica da doença de Chagas crônica em indivíduos idosos. *Rev Soc Bras Med Trop* 40: 311-315.

Andrade ZA, Andrade SG 1979. Patologia. In Brener Z, Andrade ZA, *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*, 1ª ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 199-247.

André RGB, Marques VS, Pinheiro FMA Ferraudo AS 2008. Identificação de regiões pluviometricamente homogêneas no estado do Rio de Janeiro, utilizando-se valores normais. *Rev Bras Meteorol* 23: 501-509.

Apt W, Zulantay I, Arnello M, Oddó D, González S, Rodríguez J, Kemmerling U, Truyens C, Carlier Y 2013. Congenital infection by *Trypanosoma cruzi* in an endemic area of Chile: a multidisciplinary study. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 107: 98-104.

Aragão MB, Souza SA 1971. *Triatoma infestans* colonizando em domicílios da Baixada Fluminense, estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 5: 115-121.

Arias AR 2007. Social and epidemiological determinants of Chagas disease: basic information for a surveillance and control policy in the Southern Cone. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102 (suppl. D): 19-21.

Avila 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: diagnostic of chronic Chagas' Disease. *Mol Biochem Parasitol* 48: 211-221.

Azogue E, La Fuent C, Darras C 1985. Congenital Chagas disease in Bolivia: epidemiological aspects and pathological findings. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 79: 176-180.

Barros GC, Mayrink W, Salgado AA, Barros RCG, Sessa PA 1975. Contribuição para o conhecimento da doença de Chagas autóctone no estado do Espírito Santo. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 17: 319-329.

Basile L, Jansã JM, Carlier Y, Salamanca SS, Angheben A, Bartoloni A, Seixas J, Van Gool T, Cañavate C, Flores-Chávez M, Jackson Y, Chiodini PL, Albajar-Viñas P 2011. Chagas disease in European countries: the challenge of a surveillance system. *Euro Suveill* 16. Disponível em: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?Articleid=19968>

Benchimol AB, Schlesinger P, Cotrim MR 1954. A cardiopatia Chagásica crônica observada na cidade do Rio de Janeiro: estudo de 32 casos. *Med Cirurg Farm* 213: 5-30.

Bertanha L, Guariento ME, Magna LA, Almeida EA 2008. Caracterização clínico-laboratorial de chagásicos hipertensos sem insuficiência cardíaca manifesta. *Rev Soc Bras Med Trop* 41: 163-168.

Biazzo PP 2009. Relações campo-cidade no Norte Fluminense: ruralidades e urbanidades em transformação. Dissertação (mestrado). UERJ, Rio de Janeiro, 127 p.

Bittencourt ACL 1984. Doença de Chagas congênita na Bahia. *Rev Baiana Saúde Pública* 11:165-208.

Blanco SB, Segura EL, Cura EM, Chuit R, Tulián L, Flores I, Garbarino G, Villalonga JF, Gürtler RE 2000. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi*: an operational outline for

detecting and treating infected infants in north-western Argentina. *Trop Med Internat Health* 5: 293-301.

Borges-Pereira J, Willcox HP, Coura JR 1985. Morbidade da doença de Chagas. III. Estudo longitudinal, de seis anos, em Virgem Lapa, MG, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 80: 63-71.

Bozelli CE, Araújo SM, Guilherme ALF, Gomes ML 2006. Perfil clínico-epidemiológico de pacientes com doença de Chagas no Hospital Universitário de Maringá, Paraná, Brasil. *Cad Saúde Pública* 22: 1027-1034.

Brasil PEAA 2010. Contribuição para o diagnóstico da doença de Chagas crônica na prática clínica, Tese (Doutorado), Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 152 p.

Briceño-León R 2009. La enfermedad de Chagas en las Américas: una perspectiva de ecosalud. *Cad Saúde Pública* 25 (supl. 1):571-582.

Brito F 2009. As migrações internas no Brasil: um ensaio sobre os desafios teóricos recentes. Texto para discussão. Centro de Desenvolvimento e Planejamento Regional/UFMG nº 366(1): 1-20.

Britto C, Cardoso MA, Vanni CMM, Hasslocher-Moreno A, Xavier SS, Oelermann 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.

Burgos JM, Altcheh J, Bisio M, Duffy T, Valadares HM, Seidenstein ME, Piccinali R, Freitas JM, Levin MJ, Macchi L, Macedo AM, Freilij H, Schijman AG 2007. Direct molecular profiling of minicircle signatures and lineages of *Trypanosoma cruzi* bloodstream populations causing congenital Chagas disease. *Int J Parasitol* 37: 1319-1327.

Bustamante FM, Gusmão JB 1953. Sobre um foco de *Triatoma infestans* nos municípios de Resende e Itaverá, estado do Rio de Janeiro. *Rev Brasil Malariol D Trop* 5: 23-28.

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

Capozzoli U 2009. Darwin no Brasil – Encanto com a natureza e choque com a escravidão. *Scientific American Brasil* 81: 83-87.

Cardoso AVN, Lescano SAZ, Amato-Neto V, Gakiya E, Santos SV 2006. Survival of *Trypanosoma cruzi* in sugar cane used to prepare juice. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 48: 287-289.

Carlier Y, Torrico F 2003. Congenital infection with *Trypanosoma cruzi*: from mechanisms of transmission to strategies for diagnosis and control. *Rev Soc Bras Med Trop* 36: 767-771.

CEPERJ (Fundação Centro Estadual de Estatísticas, Pesquisas e Formação de Servidores Públicos do Rio de Janeiro) 2010. Produto interno bruto do Estado do Rio de Janeiro – 2010. Textos analíticos. Disponível em: <http://www.ceperj.rj.gov.br/ceep/pib/pib.html>

Chagas C 1909. Nova tripanozomíase humana: estudos sobre a morfologia e ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1: 159-218.

Chagas, C 1911. Nova entidade morbida do homem. Resumo geral de estudos etiológicos e clínicos. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 3: 219-275.

Corrales RM, Mora MC, Negrette OS, Diosque P, Lacunza D, Virreira M, Brenière SF, Basombrio MA 2009. Congenital Chagas disease involves *Trypanosoma cruzi* sub-lineage II_d in the northwestern province of Salta, Argentina. *Infect Genet Evol* 9: 278-282.

Costa Leite I 1960. Sobre o *Triatoma tibiamaculata* (Pinto, 1926). *Rev Bras Malariol* 12: 365-371.

Coura JR 1966. Contribuição ao estudo da doença de Chagas no estado da Guanabara. Tese de livre docência (1965). *Rev Brasil Malariol D Trop* 18: 9-98.

Coura JR, Abreu LL, Borges-Pereira J, Willcox HP 1985. Morbidade da doença de Chagas. IV. Estudo longitudinal de dez anos em Pains e Iguatama, Minas Gerais, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 80: 73-80.

Coura JR, Abreu LL, Willcox HPF, Petana W 1997. Estudo comparativo controlado com emprego de benzonidazole, nifurtimox e placebo, na forma crônica da doença de Chagas, em uma área de campo com transmissão interrompida. I. Avaliação preliminar. *Rev Soc Bras Med Trop* 30: 139-144.

Coura JR, Anunziato N, Willcox HPF 1983. Morbidade da doença de Chagas. I – Estudo de casos procedentes de vários estados do Brasil, observados no Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 78: 363-372.

Coura JR, Barrett TV, Naranjo MA 1994. Ataque de populações humanas por triatomíneos silvestres no Amazonas: uma nova forma de transmissão da infecção chagásica? *Rev Soc Bras Med Trop* 27: 251-253.

Coura JR, Borges-Pereira J 2012. Chagas disease. What is known and what should be improved: a systemic review. *Rev Soc Bras Med Trop* 45: 286-296.

Coura JR, Ferreira LF, Rodrigues da Silva J 1966a. Triatomíneos no Estado da Guanabara e suas relações com o domicílio humano. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 8: 162-166.

Coura JR, Ferreira LF, Rubens J, Pereira NC, Rodrigues da Silva J 1966b. Tripanosoma do “complexo *cruzi*” em reservatório silvestre no estado da Guanabara. Estudo de sua patogenicidade. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 8: 125-133.

Coura JR, Junqueira ACV 2012. Risks of endemicity, morbidity and perspectives regarding the control of Chagas disease in the Amazon Region. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107: 145-154.

Coura JR, Silva CET, Vieira W, Figueiredo N 1971. Um foco de doença de Chagas transmitida pelo *Triatoma infestans* na Baixada Fluminense, município de Caxias, estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 5: 123-129.

Coura JR, Viñas PA 2010. Chagas disease a new worldwide challenge. *Nature* 24/June/2010: S6-S7, Disponível em: www.nature.com/outlooks

Cruz ALG, Guariento ME, Wanderley JS, Almeida ES, 2003. Caracterização dos pacientes chagásicos jovens atendidos em um serviço de referência. *Rev Soc Bras Med Trop* 36 (supl. II): 58.

Dametto G, Rocha R 2006. Características climáticas dos sistemas frontais na cidade de São Paulo. *Anais do XIV Congresso Brasileiro de Meteorologia*, Florianópolis, SC: CD-ROM.

Dantas ME, Shinzato E, Medina AIM, Silva CR, Pimentel J, Lumbreras JF, Calderano SB, Carvalho Filho A 2005. Diagnóstico Geoambiental do Estado do Rio de Janeiro. In *Oficina internacional de ordenamento territorial mineiro - cyted (Ciencia y Tecnologia para el Desarrollo Cooperacion IberoAmericana)*. Rio de Janeiro, CD-ROM, Sessão 4, p.1-35.

Darwin C 1871. Diário das Investigações sobre a História Natural e Geologia dos países visitados durante a viagem ao redor do mundo pelo navio de Sua Majestade “Beagle” sob o comando do Capt. Fitz Roy, RA. *Viagem de um naturalista ao redor do mundo*, ed. Abril Cultural. 135 pp.

Deane MP, Lenzi HL, Jansen A 1984. *Trypanosoma cruzi*: vertebrate and invertebrate cycles in the same mammal host, the opossum *Didelphis marsupialis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 79: 513-515.

Dias E 1934. Estudos sobre o *Schizotripanum cruzi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 28: 1-110.

Dias E 1943. Presença de *Panstrongylus megistus* infectado por *Schizotripanum* no Rio de Janeiro, D.F. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 38: 177-180.

Dias E 1956. Observações sobre a eliminação de dejeções e tempo de sucção de alguns triatomíneos sul-americanos. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 54: 115-124.

Dias E, Seabra CAC 1943. Sobre o *Trypanosoma conorrhini*, hemoparasito do rato transmitido pelo *Triatoma rubrofasciata*. Presença do vector infectado na cidade do Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 39: 301-329.

Dias JCP 1979. Mecanismos de transmissão. In *Brener Z, Andrade ZA, Barral-Neto M, editores. Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 152-174.

Dias JCP 1982. Doença de Chagas em Bambuí, Minas Gerais, Brasil. Estudo clínico-epidemiológico a partir da fase aguda, entre 1940-1982. Tese (Doutorado), Fac Med, UFMG, 376p.

Dias JCP 1986. Perspectivas de controle da doença de Chagas no Brasil. *Cad Saúde Pública* 2: 84:103.

Dias JCP 2006. Nota sobre o *Trypanosoma cruzi* e suas características bio-ecológicas, como agente de enfermidades transmitidas por alimentos. *Rev Soc Bras Med Trop* 39: 370-375.

Dias JCP 2007a. Southern Cone Initiative for the elimination of domestic populations of *Triatoma infestans* and interruption of transfusional Chagas disease. Historical aspects, present situation, and perspectives. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102 (suppl. I): 11-18.

Dias JCP 2007b. Globalização, iniquidade e doença de Chagas. *Cad Saúde Pública* 23 (supl I): 513-522.

Dias JCP 2009. Elimination of Chagas disease transmission: perspectives. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104 (suppl. I): 41-45.

Dias JCP, Amato-Neto V 2011. Prevenção referente às modalidades alternativas de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 44 (supl. II): 67-72.

Dias JCP, Coura JR 1997. Epidemiologia. In *Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral*, 1ª ed., Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, p.33-65.

Dias JCP, Feitosa VR, Ferraz-Filho NA, Rodrigues VLC, Alencar AS, Sessa PA 1989. Fonte alimentar e potencial vetorial de *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) com relação à doença de Chagas humana no estado do Espírito Santo, Brasil (Hemiptera, Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 84 (supl. IV): 165-173.

Dias JCP, Macedo VO 2005. Doença de Chagas. In *Coura JR (editor), Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias*, 1ª ed., v. 1: p.557-593.

Dias JCP, Machado EMM, Fernandes AL, Vinhaes MC 2000. Esboço geral e perspectivas da doença de Chagas no Nordeste do Brasil. *Cad Saúde Pública* 16 (supl. 2): 13-34.

Dias JCP, Prata A, Correia D 2008. Problems and perspectives for Chagas disease control: in search of a realistic analysis. *Rev Soc Bras Med Trop* 41: 193-196.

Dias JCP, Prata A, Schofield CJ 2002. Doença de Chagas na Amazônia: esboço da situação atual e perspectivas de prevenção. *Rev Soc Bras Med Trop* 35: 669-678.

Dias JCP, Schofield CJ 1998. Controle da transmissão transfusional da doença de Chagas na *Iniciativa do Cone Sul*. *Rev Soc Bras Med Trop* 31: 373-383.

Diotaiuti L, Bronfen E, Perillo MM, Machado GBN, Loiola CF 1987. Aspectos do comportamento biológico do *Triatoma vitticeps* na transmissão da doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop* 20 (supl.): 87.

Fabbro DL, Streiger ML, Arias ED, Bizai ML, Barco M, Amicone NA 2007. Trypanocide treatment among adults with chronic Chagas disease living in Santa Fé city (Argentina), over a mean follow-up of 21 years: parasitological, serological and clinical evolution. *Rev Soc Bras Med Trop* 40: 1-10.

Fernandes O, Mangia RH, Lisboa CV, Pinho AP, Morel CM, Zingales B, Campbell DA, Jansen AM 1999. The complexity of the sylvatic cycle of *Trypanosoma cruzi* in Rio de Janeiro state (Brazil) revealed by the non-transcribed spacer on the mini-exon gene. *Parasitology* 118: 161-166.

Fernandes O, Santos SS, Cupolillo E, Mendonça B, Derre R, Junqueira AC, Santos LC, Sturm NR, Naiff RD, Barret TV, Campbell DA, Coura JR 2001. A mini-exon multiplex polymerase chain reaction to distinguish the major groups of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Brazilian Amazon. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 95: 97-99.

Ferreira E, Souza OS, Fonseca Filho M, Rocha 1986. Nota sobre a distribuição geográfica do *Triatoma vitticeps* Stal, 1859 (Hemiptera, Reduviidae) no estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Brasil Malariol D Trop* 38: 11-14.

FNS (Fundação Nacional de Saúde) 1997. Tratamento etiológico da doença de Chagas. *Coordenação de controle de doenças transmitidas por vetores - Gerência técnica de doença de Chagas*. 2ª ed, Ministério da Saúde, Brasília, 34p.

Forattini OP 1980. Biogeografia, origem e distribuição da domiciliação de triatomíneos no Brasil. *Rev Saúde Pública* 14: 265-299.

Gascon J, Bern C, Pinazo MJ 2010. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta Trop* 115: 22-27.

Giordano-Dias CM, Bezerra IO, Moza PG, Braga JO, Silva JL, Santos HR, Souza MSB, Fonseca Filho M, Pacheco SRR, Gonçalves TCM, Santos-Mallet JR, Lopes CM 2010. Investigação do risco de transmissão de doença de Chagas no município Trajano de Moraes – Região Serrana do estado do Rio de Janeiro. *Anais de XXVI reunião de pesquisa aplicada em doença de Chagas e XIV reunião de pesquisa aplicada em leishmanioses, Uberaba, Minas Gerais*, v.1. p. 17.

Gomes LM, Reis RB, Cruz CBM 2009. Análise da cobertura florestal da Mata Atlântica por município do estado do Rio de Janeiro. *Anais XIV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto*, Natal, Brasil, INPE, p. 3849-3857.

Gonçalves TCM, Oliveira E, Dias LS, Almeida MD, Nogueira WO, Pires FDA 1998. An investigation on the ecology of *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) and its possible role in the transmission of *Trypanosoma cruzi*, in the locality of Triunfo, Santa Maria Madalena municipal district, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93: 711-717.

Gonçalves TCM, Rocha DS, Cunha RA 2000. Feeding patterns of *Triatoma vitticeps* in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Saúde Pública* 34: 348-352.

Gonçalves TCM, Victório VMN, Jurberg J, Cunha V 1988. Biologia do *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) em condições de laboratório (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). I. Ciclo evolutivo. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 83: 519-523.

Gontijo ED, Andrade GMQ, Santos SE, Galvão LMC, Moreira EF, Pinto FS, Dias JCP, Januário JN 2009. Triagem neonatal da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* em Minas Gerais, Brasil: transmissão congênita e mapeamento de áreas endêmicas. *Epidemiol Serv Saúde* 18: 243-254.

Gontijo ED, Rocha MO, Oliveira UT 1996. Perfil clínico-epidemiológico de chagásicos atendidos em ambulatório de referência e proposição de modelo de atenção ao chagásico na perspectiva do SUS. *Rev Soc Bras Med Trop* 29: 101-108.

Guimarães FN, Jansen G 1943. Um foco potencial de Tripanosomíase Americana na cidade do Rio de Janeiro (Distrito Federal). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 39: 405-417.

Gurgel-Gonçalves R, Galvão C, Costa J, Peterson AT 2012a. Geographic distribution of Chagas disease vectors in Brazil based on ecological niche modeling. *J Trop Med* 2012: 1-15.

Gurgel-Gonçalves R, Galvão C, Mendonça J, Costa-Neto EM 2012b. Guia de triatomíneos da Bahia, ed. UEFS – Universidade Estadual de Feira de Santana, 112p.

Gürtler RE, Segura EL, Cohen JE 2003. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* infection in Argentina. *Emerg Infect Dis* 9: 29-32.

Hasslocher-Moreno AM 2010. Evolução eletrocardiográfica, parasitológica e sorológica de pacientes com doença de Chagas na forma indeterminada tratados com benzonidazol e comparados com grupo controle. Dissertação (Mestrado), Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, 49p.

Holanda MT 2008. Bradirritmias com necessidade de implante de marca-passo definitivo em uma coorte de 1251 pacientes com doença de Chagas: incidência, preditores e mortalidade. Dissertação (Mestrado), Fac Med, UFRJ, 102p.

Hotez PJ, Molyneux DH, Fenwick A, Kumaresan J, Sachs SE, Sachs JD, Savioli L 2007. Control of Neglected Tropical Diseases. *N Engl J Med* 357: 1018-27.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) 1948. Sinopse estatística dos municípios de São Sebastião do Alto, Santa Maria Madalena e Trajano de Moraes, Estado do Rio de Janeiro, 60 p.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) 2010a. Estados: Rio de Janeiro. (homepage). Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=rj>

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) 2010b. Sinopse do censo demográfico 2010. Disponível em: <http://www.censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?uf=33&dados=0>

IESB (Instituto de Estudos Socioambientais do Sul da Bahia) 2007. Levantamento da cobertura vegetal nativa do bioma Mata Atlântica. Relatório Final. Edital PROBIO 03/2004. Projeto de Conservação e Utilização Sustentável da Diversidade Biológica Brasileira – PROBIO, Rio de Janeiro, p. 1-84.

INEA (Instituto Estadual do Ambiente), Estado do Rio de Janeiro. A Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro. (homepage) Disponível em: <http://www.inea.rj.gov.br/mata/conteudo.asp>

Jurberg J, Galvão C, Rocha D, Dale C, Cunha V 2009. Vetores da doença de Chagas da região Sudeste do Brasil. *Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos*, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Atlas.

Kamiji MM, Oliveira RB 2005. O perfil dos portadores de doença de Chagas, com ênfase na forma digestiva, em hospital terciário de Ribeirão Preto, SP. *Rev Soc Bras Med Trop* 38: 305-309.

Lana M, Lopes LA, Martins HR, Bahia MT, Machado-de-Assis GF, Wendling AP, Martins-Filho AO, Montoya RA, Dias JCP, Albajar-Viñas P, Coura JR 2009. Clinical and laboratory status of patients with chronic Chagas disease living in a vector-controlled area in Minas Gerais, Brazil, before and nine years after etiological treatment. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104: 1139-1147.

- Lannes-Vieira J, Araujo-Jorge TC, Soeiro MNC, Gadelha P, Corrêa-Oliveira R 2010. The Centennial of the discovery of Chagas' disease: facing the current challenges. *PLoS Negl Trop Dis* 4: e645.
- Leite GR, Santos CB, Falqueto A 2011. Influence of the landscape on dispersal of sylvatic triatomines to anthropic habitats in the Atlantic Forest. *J Biogeogr* 38: 651-663.
- Lent H 1942. Transmissores da moléstia de Chagas no Estado do Rio de Janeiro. *Rev Flum Med* 6: 7-19.
- Lent H 1943. Novo transmissor da doença de Chagas na cidade do Rio de Janeiro, D.F. Estudo dos gêneros *Belminus* Stal, 1859, *Bolbodera* Valdés, 1910 e descrição do *Parabelminus carioca* n. g., n. sp. (Hemiptera, Triatomidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 38: 497-516.
- Lent H, Wigodzinsky P 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull Amer Museum Nat Hist* 163: 123-520.
- Lima AFR, Jeraldo VLS, Silveira MS, Madi RR, Santana TBK, Melo CM 2012a. Triatomines in dwellings and outbuildings in an endemic area of Chagas disease in northeastern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 45: 701-706.
- Lima MM, Sarquis O, Oliveira TG, Gomes TF, Coutinho C, Daflon-Teixeira NF, Toma HK, Britto C, Teixeira BR, D'Andréa PS, Jansen AM, Bóia MN, Carvalho-Costa FA 2012b. Investigation of Chagas disease in four periurban areas in northeastern Brazil: epidemiological survey in man, vector, non-human hosts and reservoirs. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 106: 143-149.
- Lisboa CV, Dietz J, Baker AJ, Russel NN, Jansen AM 2000. *Trypanosoma cruzi* infection in *Leontopithecus rosalia* at the Reserva Biológica de Poço das Antas, Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 445-452.
- Lisboa CV, Mangia RH, Luz SL, Kluczkovski A Jr, Ferreira LF, Ribeiro CT, Fernandes O, Jansen AM 2006. Stable infection of primates with *Trypanosoma cruzi* I and II. *Parasitology* 133: 603-611.

Lorosa ES, Santos CM, Juberg J 2008. Foco da doença de Chagas em São Fidélis, no Estado do Rio de Janeiro. *Rev Soc Bras Med Trop* 41: 419-420.

Lorosa ES, Valente MVM, Cunha V, Lent H, Juberg J 2003. Foco da doença de Chagas em Arcádia, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 885-887.

Macedo VO 1997. Forma indeterminada da doença de Chagas. In *Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral*, 1ª ed., Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, p.135-151.

Macedo AM, Martins MS, Chiari E, Pena SD 1992. DNA fingerprinting of *Trypanosoma cruzi*: a new tool for characterization of strains and clones. *Mol Biochem parasitol* 55: 147-153.

Marengo JA, Alves LM 2005. Tendências hidrológicas da bacia do rio Paraíba do Sul. *Rev Bras Meteorol* 20: 215-226.

Meira ND, Hasslocher-Moreno AM, Barbosa DP, Megale EZ, Mendes SQ, Barbosa GMS 2012. Aspectos epidemiológicos da doença de Chagas em relação aos pacientes atendidos de 1986 a 2010 no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas – IPEC- Fiocruz/RJ/Brasil. *Rev Ciênc Tecnol* 12: 25-33.

Menezes M, Rocha A, Silva AC, Silva AM 1989. Causas básicas de morte em chagásicos idosos. *Arq Bras Cardiol* 52: 75-78.

Moncayo A, Silveira AC 2009. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104 (suppl. I): 17-30.

Moraes-Souza H, Silva MMF 2011. O controle da transmissão transfusional. *Rev Soc Bras Med Trop* 44 (supl. II): 64-67.

Muñoz J, Coll O, Juncosa T, Vergés M, Del Pino M, Fumado V, Borsch J, Posada EJ, Hernandez S, Fisa R, Buguña JM, Gállego M, Sanz S, Portús M, Gascón J 2009. Prevalence

and vertical transmission of *Trypanosoma cruzi* infection among pregnant Latin American women attending 2 maternity clinics in Barcelona, Spain. *Clin Infect Dis* 48: 1736-1740.

Negrette OS, Mora MC, Basombrío MA 2005. High prevalence of congenital *Trypanosoma cruzi* infection and family clustering in Salta, Argentina. *Pediatrics* 115: e668-672.

Neiva A 1914. Presença em uma localidade do Estado do Rio de um novo transmissor da moléstia de Chagas encontrado infectado em condições naturais (Nota prévia). *Brasil Med* 28: 333-335.

Neiva A, Pinto C 1922. De um novo hemíptero brasileiro (*Triatoma fluminensis* nov. sp.). *Brasil Med* 36: 402-403.

Neiva A, Pinto C 1923. Dos reduvídeos hematófagos encontrados no Distrito Federal e Estado do Rio de Janeiro com descrição de uma espécie nova. *Brasil Med* 37: 45-47.

OPS (Organización Panamericana de la Salud) 2007. Informe de la consulta técnica sobre información, Educación y comunicación (IEC) en enfermedad de Chagas congénita, Montevideo, Uruguay, p.1-13.

Ostermayer AL, Passos ADC, Silveira AC, Ferreira AW, Macedo V, Prata AR 2011. O inquérito nacional de soroprevalência de avaliação do controle da doença de Chagas no Brasil (2001-2008). *Rev Soc Bras Med Trop* 44 (supl. II): 108-121.

Pena S 2009. Mal de Chagas: a misteriosa doença de Darwin. *Revista Ciência Hoje on line*, coluna Deriva Genética. Disponível em: <http://cienciahoje.uol.com.br/colunas/deriva-genetica/mal-de-chagas-a-misteriosa-doenca-de-darwin>

Pereira KS, Schmidt FL, Guaraldo AMA, Franco RMB, Dias VL, Passos LAC 2009. Chagas' disease as a foodborne illness. *J Food Prot* 72: 441-446.

Pereira R 2011. Aspectos ecodopplercardiográficos na doença de Chagas. *Rev Bras Ecocardiogr Imagem Cardiovasc* 24: 84-88.

Perez AA, Ribeiro ALP, Barros MVL, Sousa MR, Bittencourt RJ, Machado FS, Rocha MOC 2003. Valor do estudo radiológico do tórax no diagnóstico de disfunção ventricular esquerda na doença de Chagas. *Arq Bras Cardiol* 80: 2002-207.

Pinto AFS, Santos UM, Zaganelli FL, Almeida AZ, Carrancho PV 1969. Doença de Chagas no estado do Espírito Santo. VI – Observações sobre o *Triatoma vitticeps* vetor do Tripanosoma tipo Cruzi no município de Alfredo Chaves, ES. *Rev Soc Bras Med Trop* 3: 53-54.

Ponce C 2007. Current situation of Chagas disease in Central America. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102 (suppl. 1): 41-44.

Pontes VMO, Souza AS Jr, 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. *Rev Soc Bras Med Trop* 43: 182-187.

Prata A, Macedo V 1984. Morbidity of Chagas' heart disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 79 (suppl.) 93-96.

Rassi A Jr, Rassi A, Marin-Neto JA 2010. Chagas disease. *Lancet* 375: 1388-1402.

Rassi A Jr, Rassi SG, Rassi A 2001. Sudden death in Chagas' disease. *Arq Bras Cardiol* 76: 86-96.

Rezende JM 1997. O aparelho digestivo na doença de Chagas – aspectos clínicos. In *Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral*, 1ª ed., Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, p.153-176.

Ribeiro-dos-Santos G, Nishiya AS, Sabino EC, Charmone DF, Saez-Alquezar A 1999. An improved, PCR-based strategy for the detection of *Trypanosoma cruzi* in human blood samples. *Am Trop Med Parasitol* 93: 689-694.

Ribeiro SM, Morceli J, Gonçalves RS, Franco RJS, Habermann F, Meira DA, Matsubara BB 2012. Acurácia da radiografia de tórax associada a eletrocardiograma no diagnóstico da hipertrofia em hipertensos. *Arq Bras Cardiol* 2012 (on line): p.1-9.

Rodrigues da Silva J, Coura JR, Queiroz G 1961. Investigação s obre a doença de Chagas no estado da Guanabara. Inquérito sorológico entre doadores de sangue e doentes do ambulatório. *Arq Bras Med* 51: 35-38.

Rozas M, De Doncker S, Adauı V, Coronado X, Barnabé C, Tibyarenc M, Solari A, Dujardin JC 2007. Multilocus polymerase chain reaction restriction fragment-length polymorphism genotyping of *Trypanosoma cruzi* (Chagas disease). *J Infect Dis* 195: 1381-1388.

Sangenis LHC, Fernandes FA, Georg I, Sarquis O, Roque ALR, Xavier SC, Hasslocher-Moreno AM, Brasil PEAA, Lima MM, B ia MN 2012. Chagas disease in Guarani, a rural village within São Sebastião do Alto municipality in the state of Rio de Janeiro, Brazil: An eco-epidemiological and serological survey. *Annals of XVIII International Congress for Tropical Medicine and Malaria and XLVIII Congress of the Brazilian Society of Tropical Medicine*, v.1. p.375.

Santos CB, Ferreira AL, Leite GR, Ferreira GEM, Rodrigues AAF, Falqueto A 2005. Peridomestic colonies of *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) infected with *Trypanosoma cruzi* in rural areas of the state of Espírito Santo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100: 471-473.

Santos CB, Leite GR, Ferreira GEM, Ferreira AL 2006a. Infecção natural de *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) por flagelados morfologicamente semelhantes   *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) no Estado do Espírito Santo. *Rev Soc Bras Med Trop* 39: 89-91.

Santos CB, Leite GR, Sessa PA, Falqueto A 2006b. Dynamics of feeding and defecation in *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) and its potential in the transmission of *Trypanosoma cruzi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101: 543-546.

Santos UM, Murad V, Chapadeiro E, Lima FEP 1969c. Doença de Chagas no estado do Espírito Santo. IV- Primeiro caso diagnosticado no município de Rio Novo do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop* 3: 52-53.

Santos UM, Pinto AFS, Almeida AZ, Zaganelli FL, Carrancho PV, Netto NA 1969b. Doença de Chagas no estado do Espírito Santo. III – Vetores do *Tripanosoma*. *Rev Soc Bras Med Trop* 3: 51-52.

Santos UM, Pinto AFS, Zaganelli FL, Almeida AZ, Martins A, Carrancho PV, Vieira HJ 1969a. Doença de Chagas no estado do Espírito Santo. II – Inquérito sorológico. *Rev Soc Bras Med Trop* 3: 51.

Santos VM, Cunha SFC, Teixeira VPA, Monteiro JP, Santos JAM, Santos TAM, Santos JAM, Santos TAM, Santos LAM, Cunha DF 1999. Frequência de diabetes *melittus* e hiperglicemia em mulheres chagásicas e não-chagásicas. *Rev Soc Bras Med Trop* 32: 489-496.

Sarquis O, 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. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 263-270.

Sasaki RA, Guariento ME 2003. Triagem de pacientes chagásicos em um serviço de referência na perspectiva de gênero, evolução quanto à idade e fonte de encaminhamento. *Rev Soc Bras Med Trop* 36 (supl. II): 66-67.

SBC (Sociedade Brasileira de Cardiologia) 2004. Diretriz para indicações e utilização da ecocardiografia na prática clínica. *Arq Bras Cardiol* 82 (supl. II): 11-34.

SBC (Sociedade Brasileira de Cardiologia) 2011. I Diretriz latino-americana para o diagnóstico e tratamento da cardiopatia chagásica. *Arq Bras Cardiol* 97 (supl. 3): 1-64.

Schmunis GA 1999. Prevention of transfusional *Trypanosoma cruzi* infection in Latin America. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94 (supl. I): 93-101.

Schmunis GA 2007. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102 (supl. I): 75-85.

SEBRAE-RJ (Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas) 2011. Informações socioeconômicas do estado do Rio de Janeiro, *SEBRAE-RJ*, Rio de Janeiro, 29 p.

Sessa PA, Carias VRD 1986. Infecção natural de triatomíneos do Espírito Santo por flagelados morfologicamente semelhantes ao *Trypanosoma cruzi*. *Rev Soc Bras Med Trop* 19: 99-100.

Sessa PA, Pimentel RR, Ferreira AL, Falqueto A 2002. Soroprevalência da doença de Chagas em crianças em idade escolar do Estado do Espírito Santo, Brasil, 1999-2000. *Cad Saúde Pública* 18: 1765-1769.

Shikanai-Yasuda MA, Marcondes CB, Guedes LA, Siqueira GS, Barone AA, Dias JCP, Amato-Neto V, Tolezano JE, Peres BA, Arruda ER Jr, Lopes MH, Shiroma M, Chapadeiro E 1991. Possible oral transmission of acute Chagas' disease in Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 33: 351-357.

Siciliano APRV, Hasslocher-Moreno A, Sousa AS, Brasil PEAA, Holanda MT, Garcia MY, Xavier SS 2006. Padrão da função diastólica e relação com a gravidade da forma clínica em 902 pacientes na fase crônica da doença de Chagas. *Rev SOCERJ* 19: 74-83.

Silva MA, Nai GA, Rosa JA 2006. Caracterização biológica e molecular de quatro cepas de *Trypanosoma cruzi* isoladas de pacientes na fase crônica, forma cardíaca da doença de Chagas. *Rev Patol Trop* 35: 213-226.

Silveira AC 1985. O programa de controle da doença de Chagas no Brasil. *Ann Soc Belge Méd Trop* 65 (suppl. 1): 137-148.

Silveira AC, Dias JCP 2011. O controle da transmissão vetorial. *Rev Soc Bras Med Trop* 44 (supl. II): 52-63.

Silveira AC, Feitosa VR, Borges R 1984. Distribuição de triatomíneos capturados no ambiente domiciliar, no período de 1975/83, Brasil. *Rev Brasil Malariol D Trop* 36: 15-312.

Silveira AC, Sakamoto T, Faria-Filho OF, Gil HSG 1982. Sobre o foco de triatomíneos domiciliados na Baixada Fluminense. *Rev Brasil Malariol D Trop* 34: 50-58.

Siqueira AF 1960. Estudos sobre a reação de precipitina aplicada à identificação de sangue ingerido por triatomíneos. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 2: 41-53.

Soffiati A 2004. Meio Ambiente, município de São Fidélis. (homepage). Disponível em: <http://www.saofidelisrj.com.br/municipio/Meio-Ambiente>

Souza RCM, Diotaiuti L, Lorenzo MG, Gorla DE 2010. Analysis of the geographical distribution of *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) based on data species occurrence in Minas Gerais, Brazil. *Infect Genet Evol* 10: 720-726.

Souza RCM, Soares AC, Alves CL, Lorosa ES, Pereira MH, Diotaiuti L 2011. Feeding behavior of *Triatoma vitticeps* (Reduviidae: Triatominae) in the state of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 106: 16-22.

SVS (Secretaria de Vigilância em Saúde), Ministério da Saúde 2005. “Consenso Brasileiro em doença de Chagas”. *Rev Soc Bras Med Trop* 38 (supl. III): 1-29.

SVS (Secretaria de Vigilância em Saúde), Ministério da Saúde 2007. Doença de Chagas aguda por transmissão oral. *Nota técnica*, 09/out/2007. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nota_chagas_091007.pdf

Teicholz LE, Kreulen T 1976. Problems in echocardiographic volume determinations: echocardiographic correlations in the presence or absence of asynergy. *Am J Cardiol* 37: 7-11.

Uranga N, Herranz E 2003. Chagas: enfermedad silenciosa y silenciada. *Carta med AIS Bolivia* 18: 50-53.

Valente SAS, Valente VC, Faiha-Neto H 1999. Considerations on the epidemiology and transmission of Chagas disease in Brazilian Amazon. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94 (suppl. I): 395-398.

Valente VC 2011. Estudo genotípico de *Trypanosoma cruzi*: epidemiologia e caracterização molecular de isolados do homem, triatomíneos e mamíferos silvestres do Pará, Amapá e Maranhão. Tese (Doutorado), *Inst Ciênc Biol*, Universidade Federal do Pará, 163 p.

Vallejo GA, Ghul F, Chiari E, Macedo AM 1999. Species specific detection of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* in vector and mammalian hosts by polymerase chain reaction amplification of kinetoplast minicircle DNA. *Acta Trop* 72: 203-212.

Vinhaes MC, Dias JCP 2000. Doença de Chagas no Brasil. *Cad Saúde Pública* 16 (supl. 2): 7-12.

Wendel S 1997. Doença de Chagas transfusional. In *Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral*, 1ª ed., Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, p.411-427.

Westenberger SJ, Barnabé C, Campbell DA, Sturm NR 2005. Two hybridization events define the population structure of *Trypanosoma cruzi*. *Genetics* 171: 527-543.

WHO (World Health Organization) 2007. Consultation on international biological reference preparations for Chagas diagnostic tests. *Who*, Geneva, p.1-25.

WHO (World Health Organization) 2012. Research priorities for Chagas disease, human African trypanosomiasis and leishmaniasis. *Who Technical Report Series 975*, Geneva, p 1-116.

Wikipédia – A enciclopédia livre. Geografia do Rio de Janeiro. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Geografia_do_Rio_de_Janeiro#Clima

Xavier SS, Haffner P, Sousa AS, Holanda MT, Castro PHR, Brasil PEAA, Hasslocher-Moreno A 2007. Mecanismos de morte e grau de acometimento miocárdico na fase crônica da doença de Chagas. *Rev SOCERJ* 20: 133-139.

Xavier SS, Sousa AS, Albajar-Viñas P, 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. *Rev Soc Bras Med Trop* 39: 211-216.

Xavier SS, Sousa AS, Brasil PEAA, Gabriel FG, Holanda MT, Hasslocher-Moreno A 2005. Aneurisma apical na fase crônica da doença de Chagas: prevalência e valor prognóstico em uma coorte urbana de 1053 pacientes. *Rev SOCERJ* 18: 351-356.

Yadon ZE, Schmunis GA 2009. Congenital Chagas disease: estimating the potencial risk in the United States. *Am J Trop Med Hyg* 81: 927-933.

Zeledón R, Rabinovich JE 1981. Chagas' disease: an ecological appraisal with special emphasis on its insect vectors. *Am Rev Entomolol* 26: 101-133.

Zingales B, Andrade SG, Briones MRS, Campbell DA, Chiari E, Fernandes O, Guhl F, Lages-Silva E, Macedo AM, Machado CR, Miles MA, Romanha AJ, Sturm NR, Tibayrenc M, Schijman AG 2009. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104: 1051-1054.

Zingales B, Miles MA, Campbell DA, Tibayrenc M, Macedo AM, Teixeira MMG, Schijman AG, Llewellyn MS, Lages-Silva E, Machado CR, Andrade SG, Sturm NR 2012. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infect Genet Evol* 12: 240–253.

ANEXO 1

Aspectos clínicos e epidemiológicos da doença de Chagas em pacientes do IPEC/FIOCRUZ naturais do estado do RJ.

Formulário clínico e epidemiológico

Data do cadastro: __/__/____

Identificação e origem do paciente:

Nome: _____ PT _____
DN: __/__/____ Cor: _____ Sexo: _____ Naturalidade: Cidade _____
Bairro _____ Área rural _____ (S/N)
Profissão: _____ Ocupação: _____
Endereço Atual: _____
Área rural _____ (S/N) Há quanto tempo deixou a área rural: _____
CEP: _____ Tel: _____
Há quanto tempo sabe que tem a doença: _____ Descobriu de que forma:

Forma de Exposição:

Habitou em área rural: _____ (Sim/Não/Ignorado) Município/UF _____
Data: _____ Tempo: _____ Morou em casa de pau-a-pique _____
Conheceu o Barbeiro onde morou: _____
Viajou ou viaja para áreas rurais: _____ Se sim, onde _____

Mãe do paciente: natural de (município/UF): _____ Portadora de DC: _____ Fez teste sorológico: _____
Tem irmãos com doença de Chagas _____

Já recebeu transfusão de sangue, hemoderivados e órgãos: _____ Se sim, quando _____ e onde _____

Consumiu, consome, manipulou ou preparou carne de caça (gambá, tatu, roedores, etc.) _____ Qual animal _____

Consumiu ou consome caldo de cana, açaí da Jussara ou outros produtos colhidos artesanalmente: _____ Qual produto _____

Caracterização clínica, laboratorial e evolução:

Classificação inicial:

Forma Indeterminada: _____

Forma cardíaca: _____ Se sim, classificação: _____

Insuficiência Cardíaca: _____

Megaesôfago: _____ Se sim Grau: _____ (ou Ign)

Megacólon: _____ Se sim Grau: _____ (ou Ign)

Houve evolução da forma de apresentação da doença: _____ Forma de classificação atual: _____

Doenças associadas: _____ (S/N) Qual? _____

Manifestações clínicas de DC: _____ (S/N) Qual? _____

Sorologia inicial: Ano: _____ Métodos e resultados: _____

Sorologia (última ou atual): Ano: _____ Métodos e resultados: _____

Xenodiagnóstico / data(s) / resultado(s): _____

Cultura para *T. cruzi* / data(s) / resultado(s): _____

Padrão do ECG inicial: _____

Padrão do ECG final ou atual: _____

Padrão do ECO inicial: _____

Padrão do ECO final ou atual: _____

RX do tórax contrastado inicial / data / resultado: _____

EDA data / resultado _____

Colonoscopia data / resultado _____

Implantou MP / ano _____ Implantou desfibrilador / ano: _____

Sofreu AVC / ano: _____ Fez correção cirúrgica do tubo digestivo / ano / qual: _____

Medicamentos cardiológicos utilizados: _____

Medicamentos para alterações digestivas: _____

Fez tratamento anti-*T. cruzi*: _____ (S/N/Ign) Qual(is) medicamento: _____

Tempo de tratamento: _____ Período de tratamento: _____

Interrompeu por: _____

Houve critérios de cura sorológica: _____ (S/N/Ign)

Desfecho do paciente: Abandono _____ Óbito _____ Em seguimento _____ Data da última consulta: __/__/____

Data do óbito: _____ Causa da morte _____

ANEXO 2

Obtenção do DNA de T.cruzi.

O DNA do T.cruzi foi obtido, a partir de 5mL de amostras de sangue total dos pacientes coletadas em EDTA, através de Kits comerciais (QIAamp DNA Blood Mini Kit - marca QIAGEN) segundo instruções do fabricante.

Amplificação das regiões do cinetoplasto do T.cruzi.

Após a extração, o DNA foi submetido à **amplificação** utilizando oligonucleotídeos desenhados para a região do **cinetoplasto (K-DNA)** do T. cruzi, que hibridizam na região dos blocos conservados do K-DNA (gi:14270) gerando um fragmento de aproximadamente 288pb.

A reação de PCR consistiu em 20ul de volume final, com 5ul de DNA template (90 ng), 2,0ul de PCR buffer (10x), 0,6 ul de MgCl₂ (50Mm), 2,0ul de dNTP (2mM), 1ul de LIKEP1 (10 pmoles/μl), 1ul de LIKE P22 (10 pmoles/μl), 1ul de LIKEP3 (10pmoles/ul) e 1ul de LIKE P4 (10 pmoles/μl), respectivamente e 0,4 ul de Taq DNA Polymerase Platinum (Invitrogen®) (5U/ul).

As seguintes condições de termociclagem foram utilizadas: denaturação inicial a 95°C por 5 min, seguido por 35 ciclos de denaturação a 95°C por 1 min, hibridização a 65°C por 1 min, extensão a 72°C por 1min e síntese final a 72°C por 8 min.

Interpretação do Teste

A amplificação dos fragmentos das regiões estudadas, DNA do cinetoplasto (k-DNA) e DNA nuclear (n-DNA) do T. cruzi, foi verificada através de eletroforese realizada em gel de agarose à 2%, utilizando um padrão de peso molecular (100 bp) para comparação dos tamanhos de fragmentos esperados. A amplificação do DNA é confirmada pela presença de “bandas” de DNA coradas com brometo de etídeo e visualizadas sob luz ultravioleta. (fig 1)

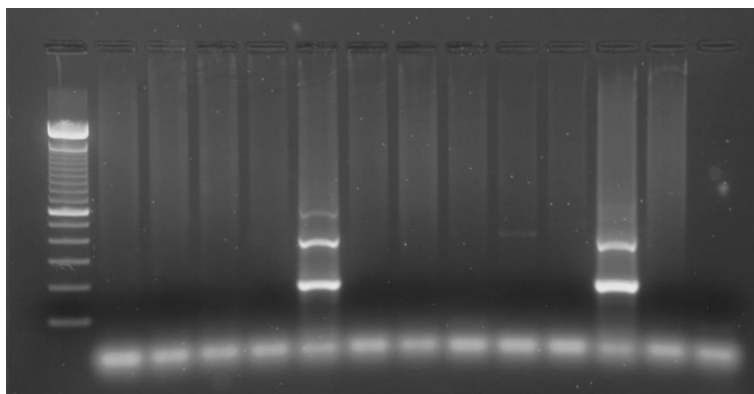


Fig 1: Gel de Agarose a 2%, Linha 1, 100pb (marcador de peso molecular); linha 12 - controle positivo (DNA de amostra de paciente com diagnóstico confirmado de Doença de Chagas Crônico; linha13, controle negativo (DNA genômico de paciente negativo para o diagnóstico de Doença de Chagas); linha 14, controle de mix da PCR.

ANEXO 3

Extração de DNA

A extração de DNA foi realizada em parasitos de cultura em fase logarítmica de crescimento e em amostras de plasma dos pacientes usando o protocolo de fenol-clorofórmio (Macedo et al. 1992) no Laboratório de Biologia de Tripanossomatídeos (LabTrip).

Caracterização molecular

Amplificação do k-DNA

A **amplificação por PCR da região variável do k-DNA** foi realizada usando os primers S35 e S36. Essa região gera produtos de tamanhos distintos para *T. cruzi* e *T. rangeli*. DNA de *T. cruzi* gera amplicons de 330 pares de base (pb) e de *T. rangeli* gera amplicons de 300 a 450 pb além do amplicon de 760 pb (Vallejo et al. 1999).

Genotipagem do *T. cruzi*

O algoritmo seguido no Labtrip para genotipagem foi realizado nesse estudo, que consta de uma primeira etapa de **amplificação do gene de minixon** segundo o protocolo de Fernandes et al. 2001. Essa técnica identifica os grupos de genótipos de *T. cruzi* pelo tamanho do fragmento, sendo, TcI(200pb), TcII/TcV/TcVI (250pb) e TcIII/TcIV (150pb). Além disso, essa técnica permite detectar a presença concomitante de mais de um genótipo na amostra. Com exceção da presença única de TcI, os demais resultados requerem mais uma etapa de genotipagem.

Seguindo o algoritmo, a etapa seguinte foi a utilização da **técnica de PCR-RFLP** com a amplificação de dois genes nucleares seguida da digestão dos produtos amplificados com enzimas de restrição. Nesse esquema, utilizamos o gene histona 3/enzima AluI (Westenberger et al. 2005) que discrimina TcII e os híbridos TcV/TcVI, e o gene gp72/enzima TaqI (Rozas et al. 2007) que discrimina híbridos TcV e TcVI.

ANEXO 4

Reação em cadeia da polimerase (PCR) pela técnica multiplex do gene do mini-exon descrita por Fernandes et al. (2001) e adaptada por Silva et al. (2006).

Para obter a amplificação foram utilizados como *primers* um pool de três oligonucleotídeos: 5'-ACACTTTCTGTGGCGCTGATCG-3' (**TC1** - específico para o grupo I); 5'-TTGCTCGCACACTCGGCTGCAT-3' (**TC2** - específico para o grupo II); e 5'-TACCAATATAGTACAGAAACTG-3' (**ME** - comum a todos os grupos).

As concentrações dos reagentes são as preconizadas no artigo (Silva et al. 2006).

A reação continha 100 pmol de cada *primer* (0,7uL);

dntp's 0,05 uL;

MgCl₂ 2 uL;

Taq DNA polimerase 0,125 uL;

Tampão 5X 5uL;

Volume final da reação: 25uL (adicionar **água para Biomol** q.s.p. 25uL).

As temperaturas e os ciclos da reação o nosso grupo padronizou, de modo que os *primers* funcionassem com cepas conhecidas de *T. cruzi* (TcDM28 para TCI) e TcY para TCII.

Produtos de amplificação com 200 pb caracterizam *T. cruzi* I e 250 pb caracterizam *T. cruzi* II.

ANEXO 5

FIOCRUZ
(Cooperação IPEC- IOC)

INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE DOENÇA DE CHAGAS AUTÓCTONE NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO. (Aspectos clínicos e epidemiológicos da doença de Chagas em pacientes do IPEC/FIOCRUZ naturais do Estado do Rio de Janeiro: investigação das formas de apresentação clínica e de formas de exposição dos casos autóctones.)

Cidade: _____ Bairro: _____
 Endereço: _____ Número _____ N- SMS _____
 Referências - _____ Lat- _____ Long- _____
NÚMERO DA CASA- _____
 Data de preenchimento / / _____ telefones _____

N	Nome	Apelido	sexo	parentesco*	idade	açaí juçara	caldo cana	carne caça#	conh ece- barb eiro	HDA - HAS ?	press ão - arter ial	coleta sangue

* em relação ao responsável pelo domicílio

qual animal:

CONDIÇÕES DE MORADIA

1- Número de cômodos-

2- Número de quartos -

3-Material de construção:

3.1- Paredes

1-Pau-a-pique 2-tijolo 3-madeira 4- palha 5- reboco sim 6- reboco não 7- outros

3.2- teto

1- telha 2- laje 3- amianto 4- palha 5- madeira

3.3- janelas

1- sem telas 2- com telas bom estado 3- com telas mau estado

4- Iluminação

1- Eletricidade 2- gerador 3-lâmpião 4- vela 5- outros

5- criadouro no peridomicílio

0- ausente 1- galinheiro 2- porcos 3- ovinos/caprinos 4- bovinos 5- outros

6- palmeiras no peridomicílio *sim não*

7-madeira no peridomicílio *sim não*

8- Animais no peridomicílio

0 não tem 1- galinhas 2- cães 4-porco- 5- caprinos/ovinos 6- bovinos 7 -outros

9-Destino dos dejetos

1- fossa séptica 2- fossa rudimentar 3- Céu aberto 4- rede de esgoto 5-Córrego 6- outros

10- Banheiro

0- não tem 1- dentro de casa 2- fora de casa

11-Fornecimento de água

1-Encanada 2- poço 3- coleta da chuva 4-resevatórios5- córregos 6- outros

12- Algum familiar portador de DC?

0-não 1- sim (descrever)

13- Alguma pessoa conhecida portadora de DC?

0-não 1- sim - (descrever)

14-Relato de triatomíneos no peri ou no domicílio?

0-não 1- sim (descrever)

15- Capturados triatomíneos no peri ou no domicílio

0-não 1- sim 9- não pesquisado (descrever espécie)

Examinados () Positivos para T. cruzi 0-não 1-sim (descrever)

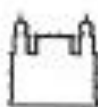
16- Capturados mamíferos silvestres no peridomicílio

Nº e Espécies (descrever

)

17- Observações relevantes:

ANEXO 6



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas



Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO – 016/2011

CAAE 0023.0.009.000-10

1. identificação

Título do Projeto: "Aspectos clínicos e epidemiológicos da doença de Chagas em pacientes do IPEC/FIOCRUZ naturais do estado do Rio de Janeiro: caracterização de formas de apresentação clínica e investigação de formas de exposição ao *Trypanosoma cruzi* dos casos autóctones".

Pesquisador Responsável: Marcio Neves Bóia (IOC).

Doutorando: Luiz Henrique Conde Sangenis.

Instituição Responsável: Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas/Fiocruz.

Data de Apresentação ao CEP: 30/04/2010.

2. Sumário:

Visa a esclarecer as formas de exposição ao *Trypanosoma cruzi* nos pacientes portadores de doença de Chagas naturais do estado do Rio de Janeiro matriculados no IPEC/FIOCRUZ, bem como identificar as formas de apresentação clínica e sua progressão. Tem como objetivos específicos: 1) Caracterizar o perfil clínico-epidemiológico dos pacientes naturais do estado do Rio de Janeiro com diagnóstico de doença de Chagas matriculados no IPEC/FIOCRUZ; 2) Identificar as formas de exposição ao *T. cruzi* nos pacientes naturais do estado do Rio de Janeiro e as áreas/municípios do estado onde haja suspeita de exposição vetorial ou por formas alternativas; 3) Identificar tipos de moradia, conhecimento do vetor da doença, hábitos alimentares e de risco nestes indivíduos como o consumo, manuseio, preparo de carnes de caça de reservatórios conhecidos do *T. cruzi* (gambá, tatu, roedores), assim como a ingestão de bebidas e outros alimentos de forma *in natura* ou artesanal (caldo de cana, açaí da Jussara, etc.); 4) Identificar as espécies de vetores triatomíneos presentes no ambiente domiciliar e extradomiciliar próximo das habitações dos indivíduos afetados e se os mesmos estão infectados com o *T. cruzi*; 5) Identificar a presença do *T. cruzi* em possíveis reservatórios silvestres (gambá, tatu, roedores) que tenham correlação com o ambiente destes indivíduos; 6) Tipificar a linhagem do *T. cruzi* predominantemente nos pacientes e indivíduos infectados correlacionando com a linhagem predominantemente nos vetores e reservatórios silvestres identificados. Este estudo será dividido em quatro etapas com metodologias de investigação distintas: as duas primeiras caracterizadas como um delineamento série de casos e as duas últimas como um seccional de campo (inquérito epidemiológico). 1ª etapa: apuração retrospectiva e descrição de dados registrados nos prontuários médicos para caracterizar aspectos clínicos e epidemiológicos dos pacientes naturais do estado do Rio de Janeiro matriculados no IPEC com

"Aspectos clínicos e epidemiológicos da doença de Chagas em pacientes do IPEC/FIOCRUZ naturais do estado do Rio de Janeiro: caracterização de formas de apresentação clínica e investigação de formas de exposição ao *Trypanosoma cruzi* dos casos autóctones".

diagnóstico de doença de Chagas. 2ª etapa: aplicação de questionário de forma complementar para caracterizar possíveis comportamentos de risco como o consumo, manuseio e preparo de carnes de caça ou a ingestão de bebidas artesanais, particularmente naqueles que não tiverem sua forma de exposição devidamente identificada. 3ª etapa: estudo de campo nas regiões onde provavelmente ocorreu a infecção destes indivíduos para identificar os tipos de moradia, a presença de vetores e de reservatórios do *T. cruzi*. 4ª etapa: coleta de sangue para identificação do *T. cruzi* nos pacientes, inquérito sorológico nos habitantes das áreas investigadas e de material biológico dos vetores e reservatórios encontrados nestas regiões com o objetivo de fazer a caracterização das linhagens predominantes e identificar novos casos de infecção. Estima-se um rastreamento inicial de 800 a 1000 sorologias.

3. Observações Gerais: (Atendendo à Resolução CNS 196/96).

Projeto com delineamento adequado. Foram apresentados dois Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), sendo o primeiro para os pacientes do IPEC naturais do estado do Rio de Janeiro que forem selecionados para a terceira e quarta etapas deste projeto. E o segundo TCLE, para os voluntários que forem incluídos na etapa de estudo de campo e que poderão fazer parte do inquérito sorológico. Será financiado com recursos do POM do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) e do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), ambos da FIOCRUZ.

4. Diligências:

Sim. Foram satisfeitas.

5. Parecer: APROVADO.

Data: 06 de abril de 2011.

Assinatura do Coordenador:



Dr.ª Léa Cassillo-Costa
Coordenadora do Comitê
de Ética em Pesquisa
IPEC / FIOCRUZ

ANEXO 7



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Pesquisa Clínica Evandro Chagas



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO PARA PESQUISA

Aspectos clínicos e epidemiológicos da doença de Chagas em pacientes do IPEC-FIOCRUZ naturais do estado do Rio de Janeiro: caracterização de formas de apresentação clínica e investigação de formas de exposição ao *Trypanosoma cruzi* dos casos autóctones

Responsável: Luiz Henrique Conde Sangenis Telefone: (21) 3865 9648 (21) 9285 6966

Coordenadores: Luiz Henrique Conde Sangenis, Márcio Neves Bóia, Alejandro Marcel Hasslocher Moreno, Marli Maria Lima

Colaboradores: Andréa Silvestre, Sérgio Salles Xavier, Pedro Emmanuel Alvarenga Americano do Brasil, Ingebourg Georg, Fabiano Fernandes, Otília Maria Sarquis, Valdirene dos Santos Lima, Ana Maria Jansen

Problema e objetivo da investigação

Caro Sr/(a), paciente do IPEC-FIOCRUZ,

Estamos convidando-o (a) a participar de uma pesquisa sobre a doença de Chagas para entendermos melhor como a infecção se comporta nas pessoas que adquiriram a doença no estado do Rio de Janeiro, tanto em relação à suas formas de apresentação e evolução clínica quanto às formas de transmissão e exposição ao agente causador, o protozoário *Trypanosoma cruzi*. Esta pesquisa é de suma importância porque o estado do Rio de Janeiro sempre foi considerado pelo Ministério da Saúde e pela Secretaria Estadual de Saúde como área não endêmica da doença. Entretanto, existem cerca de 80 pacientes matriculados em nosso serviço hospitalar com doença de Chagas que são naturais de diversas regiões do estado do Rio de Janeiro e muitos destes não têm a sua forma de infecção esclarecida.

Participação

Informo que participando desta pesquisa a sua rotina de acompanhamento e tratamento não sofrerá mudanças. O senhor (a) terá apenas que responder a um questionário que será aplicado pelo médico assistente do setor onde contereão perguntas referentes ao seu local de nascimento, localização e tipo de habitação onde você residiu durante a sua vida. Presença de animais domésticos, silvestres e de insetos vetores (barbeiros) nestas habitações. Iremos investigar também seus hábitos alimentares, doações e transfusões de sangue realizadas e saber sobre a existência de outras pessoas portadoras da doença em sua família (mãe, irmãos, etc.).

Poderá ser necessária a coleta de 15 ml de sangue para identificação do *Trypanosoma cruzi*. Esta coleta não será diferente dos outros exames de rotina pelos quais o senhor (a) já se submete em seu acompanhamento de rotina. Todos esses procedimentos serão feitos, na medida do possível, no mesmo dia de sua consulta de rotina, evitando deslocamentos extras para o IPEC-FIOCRUZ.

Informo que o fato de não aceitar participar desta pesquisa, não acarretará em qualquer prejuízo inerente ao seu tratamento no serviço hospitalar do IPEC.

Eu, _____, estou sendo convidado (a) a participar como voluntário (a) deste projeto de pesquisa e fui informado de todas as questões inerentes a minha participação. Estou ciente que terei de responder a um questionário com questões relativas às formas de exposição ao agente causador da doença de Chagas, assim como me submeterei a coleta de uma amostra de sangue. Estou ciente que este projeto visa o melhor conhecimento das formas clínicas e de transmissão da doença de Chagas no estado do Rio de Janeiro.

Procedimentos, exames e riscos

Inicialmente o senhor (a) responderá ao questionário e depois será encaminhado para o laboratório do IPEC para coleta do sangue. Apenas uma amostra de sangue será colhida para identificação do *Trypanosoma cruzi* e seguirá a rotina normal de coleta de sangue para exames de análise e rotina no laboratório do IPEC. Nesta amostra poderá ser feita a pesquisa do *T. cruzi* pelo método de Hemocultura e pelo método da PCR. Informo que esta amostra não será utilizada em outras pesquisas sem o seu conhecimento e consentimento prévios e será descartada ao final desta pesquisa. Normalmente não há risco na coleta de sangue, apenas no local da coleta poderá sentir um pouco de dor e ficar arroxeadado, mas desaparecerá em poucos dias sem necessidade de tratamento.

Benefícios e custos

Não será fornecido qualquer tipo de benefício ou vantagem pessoal caso o senhor (a) aceite participar desta pesquisa, entretanto os conhecimentos revelados por este estudo poderá vir a beneficiar outras pessoas em relação à prevenção e ao tratamento da doença de Chagas.

Sigilo e confidencialidade das informações

Informo que todas as informações obtidas nesta pesquisa serão confidenciais e seus dados permanecerão em sigilo e somente terão acesso a estas informações os médicos assistentes do serviço de doença de Chagas do IPEC que participam desta pesquisa. Os resultados finais serão publicados na forma de artigo científico ou em exposições científicas em congressos na área de saúde, mas nenhum dado será divulgado de forma a permitir a sua identificação.

Rio de Janeiro, ___/___/____

Assinatura do Voluntário: _____

ANEXO 8



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
Instituto Pesquisa Clínica Evandro Chagas



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (voluntários da etapa de campo)

Projeto de Pesquisa: Aspectos Clínicos e Epidemiológicos da doença de Chagas em pacientes do IPEC-FIOCRUZ naturais do estado do Rio de Janeiro: caracterização de formas de apresentação clínica e investigação de formas de exposição ao *Trypanosoma cruzi* dos casos autóctones.

Responsável: Luiz Henrique Conde Sangenis Telefone: (21) 3865 9648

Voluntário: _____

Como voluntário, o[a] Sr[a] está sendo convidado[a] a participar de um projeto de investigação científica desenvolvido pela Fiocruz, com o objetivo principal de descrever aspectos epidemiológicos da doença de Chagas na localidade para estabelecer medidas de controle

É importante que o (a) Sr (a) leia ou peça para alguém ler atentamente e compreenda os princípios gerais que se aplicam a todos os participantes:

- A sua participação será inteiramente voluntária,
- A sua saída do projeto pode ser feita a qualquer tempo, sem nenhuma consequência ou prejuízo a sua pessoa.

Problema de saúde objeto da Investigação:

A doença de Chagas é causada pelo parasito chamado *Trypanosoma cruzi*, o qual é transmitido principalmente através de fezes e/ou urina eliminadas durante a picada de insetos triatomíneos chamados também de *barbeiros* ou *chupões*. Os indivíduos que adquirem este parasito podem desenvolver a doença, dias ou anos depois do contato inicial, com manifestações especialmente ligadas ao coração, esôfago e intestinos.

Objetivo da investigação: Descrever aspectos epidemiológicos da doença de Chagas na localidade para auxiliar no estabelecimento de medidas de controle.

Participação: Sua participação consistirá em responder o questionário anexo a este termo e realizar exames de diagnóstico para a doença. As informações obtidas irão contribuir para demonstrar o padrão epidemiológico da endemia Chagásica na localidade.

Exames, procedimentos e agentes terapêuticos que serão utilizados: Para o desenvolvimento desse projeto, estão programados os seguintes procedimentos: resposta de um questionário com algumas perguntas sobre a família, a casa, hábitos alimentares e condições de saúde; coleta de uma gota de sangue da polpa do dedo com material estéril descartável para realização dos seguintes exames: sorologia ou teste rápido para diagnóstico da doença de Chagas. Caso seja identificada a doença de Chagas, o [a] Sr [a] será encaminhado [a] para o IPEC/Fiocruz no Rio de Janeiro para realização de exames confirmatórios e tratamento.

Benefícios: o [a] Sr [a] poderá não obter qualquer benefício pessoal, contudo, o conhecimento adquirido poderá vir a beneficiar outras pessoas.

Inconvenientes: a coleta de sangue pode ser seguida de dor leve no local e pequeno sangramento, mas que passam alguns segundos após o procedimento e não costumam deixar marcas ou complicações.

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

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre a sua participação. Os dados **não** serão divulgados de forma a possibilitar a sua identificação. O resultado final será publicado em forma de artigo científico e será enviado um relatório as autoridades locais.

Declaro estar ciente do inteiro teor deste termo de consentimento, decidindo participar da investigação proposta, depois de ter formulado perguntas e ter recebido respostas satisfatórias a todas elas e ciente de que poderei voltar a fazê-las a qualquer tempo. Declaro dar meu consentimento para participar desta investigação, estando ciente de que este termo permanecerá registrado nos arquivos do Laboratório de pesquisa Clínica em doença de Chagas do IPEC e do Laboratório de Eco-epidemiologia da Doença de Chagas do Instituto Oswaldo Cruz, na cidade do Rio de Janeiro, Brasil.

Assinatura ou impressão digital do voluntário

Local e data

_____/____/____

ANEXO 9

Teste Rápido - DPP® Chagas

Teste rápido qualitativo detecção de anticorpos em soro, plasma e sangue total venoso .

Teste Rápido - DPP® Chagas (material fornecido para 20 determinações)

INDICAÇÃO DE USO:

O teste rápido DPP® Chagas é um teste de triagem imunocromatográfico de uso único para detecção de anticorpos específicos para doença de Chagas em soro, plasma ou sangue total venoso.

O teste é usado para o diagnóstico da doença de Chagas em associação a outros critérios. O Teste Rápido DPP® Chagas é indicado para uso por profissionais de saúde de acordo com as instruções fornecidas.

PRINCÍPIO DO TESTE:

O teste rápido DPP® Chagas emprega uma combinação de proteína A, a qual é conjugada partículas de ouro coloidal e antígenos de *Trypanosoma cruzi* ligados a uma fase sólida (membrana). A amostra é aplicada na posição 1 (poço redondo), em seguida adiciona-se o tampão de corrida. Após a amostra e o tampão terem migrado até a área de teste, adiciona-se tampão de corrida na posição 2 (poço quadrado). O tampão facilita o fluxo lateral dos componentes liberados e promove a ligação dos anticorpos aos antígenos. Se os anticorpos específicos para doença de Chagas estiverem presentes na amostra, eles se ligam a antígenos específicos imobilizados na área TESTE (T). As partículas de ouro coloidal conjugadas migram para a membrana de nitrocelulose e são capturadas pelo complexo antígeno-anticorpo fixado na área TESTE (T) produzindo uma linha roxa/rosa. Na ausência de anticorpos específicos para doença de Chagas a linha roxa/rosa não aparece na área TESTE (T). As partículas conjugadas de ouro que não se ligaram continuam a migrar ao longo da membrana e produz uma linha roxa/rosa na área de CONTROLE (C) contendo proteína A. Este

Uso somente em pesquisa

procedimento de controle serve para demonstrar que as amostras e reagentes foram corretamente aplicados e migraram através do suporte.

MATERIAL FORNECIDO:

Componentes	Apresentação
Suportes contendo antígenos de T cruzie o conjugado de ouro coloidal adsorvidos em membranas especiais	20 suportes
Tampão de corrida	1 Fr. 6mL
Alças coletoras descartáveis (5µL)	20 alças
Lancetas descartáveis	20 lancetas
Manual de instrução de uso	1 unidade

MATERIAL COMPLEMENTAR NÃO FORNECIDO:

- Cronômetro e ou relógio
- Micropipetador calibrado para 5 µL (como alternativa à alça coletora)
- Luvas descartáveis
- Recipiente seguro para descarte de material biológico
- Álcool 70%

CONSERVAÇÃO E ESTOCAGEM DO MATERIAL:

O Kit DPP® Chagas deve ser armazenado ou mantido em temperatura ambiente (2 e 30°C). Recomenda-se a conservação do kit em geladeira somente em locais onde a temperatura ambiente ultrapasse 30°C. Não congele o kit ou os seus componentes. Os envelopes contendo os suportes de teste devem permanecer lacrados até o momento da sua utilização.

CUIDADOS E PRECAUÇÕES:

O DPP® Chagas pode ser realizado em soro, plasma e sangue total venoso .

Somente para uso em diagnóstico *in vitro*.

Este conjunto diagnóstico contém produtos biológicos e químicos podendo representar uma fonte de risco. Ao manusear este conjunto, observe as precauções de biossegurança necessárias.

A qualidade dos resultados obtidos com este conjunto diagnóstico depende do cumprimento das boas práticas de laboratório, tais como:

- O teste deve ser realizado apenas por profissionais de saúde, em conformidade com as Boas Práticas de Laboratório, segundo as instruções contidas neste manual;

- Não realizar mais de 5 testes por vez. Esta conduta reduz falhas no procedimento do teste, bem como na interpretação dos resultados;
- As amostras, assim como outros insumos, devem ser estocadas e manipuladas adequadamente;
- As amostras de sangue devem ser preferencialmente utilizadas imediatamente após a coleta. Caso estas amostras não sejam testadas imediatamente, estas devem ser refrigeradas logo após a coleta, podendo ser usadas em até 3 dias. Não devem ser utilizadas amostras de sangue com mais de 3 dias de armazenagem.
- Amostras de soro ou plasma podem ser conservadas refrigeradas por 3 dias após a coleta, até que sejam utilizadas no teste.
Caso a realização do teste não seja possível dentro deste período, as amostras devem ser congeladas (-20°C ou abaixo);
- Equipamentos de proteção individual (EPI), tais como luvas descartáveis e jaleco, devem ser utilizados em todas as etapas de realização do teste;
- Os testes nunca devem ser utilizados após sua data de validade;
- Componentes ou kits de lotes diferentes nunca devem ser misturados;
- A integridade dos componentes do kit sempre deve ser verificada. Em especial, assegurar-se de que a embalagem dos suportes esteja intacta. Caso algum dos componentes do kit demonstre irregularidade, descartá-lo(s);
- Nunca fracionar os kits.
- Não ler os resultados após o período preconizado para a realização do teste.
- Após o uso, suportes, ponteiras, lancetas, alças coletoras e luvas devem ser descartados como material biológico potencialmente infeccioso.

COLETA DE AMOSTRA:

O Teste Rápido DPP[®] Chagas pode ser realizado com amostras de sangue total, soro ou plasma.

Coletar a amostra obtida a partir de sangue total, soro ou plasma, com a alça coletora descartável, também fornecida no kit. Seguir as instruções de procedimentos do teste.

ATENÇÃO: para o perfeito funcionamento do teste, deverão ser utilizados 5µL de amostra.

- Quando se utilizar micropipetas certifique-se que estejam calibradas e na faixa de trabalho para o volume de 5µL.
- Nunca pingar diretamente o sangue do animal no suporte.
- Nunca aplicar o tampão com o frasco inclinado.

Sangue total: coletar o sangue assepticamente por punção de veia, em tubos contendo EDTA, heparina ou citrato de sódio. Para sangue de punção digital, furar o dedo do paciente com a lanceta fornecida no kit e desprezar a primeira gota.

Soro: É obtido do sangue total coletado assepticamente por punção de veia com um tubo limpo sem anticoagulante. Deixar o sangue coagular a temperatura ambiente. Centrifugar o sangue a 2000rpm, durante 10 minutos, a temperatura ambiente. Separar o soro do coágulo para evitar hemólise.

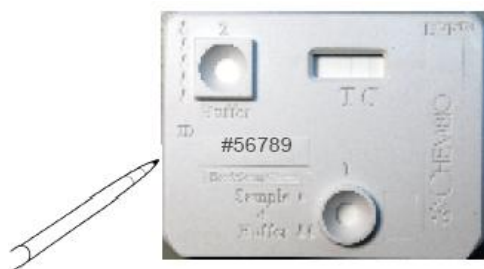
Plasma: coletar o sangue total com anticoagulante, centrifugar a 2000rpm, durante 10 minutos, a temperatura ambiente e separar o plasma sobrenadante.

PROCEDIMENTO DO TESTE PARA SANGUE, SORO OU PLASMA:

Certifique-se que a amostra a ser testada esteja à temperatura ambiente. Caso esteja refrigerada ou congelada, permitir que esta alcance a temperatura ambiente antes de ser testada.

1. Se o Suporte de teste DPP® Chagas embalado e/ou o Tampão de Corrida tiverem sido refrigerados, permitir que atinjam a temperatura ambiente entre 18° e 30°C antes de prosseguir.
2. Retire o número de componentes do kit TESTE DPP® Chagas necessários e coloque sobre uma superfície plana.
3. Identifique o suporte do teste com o nome do indivíduo ou seu número de identificação e com o número do lote do kit do qual o teste foi retirado (Figura 1).

Figura 1



4. Verifique a integridade de todos os componentes e a existência de duas linhas azuis na janela do suporte. Caso contrário descarte o teste.
5. Encoste a alça coletora de 5µL na amostra a ser testada, permitindo que a alça seja preenchida com volume adequado de amostra. Observe que a amostra de sangue total, soro ou plasma migre/escorra da alça para o local do teste quando da adição da amostra ao suporte de

teste no poço redondo #1 (amostra + tampão). Alternativamente, pode-se utilizar micropipetas automáticas, calibradas e ajustadas para 5µL (Figura 2).

Figura 2



6. Vire o frasco de tampão e mantenha na posição vertical (sem inclinar) e adicione lentamente 2 gotas ($\approx 65\mu\text{L}$) de tampão de corrida ao poço redondo #1 (amostra + tampão) (Figura 3).

Figura 3



7. Aguarde por 5 minutos e após adicione 4 gotas ($\approx 135\mu\text{L}$) de Tampão de corrida ao poço quadrado #2 (tampão) (Figura 4).

Figura 4



8. Deixe o teste correr por 10 minutos à temperatura ambiente. Se não houver migração em 3 minutos, descarte o teste.

9. Proceda a leitura do teste em, no máximo, 30 minutos.

Nota: Coloque o suporte, a alça e a lanceta utilizados na realização do teste em um recipiente adequado para descarte de materiais de risco biológico.

CONFIRMAÇÃO DE DESEMPENHO DO TESTE

Ao término do teste, uma linha roxa/rosa aparecerá na área de CONTROLE (C), tanto nas amostras negativas quanto nas positivas. Esta linha serve de controle interno, confirmando o funcionamento adequado do teste.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO:

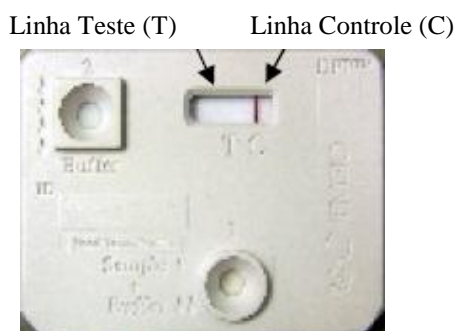
1. O Teste Rápido DPP® Chagas deve ser utilizado com soro, plasma ou sangue total venoso. Outros tipos de amostras de sangue coletadas em tubos contendo anti-coagulantes que não citratos, heparina ou EDTA, podem gerar resultados inadequados. Para amostras de soro, coletar sangue sem anticoagulante.
2. O kit Teste Rápido DPP® Chagas deve ser utilizado segundo as instruções contidas neste manual visando à obtenção de resultados adequados.
3. Proceda a leitura do teste em, no máximo, 30 minutos.
4. Somente abra o envelope contendo o suporte de teste no momento de sua utilização.
5. Um resultado reagente indica a presença de anticorpos anti *Trypanosoma cruzi* na amostra testada.
6. Um resultado não reativo não exclui a possibilidade de exposição ao *Trypanosoma cruzi*.
7. Um paciente infectado com *Trypanosoma cruzi*, que esteja recebendo algum tipo de tratamento pode produzir resultado falso negativo.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO – VISUAL:

Resultados Não Reagentes

Um resultado não reagente é indicado por uma linha roxa/rosa na área de CONTROLE (C), e nenhuma linha na área de TESTE (T). Um resultado não-reagente em 10 minutos indica a ausência de anticorpos específicos para doença de Chagas na amostra (Figura 7).

Figura 7



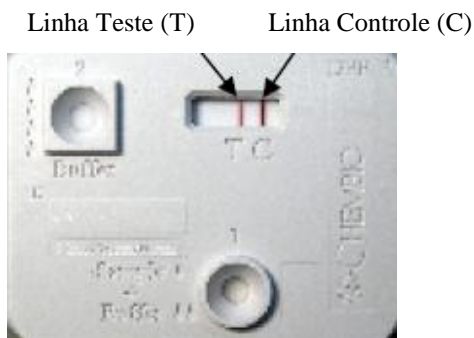
Resultados Reagentes

A detecção de duas linhas roxa/rosa, uma na área de CONTROLE (C) e outra na área de TESTE (T), indica um resultado reagente (Figura 8). A intensidade da linha na área de TESTE (T) varia de claro a muito escura conforme a concentração de anticorpos específicos. Assim, a linha na área de TESTE (T) pode ter aparência diferente da linha na área de CONTROLE (C). Isto não invalida o teste.

Nota 1: Mesmo uma linha fraca na área de TESTE (T) deve ser considerada, indicando um resultado reagente.

Nota 2: Uma linha muito fraca na área TESTE (T) que não permita de forma segura indicar um resultado reagente, deve ser considerada designando o resultado do teste como inconclusivo. Neste caso, repita o teste e persistindo o mesmo padrão, utilize outros métodos para elucidar seu diagnóstico laboratorial.

Figura 8



Resultados Inválidos

Uma linha roxa/rosa deve sempre aparecer na área de CONTROLE (C), não importando se a LINHA TESTE (T) aparece ou não na área devida. Caso uma linha roxa/rosa não seja visível na área de CONTROLE(C), o teste deve ser considerado inválido (Figura 9). Um resultado inválido não pode ser interpretado. Descartar o material e repetir o procedimento com novo suporte de teste.

Figura 9

