



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO-UFOP

ESCOLA DE FARMÁCIA- EFAR



LOURENA TOMAZELLI SUAVE

“CONTROLE DE CURA DE INDIVÍDUOS INFECTADOS
PELO *TRYPANOSOMA CRUZI* RESIDENTES EM UM MUNICÍPIO DO VALE
DO JEQUITINHONHA, MG”.

Ouro Preto, Minas Gerais – Brasil

2021

LOURENA TOMAZELLI SUAVE

“CONTROLE DE CURA DE INDIVÍDUOS INFECTADOS
PELO *TRYPANOSOMA CRUZI* RESIDENTES EM UM MUNICÍPIO DO VALE
DO JEQUITINHONHA, MG”.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Colegiado do Curso de Farmácia da Escola de
Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto,
como requisito parcial para obtenção do grau de
Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Medeiros Teixeira

Coorientador: Doutoranda Fernanda Karoline Vieira
da Silva Torchelsen

Ouro Preto, Minas Gerais – Brasil, 2021.

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

S939c Suave, Lourena Tomazelli.
Controle de cura de indivíduos infectados pelo trypanosoma cruzi
residentes em um município do vale do Jequitinhonha, MG. [manuscrito] /
Lourena Tomazelli Suave. - 2021.
56 f.: il.: color., gráf., tab..

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando de Medeiros Teixeira.
Coorientadora: Ma. Fernanda Karoline Vieira da Silva Torchelsen.
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto.
Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Benznidazol. 2. Chagas, Doença de. 3. Trypanosoma cruzi. 4.
Medicamentos. I. Teixeira, Luiz Fernando de Medeiros. II. Torchelsen,
Fernanda Karoline Vieira da Silva. III. Universidade Federal de Ouro Preto.
IV. Título.

CDU 616.937

Bibliotecário(a) Responsável: Angela Maria Raimundo - SIAPE: 1.644.803



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
ESCOLA DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS



FOLHA DE APROVAÇÃO

Lourena Tomazelli Suave

Controle de cura de indivíduos infectados pelo *Trypanosoma Cruzi* residentes em um município do Vale do Jequitinhonha, MG

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutico Generalista

Aprovada em 17 de dezembro de 2021

Membros da banca

Prof. Dr. Luiz Fernando de Medeiros Teixeira- Orientador- Universidade Federal de Ouro Preto
M.Sc. Fernanda Karoline Vieira da Silva Torchelsen- Co-Orientadora - Universidade Federal de Ouro Preto
Prof. Dr. Girley Francisco Machado de Assis- Universidade Federal de Juiz de Fora
Dra. Nívea Carolina Nogueira de Paiva - Universidade Federal de Ouro Preto

Prof. Dr. Luiz Fernando de Medeiros Teixeira, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 26/01/2022



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Fernando de Medeiros Teixeira, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 26/01/2022, às 11:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0272120** e o código CRC **7EAB7D01**.

Referência: Caso responda este documento, indicar expressamente o Processo nº 23109.012826/2021-41

SEI nº 0272120

R. Diogo de Vasconcelos, 122, - Bairro Pilar Ouro Preto/MG, CEP 35400-000
Telefone: 3135591649 - www.ufop.br

Dedico este trabalho à minha mãe Rosângela, meu pai Pedro, aos meus irmãos, Rondinelli e Sueli, por me ensinarem que o estudo é o melhor caminho para se seguir e que a educação transforma nossas vidas e a vida ao nosso redor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter colocado pessoas em meu caminho que me apresentaram a Universidade Federal de Ouro Preto, em especial, a minha amada irmã Sueli e a amiga Isabela. Agradeço também a minha família, por todo apoio que me foi dado para eu ter chegado até aqui, minha mãe Rosângela, meu pai Pedro, minha madrinha Maria e minha sobrinha Alice. Agradeço a meu amado irmão Rondinelli, por todo apoio e companheirismo. Ao meu namorado Alan e toda sua família, por toda ajuda e presença, amo vocês. Aos meus amigos, Pauliana, Angélica, Cassandra, Lucas, Wanessa e Josiêda, sempre guardarei vocês no meu coração. Aos amigos do GOU, Léo, Maju, Dani, Felipe, Gabi, Letícia, Tati, Luan, Jeneffer, Nicolas, Gisêda. A meu querido amigo e padre Danival, por todas as orações e conselhos. À minha orientadora desde o início da graduação e idealizadora desse projeto, professora e amiga Marta de Lana, a você todo meu carinho, admiração e agradecimento por tudo. À Dr.^a Rosália, pelo auxílio e amizade. Ao grupo PET Farmácia da Universidade de Ouro Preto, responsável por grande parte do meu desenvolvimento durante a graduação. A todos os colegas do LADOC, Eleonora, Fernanda, Tamiles, Mateus, Gabi, Maykon, Rafael, Renata, Júlio, obrigada por todos os ensinamentos. Ao professor Luiz Fernando, pela parceria e amizade. E ao corpo docente da Gloriosa Escola de Farmácia de Ouro Preto, pela formação de excelência que me foi dada.

RESUMO

Nos últimos anos, o grupo de pesquisas do Laboratório de Doença de Chagas, Universidade Federal de Ouro Preto, desenvolveu nos municípios de Berilo e José Gonçalves de Minas, MG, uma das mais importantes áreas endêmicas da doença de Chagas no Brasil, atividades relacionadas ao controle, epidemiologia, diagnóstico, estudos clínicos, tratamento e avaliação pós-terapêutica da doença de Chagas (DCh). No ano de 2002, foram diagnosticados seis crianças entre 8 e 13 anos de idade, com infecção por *Trypanosoma cruzi* em um inquérito sorológico em escolares realizado na região, sendo tratadas com benznidazol (4/6) e nifurtimox (2/6). Um dos maiores desafios da Doença de Chagas é avaliar o impacto do tratamento etiológico nos parâmetros clínicos e laboratoriais dos pacientes a longo prazo e determinar a cura. Tendo em vista a grande possibilidade de sucesso terapêutico do tratamento etiológico na infecção crônica recente e seu potencial benefício na evolução clínica da doença de Chagas, a proposta deste trabalho foi dar continuidade a avaliação pós-tratamento destes pacientes. Os pacientes foram avaliados entre 2005 e 2019. Para avaliação laboratorial foram realizadas hemocultura (HC), reação em cadeia da polimerase (PCR) e sorologia convencional (Enzyme- Linked Immunosorbent-Assay (ELISA). A avaliação clínica consistiu em: anamnese, eletrocardiograma, raio-X do tórax, e ecocardiograma. Os resultados das técnicas parasitológicas (HC e PCR) e sorológicas indicaram sucesso terapêutico (cura) do tratamento 16 anos pós-tratamento em dois pacientes (795 e 817), segundo o critério clássico de cura. Os pacientes 806 e 829 mostraram negatificação dos exames parasitológicos, os exames sorológicos foram de mais baixa reatividade, e com queda progressiva até 6,5 anos pós-tratamento, sugestivos de processo de cura em curso. Os pacientes 855 e 1661 apresentaram ao longo do tempo exames parasitológicos repetidamente positivos, títulos sorológicos mais elevados, mas com drástica redução nas últimas avaliações. Apenas o paciente 1661 apresentou evolução clínica ao longo do tempo, demonstrando assim que o tratamento administrado em infecções recentes (< 14 anos) leva a estabilidade clínica ou cura da infecção. O conjunto dos dados indicam a necessidade de avaliação futura destes pacientes para acompanhar sua evolução clínica e/ou sucesso terapêutico.

Palavras-chave: Avaliação pós-tratamento. Benznidazol. Doença de Chagas.

ABSTRACT

In recent years, the research group of the Chagas Disease Laboratory, Federal University of Ouro Preto, MG, developed in the municipalities of Berilo and José Gonçalves de Minas, MG, one of the most important endemic areas of Chagas disease in Brazil, activities related to the control, epidemiology, diagnosis, clinical studies, treatment and post-therapeutic evaluation of Chagas disease. During this period, six children, 8 to 13 years old were diagnosed with *T. cruzi* infection in 2002, in a serological investigation in schoolchildren carried out, being treated with benznidazole and nifurtimox (2/6). One of the greatest challenges of Chagas disease is to assess the impact of the etiological treatment on the long-term clinical and laboratory parameters and detect the cure of the patients. Considering the great possibility of therapeutic success of the etiological treatment in recent chronic infection and its potential benefit in the clinical evolution of Chagas disease, the proposal of this study was to continue the post-treatment evaluation of these patients. The study patients were obtained between 2005 and 2019. For laboratory evaluation, hemocultures (HC), polymerase chain reaction (PCR), and conventional serology (Enzyme-Linked Immunosorbent-Assay (ELISA) were performed. The clinical evaluation consisted of anamnesis, electrocardiogram, chest X-ray, and echocardiogram. The results from the analysis of the parasitological techniques (HC and PCR) and serology indicated the therapeutic success (cure) of two patients (795 and 817)16 years after treatment according to the classic criterion of cure. Patients 806 and 829 showed persistent negative parasitological tests, serological tests with lower reactivity, and progressive decline of the reactivity up to 6.5 years after treatment, suggestive of an ongoing healing process. Patients 855 and 1661 aggregated over time repeatedly positive parasitological tests, serological titers were higher, but with a drastic reduction in the last (855) evaluation(s) (1661). Together, the results showed that the etiological treatment of Chagas disease in recent infections (<14 years) leads to clinical stability and clinical evolution over time and the progressive possibility of cure demonstration. The data set indicates the need for future assessment of these patients in order to verify their clinical evolution and/or therapeutic success.

Key-words: benznidazole. Chagas disease. Post-treatment evaluation

Sumário

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 TRATAMENTO DA DOENÇA DE CHAGAS	13
1.2 CONTROLE DE CURA DA DOENÇA DE CHAGAS	16
1.3 DOENÇA DE CHAGAS EM BERILO	19
2 JUSTIFICATIVA.....	21
3 OBJETIVOS	22
3.1 OBJETIVO GERAL	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
4 MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1 ÁREA DO ESTUDO	23
4.2 LOGÍSTICA DE RECRUTAMENTO DOS PACIENTES	23
4.3 PACIENTES	23
4.4 AVALIAÇÕES LABORATORIAIS PÓS-TRATAMENTO.....	24
4.4.1 Testes parasitológico e parasitológico molecular	24
4.4.1.1 Hemocultura (HC).....	24
4.4.2 Teste sorológico convencional	26
4.4.2.1 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)	26
4.5 CRITÉRIO DE CURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS	27
4.6 AVALIAÇÃO CLÍNICA.....	28
4.6.1 Avaliação da evolução da doença	28
4.6.2 Eletrocardiograma	29
4.6.3 Avaliação radiológica do tórax	29
4.6.4 Ecodopplercardiograma	29
4.6.5 Identificação do comprometimento miocárdico e estadiamento da cardiopatia chagásica crônica.....	30
4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	31
4.8 FOLDER INFORMATIVO SOBRE DOENÇA DE CHAGAS	31
5 RESULTADOS.....	33
5.1 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA TERAPÊUTICA	33
5.1.1 Técnicas parasitológicas (Hm e PCR)	33
5.1.2 Avaliação sorológica.....	34
5.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS PACIENTES	35
5.2.1 Avaliação clínico-cardiológica dos pacientes	36
5.3 FOLDER INFORMATIVO SOBRE DOENÇA DE CHAGAS	37

6 DISCUSSÃO	40
7 CONCLUSÕES	45
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
9 ANEXOS	57

1 INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DCh) descoberta e descrita por Carlos Chagas em 1909, é considerada uma doença negligenciada, constituindo na América Latina um sério problema de saúde pública (HOTEZ et al., 2007; SCHMUNIS & YADON, 2010; WHO, 2017). Seu agente etiológico é o protozoário *Trypanosoma cruzi*, cujo ciclo biológico alterna entre hospedeiros invertebrados (triatomíneos vetores da família *Reduviidae*) e vertebrados de diversas ordens, incluindo o homem. A transmissão da DCh para os seres humanos ocorre pelos mecanismos principais (vetorial, transfusão sanguínea, oral, congênita e pelo canal do parto) e secundários (acidentes de laboratório, manuseio de ingestão de carne crua de animais infectados, transplante de órgãos de doadores infectados, transmissão sexual e, excepcionalmente, por meio de infecção induzida ou criminal) (COURA, 2015). A DCh é dividida em duas fases: a fase aguda, inaparente em 90% dos casos, com duração de 6 a 8 semanas, e os parasitos podem ser detectados diretamente no sangue periférico do indivíduo infectado. Após a fase aguda, o indivíduo pode evoluir naturalmente para a fase crônica, que é caracterizada pela dificuldade de detecção do parasito no sangue periférico e desaparecimento dos sintomas da fase aguda.

A fase crônica da doença de Chagas está subdividida nas formas clínicas: indeterminada ou assintomática, cardíaca e digestiva (RASSI et al, 2010). A maioria dos indivíduos (50-70%) desenvolve a forma indeterminada da doença crônica, caracterizada por um longo período assintomático que pode durar por toda a vida. Entretanto, mesmo após um longo período assintomático, 25% dos indivíduos podem desenvolver a forma cardíaca da doença, 6% a forma digestiva e 3% podem sofrer envolvimento do sistema nervoso periférico (COURA 1983, 1985); ressalta-se ainda que uma certa proporção de chagásicos crônicos apresenta a forma mista da doença, que corresponde a associação da forma cardíaca e digestiva (REZENDE, 1997).

A maioria dos casos agudos que não são tratados, evoluem para a forma clínica indeterminada, caracterizada pela sorologia positiva com ou sem exames parasitológicos positivos para *T. cruzi*, ausência de sintomas e/ou sinais da doença, eletrocardiograma convencional normal e estudos radiológicos do coração, esôfago

e cólon normais. Entretanto, quando exames propedêuticos mais aprimorados são executados, como o Holter, teste ergométrico e ecocardiograma, uma parcela de indivíduos nesta forma da doença apresentará alguma alteração (RASSI et al., 1992; DIAS, 1995). Indivíduos chagásicos com esta forma clínica possuem bom prognóstico a médio e longo prazo, porém devem ser acompanhados regularmente (MACÊDO & SILVEIRA, 1987).

A forma cardíaca da doença de Chagas é responsável pela elevada morbidade e mortalidade que ocorre na infecção, gerando grande impacto social, por implicar em aposentadorias precoces e gastos onerosos em atendimento médico especializado, e, sobretudo, pela morte de adultos jovens em idade produtiva. A cardiopatia chagásica crônica é caracterizada por dano miocárdico, associado diretamente à inflamação causada pelo parasitismo de células cardíacas, em múltiplos focos, mas de baixa intensidade, e à agressão miocárdica causada por reação imune adversa direcionada e, continuamente alimentada, pela reiterada apresentação de antígenos vinculados ao parasitismo cardíaco persistente (SIMÕES *et al.*, 2018). A hipertrofia, dilatação e alteração da arquitetura cardíaca levam ao aumento do tamanho do coração, caracterizando a cardiomegalia. Clinicamente os indivíduos podem apresentar formas clínicas cardíacas de diferentes níveis de gravidade. Nas fases iniciais da cardiopatia chagásica crônica, são detectadas alterações discretas e inespecíficas no ecocardiograma (ECG) e o indivíduo não apresenta sintomas. Em casos mais avançados da cardiopatia, as alterações aumentam de gravidade, constituindo um conjunto de anormalidades consequentes da insuficiência cardíaca congestiva (ICC) e o fenômeno de morte súbita pode acontecer.

A forma digestiva é composta por alterações que caracterizam o megaesôfago e o megacólon chagásicos (REZENDE, 1997).

Apesar do grande esforço das autoridades sanitárias em conter a transmissão da doença de Chagas, tanto por via vetorial (com o uso de inseticidas de ação residual, que promoveram uma drástica diminuição na densidade triatomínica), quanto por via transfusional (DIAS, 1998; 2000;). Numerosos casos de doença de Chagas agudo, decorrentes de transmissão oral, têm sido descritos na bacia amazônica de alguns

países além do Brasil. Existe ainda um número muito grande de pessoas com doença de Chagas que necessitam de tratamento. Este contingente de indivíduos já infectados, cientes ou não de sua condição clínica, buscarão atendimento na rede pública de saúde (Sistema Único de Saúde) convertendo em questão básica para as autoridades sanitárias.

1.1 TRATAMENTO DA DOENÇA DE CHAGAS

Os primeiros resultados alcançados no tratamento da doença de Chagas humana foram obtidos ao longo da década de 60-70 após terem sido testados vários outros agentes quimioterápicos. Somente o nifurtimox-NFX (Lampit®, Bayer) e o benznidazol (Rochagan®, Rodanil®, Roche) são até agora utilizados no tratamento etiológico da doença de Chagas. No Brasil, apenas o benznidazol é preconizado para o tratamento da doença (MS, 2018). Apesar de suas limitações no que diz respeito à eficácia e toxicidade, os últimos ensaios clínicos demonstraram que o BZ apresentou resultados melhores frente aos derivados azólicos inibidores da biossíntese do ergosterol (IBE) (cetoconazol, itraconazol, alopurinol e posaconazol), cujos resultados foram contraditórios entre os países onde foram testados (MORILLO et al., 2015; MOLINA et al., 2015; RASSI et al., 2017).

De acordo com o Protocolo Clínico de Diretrizes Terapêuticas para doença de Chagas de 2018, o tratamento etiológico da doença de Chagas é recomendando para todos os indivíduos com infecção aguda causada por qualquer dos mecanismos de infecção, infecção congênita, crônica recente (crianças e adolescentes soropositivos com idade de 12-14 anos de idade) e adultos com infecção crônica na forma indeterminada ou com as formas cardíaca e/ou digestiva leves.

Diversos trabalhos têm demonstrado que os resultados obtidos com ambos os fármacos (nifurtimox e benznidazol) variam de acordo com a fase da doença ou tempo de infecção, a duração do tratamento, a dose e a origem geográfica do paciente. Este último fator pode estar associado à diferença na susceptibilidade a drogas entre cepas e linhagens genéticas distintas do parasito presentes nas diferentes regiões estudadas (ANDRADE et al., 1985; FILARDI & BRENER, 1987; ANDRADE et al.,

1992; TOLEDO et al., 1997; COURA & CASTRO, 2002). Desta forma, a genética e a biologia do parasito, o uso de diferentes regimes terapêuticos, as metodologias empregadas nas avaliações pós-tratamento e, também o critério de cura empregado (URBINA, 2001; COURA & CASTRO, 2002; TOLEDO et al., 2003; TOLEDO et al., 2004; YUN et al., 2009; FUENTES et al., 2012; LANA & MARTINSFILHO, 2015) são importantes fatores que estão associados com as discrepâncias observadas em relação aos resultados do tratamento específico da doença de Chagas.

Em geral, os resultados do tratamento são melhores quanto mais precocemente a doença é diagnosticada e o tratamento iniciado. Resultados satisfatórios têm sido obtidos na fase aguda, em infecção crônica recente, infecção congênita e acidentes de laboratório (COURA & CASTRO, 2002). Em contrapartida, a maior limitação dos fármacos é sua baixa atividade antiparasitária na fase crônica da doença, na qual são observadas lesões no coração e no trato gastrointestinal (RASSI & LUQUETTI, 1992).

Trabalhos realizados em diferentes países têm demonstrado eficácia terapêutica na fase crônica recente da infecção, sendo observada cura parasitológica em 62% a 86% das crianças e adolescentes da Argentina e do Brasil (DE ANDRADE et al., 1996; SOSA-ESTANI & SEGURA, 1999; SILVEIRA et al., 2000; COURA & CASTRO, 2002; DE ANDRADE et al., 2004; STREIGER et al., 2004). SOSA-ESTANI et al., 1998. ao avaliarem a eficácia terapêutica do benzonidazol em crianças, demonstraram negatização sorológica em 11,3% dos pacientes e diminuição dos títulos de anticorpos após quatro anos de acompanhamento. Após o tratamento de escolares chagásicos com idade entre 7-12 anos, Andrade et al. (1996) verificaram soro conversão em 55,8% das crianças tratadas com Benzonidazol.

Outros trabalhos têm evidenciado que o tratamento etiológico pode prevenir a progressão e complicações da doença em crianças e adolescentes (SILVEIRA et al., 2000; DE ANDRADE et al., 2004; STREIGER et al., 2004). Desta forma, a eficácia do benzonidazol, demonstrada em ensaios clínicos realizados em crianças e adolescentes, sugere a necessidade de realizar testes sorológicos em escolares e reforça a recomendação do tratamento da doença nestes casos.

Sabe-se que é controversa a eficácia do tratamento na indução de cura parasitológica ou na prevenção do desenvolvimento da doença de Chagas crônica tardia, sendo então difícil estabelecer critérios para a sua utilização (DE ANDRADE et al., 1996; GUEDES et al., 2006; FUENTES et al., 2012). O tratamento com benzonidazol e nifurtimox mostrou pouca ou nenhuma atividade na fase crônica tardia da doença, com taxas de cura variando de 0% a 25% (FERREIRA, 1990; VIOTTI et al., 1994; CANÇADO, 1999; LAURIA-PIRES et al., 2000; SUASNÁBAR et al., 2000; CANÇADO, 2001; CANÇADO, 2002; LUQUETTI & RASSI, 2002; FERNANDES et al., 2009; MACHADO-DE-ASSIS et al., 2012). Entretanto, é importante observar que pacientes chagásicos tratados com benzonidazol na fase crônica, embora não curados parasitologicamente, apresentaram lenta progressão de aspectos clínicos e eletrocardiográficos em direção à cardiopatia (VIOTTI et al., 1994, 2006; LUQUETTI, 1997; BAHIA-OLIVEIRA et al., 2000; FABBRO et al., 2000; GALLERANO & SOSA, 2000; SOSA-ESTANI & SEGURA, 2006; LANA et al., 2009; MACHADO-DE-ASSIS et al., 2012). VIOTTI et al., (1994), acompanhando por cerca de oito anos pacientes crônicos, 131 tratados com BZ e 70 não tratados, demonstraram que pacientes tratados apresentaram menos alterações eletrocardiográficas (4,2%) comparado ao grupo não tratado (30%) e menor incidência de alterações clínicas. Os trabalhos de Lana et al. (2009) e Machado-de-Assis et al. (2012) avaliaram os mesmos pacientes após nove e treze anos de tratamento com BZ, sugerem que pacientes tratados na forma indeterminada da doença de Chagas apresentaram melhor prognóstico que pacientes tratados que já possuíam manifestação cardíaca ou digestiva da doença. Outros autores mostraram persistência da infecção após tratamento e progressivas alterações eletrocardiográficas (IANNI & MADY, 1998; BRAGA et al., 2000; LAURIA-PIRES et al., 2000).

A alta eficácia do BZ na doença em fase aguda e, sobretudo na doença crônica recente, representa uma conquista terapêutica importante na doença de Chagas e justifica as indicações do tratamento nestas fases da infecção. Há consenso de que o tratamento antiparasitário em indivíduos soropositivos pode reduzir ou eliminar o parasito. Logo, mesmo com a baixa porcentagem de cura da doença crônica tardia, sabe-se que o tratamento destes pacientes é importante para reduzir a parasitemia, evitando a progressão de lesões viscerais, já que a presença do parasito é

considerada condição necessária, e suficiente para gerar a cardiopatia chagásica crônica por ação direta do parasito ou pelos processos autoimunes (HIGUCHI et al., 1993; URBINA, 1999; TARLETON, 2003; MARIN-NETO et al., 2009; COURA & BORGES-PEREIRA, 2011), além de reduzir os riscos de transmissão (OPAS/OMS, 1998).

1.2 CONTROLE DE CURA DA DOENÇA DE CHAGAS

Para avaliar a cura parasitológica após quimioterapia específica da DCh duas categorias de testes estão disponíveis, os métodos sorológicos e parasitológicos. Os métodos parasitológicos são baseados na demonstração do parasito por xenodiagnóstico, hemocultura ou testes moleculares (PCR). Os métodos sorológicos convencionais avaliam a presença de anticorpos específicos detectados por métodos imunológicos tais como: hemaglutinação indireta (HAI), imunofluorescência indireta (IFI) e ELISA da sorologia convencional. Já a sorologia não convencional, se baseia na pesquisa de anticorpos líticos pela técnica de Lise Mediada pelo Complemento LMC^o (KRETTLI & BRENER, 1982) ou pela pesquisa de anticorpos anti-tripomastigota vivo pela técnica de citometria de fluxo-FC-AATV (MARTINSFILHO et al., 1995, 2002, CORDEIRO et al., 2001). Os critérios de cura para a quimioterapia da DCh ainda se encontram em discussão, apresentam muitas controvérsias e mudam à medida que surgem novas metodologias de avaliação pós-tratamento.

A avaliação da cura preconiza há anos a utilização da hemocultura e do xenodiagnóstico como métodos parasitológicos de primeira escolha. Esses métodos, quando positivos, indicam de maneira irrefutável a persistência de parasitas circulantes e a permanência da infecção, caracterizando assim a falha terapêutica. No entanto, estes métodos são laboriosos, consomem muito tempo, proporcionam desconforto ao paciente e apresentam baixa sensibilidade quando comparados com a PCR de maior sensibilidade, que detectam o DNA mitocondrial de *T. cruzi* em amostras de sangue.

A definição de cura em doença de Chagas é complexa. Segundo o critério clássico de cura de CANÇADO et al. (2002) e OMS (2012) o indivíduo curado deve necessariamente apresentar exames sorológicos e parasitológicos negativos.

Diferentemente, KRETTLI et al. (1984) consideram que a ausência de anticorpos líticos no soro de pacientes tratados indicaria cura. Galvão e colaboradores (1993) demonstraram que pacientes com dez anos de acompanhamento pós-tratamento, apresentaram resultados repetidamente negativos pelas técnicas de lise mediada pelo complemento e hemocultura, confirmando assim a cura parasitológica em 26% de 82 pacientes tratados que permaneceram com sorologia convencional positiva. A metodologia de LMC^o foi substituída pela técnica de pesquisa de anticorpos antitripomastigota vivo FC-AATV (MARTINS-FILHO et al., 1995, 2002), que também apresentou resultados equivalentes, apresentando como vantagens menor risco de infecção laboratorial, maior sensibilidade e leitura precisa da reação pelo citômetro de fluxo, em substituição à contagem dos parasitos em câmara de Neubauer.

Quando o tratamento é estabelecido em pacientes na fase crônica, é observada uma lenta diminuição nos títulos de anticorpos na maioria dos indivíduos. A diminuição dos títulos na fase crônica da doença pode ter início após cinco ou mais anos, e depende da idade em que o paciente foi tratado e do período de avaliação pós-tratamento. Taxas de cura parasitológica muito variadas têm sido relatadas por pesquisadores em pacientes tratados na fase crônica da infecção, e avaliados por períodos de 1020 anos (CANÇADO, 2002; VIOTTI et al., 2006). Em outra publicação de análise retrospectiva de estudos de tratamento, apresentada por Coura (2004), foram expostos os resultados de grupos brasileiros que trataram pacientes na fase crônica, sendo uma característica comum a baixa porcentagem de pacientes curados (com uma média de 8%), e tempo de acompanhamento dos pacientes, inferior aos 10 anos. Finalmente, Luquetti e Rassi (2002) publicaram preliminarmente, os resultados do acompanhamento sorológico de um dos maiores grupos de pacientes tratados na América Latina, demonstrando que a soroconversão dos pacientes adultos curados só era verificada após 10-15 anos pós-tratamento. O grupo liderado pelos pesquisadores verificou ainda diferenças entre outros estudos nos quais a cura parasitológica foi de 20 a 25%.

Há várias hipóteses para explicar o porquê da permanência dos títulos positivos da sorologia convencional por longos anos, sendo descritas a possibilidade da existência de reações cruzadas entre antígenos do *T. cruzi* e moléculas do hospedeiro como células cardíacas, células do endotélio cardíaco, células neuronais, neurônios do

cerebelo, neurônios cerebrais e laminina (BRENER, 1992). A persistência da positividade da sorologia na grande maioria dos pacientes tratados na fase crônica tem levado alguns autores a considerá-la como memória imunológica, com a manutenção de anticorpos na ausência do *T. cruzi*. Andrade e colaboradores (1988) demonstraram através de imunoeletromicroscopia que antígenos parasitários retidos nas células dendríticas do baço podem ser responsáveis por esta memória imunológica, sendo assim capaz de manter o organismo em processo de estimulação antigênica. Martins e colaboradores (2008) verificaram em camundongos infectados pelo *T. cruzi* tratados e curados segundo o critério clássico de cura, alta positividade da PCR em tecidos, em comparação aos grupos de animais infectados pelo *T. cruzi* tratados não curados e aos não tratados. Estes resultados sugerem que é ainda necessário avaliar cuidadosamente o real significado desses achados.

A avaliação do impacto do tratamento na quimioterapia da DCh ou o estabelecimento da cura clínica são complexos e exigem um arsenal de metodologias, tais como: a análise criteriosa da função cardíaca (eletrocardiograma, ecocardiograma, teste ergométrico, Holter, RX do tórax e esôfago e cólon contrastados). A literatura mostra resultados muito contraditórios neste sentido devido, principalmente, as diferentes abordagens utilizadas na avaliação dos pacientes por diferentes autores e à necessidade de uma criteriosa análise repetida a longo prazo pós-tratamento (COURA & CASTRO, 2002).

Em 1994, SEGURA e colaboradores verificaram que pacientes tratados na fase crônica da infecção, embora não parasitologicamente curados, apresentam uma redução significativa no surgimento das alterações eletrocardiográficas e evolução clínica mais lenta da DCh.

No entanto, o critério de cura adotado para DCh engloba a negatização dos métodos sorológicos convencionais e não convencionais, métodos parasitológicos diretos, indiretos e moleculares bem como a melhoria ou desaparecimento dos sintomas clínicos do paciente.

Dessa forma, para serem considerados curados, os pacientes deste estudo passaram ainda, por avaliação clínica pós-terapêutica por meio de avaliação incluindo a anamnese, a realização de eletrocardiograma, raio-X do tórax e ecocardiograma. Se o paciente for de maior idade e apresentar sinais clínicos da forma digestiva da doença, é necessário a realização do raio-X do esôfago e cólon contrastados.

1.3 DOENÇA DE CHAGAS EM BERILO

O município de Berilo situa-se no Vale do Jequitinhonha, MG, uma região que apresentava anteriormente intensa transmissão da DCh, com um dos índices de infecção humana mais elevados do país (DIAS et al., 1985). Repetidos combates ao vetor neste município entre 1960 e 1997, reduziram drasticamente as taxas de infestação domiciliar e dos anexos. Em 1997, a FUNASA instalou em Berilo a vigilância epidemiológica. Num inquérito sorológico realizado por nossa equipe em crianças nascidas antes e após a implantação da vigilância epidemiológica na região, para verificar se estava havendo transmissão da DCh, constatou-se uma prevalência de 0,4%, sugerindo que a transmissão vetorial foi interrompida (BORGES et al., 2006), mas a necessidade de manutenção e melhoria da vigilância epidemiológica permanece pelo fato de existir na região espécies vetoras do *T. cruzi*. A pesquisa integral de triatomíneos vetores da doença no município foi realizada por nossa equipe em paralelo. Mais uma vez foi constatada a presença do vetor da espécie *Panstrongylus megistus*, considerado importante vetor na região, que por ser nativo, é capaz de estabelecer ligação entre o ambiente silvestre e o peridomicílio. Foram também encontradas outras espécies vetoras tais como o *T. pseudomaculata* (MACHADO-DE-ASSIS et al., 2007), e que passou a ser a segunda espécie mais presente no município

Neste contexto, nossa equipe identificou durante o acompanhamento dos pacientes, um descaso em relação à doença de Chagas em Berilo. Sabe-se que a doença de Chagas é de evolução crônica e tardia e que seu diagnóstico e manejo clínico são complexos. Os médicos em geral, têm uma concepção pessimista a respeito do tratamento etiológico da doença, decorrentes de sua toxicidade e baixa eficácia terapêutica, especialmente na fase crônica, e quando tratam etiológicamente um

paciente, a comprovação da eficácia terapêutica, além de ser tardia, só é possível de ser demonstrada por exames laboratoriais realizados em centros altamente especializados.

2 JUSTIFICATIVA

A avaliação pós-tratamento da doença de Chagas é complexa, exige a realização de diversos exames clínicos e laboratoriais que devem ser repetidos periodicamente. O processo de cura, quando acontece, ocorre de maneira gradual e progressiva, exigindo minuciosa análise de todas as avaliações realizadas ao longo do tempo (10 anos ou mais). O critério ouro que permite determinar cura é a consistente negatificação dos exames sorológicos paralelamente à negatificação dos exames parasitológicos. Por outro lado, a cura clínica se determina mediante o desaparecimento das alterações cardíacas (eletrocardiograma e ecocardiograma) e digestivas, estas possíveis de serem avaliadas apenas em pacientes com sintomatologia sugestiva destas alterações. Sendo assim, a justificativa deste trabalho é avançar na avaliação pós-tratamento de pacientes com diagnóstico da doença de Chagas na infância, tratadas em 2003 por nossa equipe, e avaliadas periodicamente nos anos posteriores ao tratamento

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Dar continuidade à avaliação pós-tratamento de seis pacientes do Vale do Jequitinhonha (Berilo e José Gonçalves de Minas) diagnosticados com DCh e tratados em 2003, quando eram crianças.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os pacientes tratados com exames laboratoriais;
- Interpretar as avaliações atuais conjuntamente com as avaliações póstratamento anteriores;
- Avaliar a eficácia do tratamento utilizado nos pacientes;
- Verificar se houve cura da infecção;
- Avaliar o impacto do tratamento na evolução clínica da doença;
- Informar a população atendida sobre o que é a Doença de Chagas e, principalmente, sobre o seu controle.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ÁREA DO ESTUDO

O projeto foi realizado nos municípios de Berilo e José Gonçalves de Minas, situados no estado de Minas Gerais, na mesorregião do Vale do Jequitinhonha, a uma distância de cerca de 660 km de Belo Horizonte, capital do estado. A população atual desses municípios é de aproximadamente 12.300 e 4.553 habitantes (IBGE, 2010), respectivamente. O Vale do Jequitinhonha foi considerado a segunda zona endêmica da doença de Chagas no primeiro inquérito nacional de soro prevalência desta infecção no Brasil (Camargo et al., 1984).

4.2 LOGÍSTICA DE RECRUTAMENTO DOS PACIENTES

Os pacientes foram localizados pelos agentes de saúde locais dos PSF 's (Programa de Saúde da Família) a que pertencem, de acordo com o endereço residencial. Os indivíduos que residiam na zona rural, utilizaram transporte gratuito, por meio dos ônibus que fazem o transporte dos alunos para as unidades escolares existentes fora das sedes dos municípios. Em casos excepcionais, a Prefeitura disponibilizou o transporte individual do paciente. Existe um Convênio celebrado entre a Universidade Federal de Ouro Preto (co-participante do projeto) e as Prefeituras de Berilo e José Gonçalves de Minas, que também assumiram esta responsabilidade com os pacientes participantes da pesquisa.

4.3 PACIENTES

O presente estudo avaliou seis pacientes que foram diagnosticados em 2002, quando tinham entre 8 e 13 anos de idade, em um inquérito sorológico com escolares dos municípios de Berilo e José Gonçalves de Minas, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais e foram encaminhadas para o tratamento com BZ em 2003 (BORGES et al., 2006). Todos são infectados por parasitos do grupo genético TcII (Oliveira e Silva et al.; 2013) e tratados com benznidazol (BORGES et al.; 2006). Na primeira avaliação pós-tratamento (0,5 anos), foi observado fracasso terapêutico em duas crianças (855

e 1661), devido aos resultados positivos na hemocultura e PCR. Estes pacientes foram encaminhados para novo tratamento com Nifurtimox e reavaliados por nós durante este estudo (OLIVEIRA e SILVA, 2008).

A inclusão de pacientes ocorreu mediante leitura e assinatura do Termo de Consentimento livre e esclarecido (anexo I), aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR) da FIOCRUZ, Belo Horizonte, MG.

4.4 AVALIAÇÕES LABORATORIAIS PÓS-TRATAMENTO

Os seis indivíduos diagnosticados com a doença de Chagas em 2003 (855, 806, 829, 795, 817, 1661) foram avaliados pela equipe do Laboratório doença de Chagas da Universidade Federal de Ouro Preto. Estas avaliações vêm sendo feitas desde 2003, quando os pacientes foram tratados, e continuaram a ser feitas ao longo deste trabalho. Para a avaliação da eficácia terapêutica foram utilizadas técnicas parasitológicas [Hemocultura (HC) e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)] e sorológicas convencionais (ELISA).

4.4.1 Testes parasitológico e parasitológico molecular

A avaliação laboratorial de cada indivíduo portador da DCh e tratado foi feita por meio de hemocultura (HC) e por PCR em eluato de sangue.

4.4.1.1 Hemocultura (HC)

A técnica de HC foi realizada de acordo com Chiari *et al.* (1989), modificada. Para esta metodologia foram coletados 30 mL de sangue dos pacientes (30mL/60kg) usando heparina como anticoagulante. O sangue foi coletado por via endovenosa, colocado em tubo estéril de plástico e imediatamente centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos a temperatura ambiente. O plasma foi descartado e posteriormente foi adicionado ao precipitado 10mL de meio de cultura Liver Infusion Tryptose-LIT (CAMARGO, 1964), sendo novamente centrifugado nas mesmas condições

anteriores. Em seguida, o tubo contendo as células sanguíneas foi novamente adicionado de 10 mL de meio LIT e transportado em isopor com gelo até a UFOP, para no Laboratório de Doença de Chagas (LADOC/NUPEB/UFOP) onde foi centrifugado como descrito anteriormente. Após a centrifugação, o sobrenadante foi desprezado, a camada leucocitária removida para um tubo cônico e ressuspendida em 5 ml de meio LIT para cultivo. Posteriormente, as hemácias foram distribuídas em porções iguais, em três tubos cônicos contendo 5 mL de LIT cada. Todos os tubos com células sanguíneas foram incubados em estufa a 28°C e homogeneizados a cada 48h. Uma gota do sobrenadante de cada preparo em cultivo foi analisada a microscópio óptico aos 30, 60 e 90 dias após a coleta, para a detecção de parasitos. Quando negativos, cada tubo foi mantido em cultivo até 120 dias, examinado novamente, centrifugado como anteriormente, descartado seu conteúdo e o sedimento final no fundo do tubo foi também analisado ao microscópio para a detecção de parasitos.

4.4.1.2 Reação em cadeia da polimerase (PCR)

A PCR foi feita a partir de um volume de 5 mL de sangue, este transferido para um tubo cônico de plástico com igual volume de Guanidina-HCl 6M/EDTA 0,2M (Sigma® Chemical Company, USA), pH 8,0 (AVILA *et al.*, 1991). Essa mistura foi mantida à temperatura ambiente e após sete dias fervida em banho-maria a 100°C por 10 minutos (BRITTO *et al.*, 1993). O lisado foi armazenado à temperatura ambiente. A extração do DNA, a partir de uma alíquota do lisado sanguíneo, foi realizada empregando o kit “Wizard® Genomic DNA Purification Kit” (Promega) e o protocolo de extração conforme as instruções do fabricante.

Para a amplificação do DNA foram utilizados os pares de iniciadores: #121 (AAATAATGTACGGGTGAGATGCATGA) e #122 (GGTTCGATTGGGGTTGGTGTAATATA) (Invitrogen, São Paulo, Brasil), os quais amplificam um produto de 129 pares de bases (GENBANK: AB038240.1), em paralelo a amostra de sangue de paciente seguramente não infectado, para amplificação com os iniciadores do gene constitutivo da beta-globina humana, PCO3

(ACACAAACTGTGTTCACTAGC) e PCO4 (CAACTTCATCCACGTTCCACC), como controle da amplificação da reação.

A mistura da reação foi constituída de: 6,5 pmol de cada iniciador (#121 e #122) ou 2,5 pmol (GAPDH), 6,25 µL de GoTaq® Green Master Mix 2X (Promega, Madison, USA) e 5,0 µL de DNA e Água Milli Q, totalizando 15,0 µL por poço da placa (MicroAmp® Fast Optical 96-Well, Applied Biosystems). A reação foi feita nas seguintes condições: desnaturação inicial a 95 °C por 5 minutos, seguida por 35 ciclos a 95 °C por 1 minuto, 65°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto e uma extensão final a 72 °C por 10 minutos, segundo GOMES e colaboradores (1998) modificada. O equipamento utilizado será o termociclador Verit Thermal Cycler 96well (Applied Biosystems®, Califórnia, USA).

A visualização do material amplificado foi realizada por meio do aparelho de eletroforese capilar QIAxcel Advanced System® (Qiagen), método de análise AM320, marcador de alinhamento de 15pb / 600pb (QX Alignment Marker®, Qiagen) e marcador de peso molecular de 25 pb/500 pb (QX Size Marker® Qiagen), de acordo com as recomendações do fabricante para os tamanhos dos fragmentos analisados. Após a eletroforese, a presença/ausência de bandas nas regiões de interesse ou o eletroferograma, serão obtidos por meio do software QIAxcel ScreenGel 1.2.0® (Qiagen). A hipótese de contaminação foi eliminada mediante a utilização de um controle negativo da reação e da extração, bem como um controle de reagentes da extração e da PCR.

Cada amostra foi examinada em duplicata em paralelo a controles positivos e negativos.

4.4.2 Teste sorológico convencional

4.4.2.1 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)

A técnica de ELISA foi feita para detecção de imunoglobulina G anti-*T.cruzi* e realizada segundo a metodologia de Voller *et al.*; (1976), modificada por Santos et al.

(2012). Para a reação, foram utilizados antígenos da forma epimastigota da cepa Y do *T. cruzi* em fase exponencial de crescimento, obtidos de cultivo acelular em meio LIT. Como conjugado, foram utilizadas anti-imunoglobulinas G humana marcadas com peroxidase (Bethyl Laboratories, Montgomery, USA). O teste foi executado em placas de poliestireno com 96 poços de fundo chato, onde cada poço da placa foi tratado com extrato antigênico de epimastigotas, na concentração definida previamente por titulação em bloco (4,5µg/mL), e diluído em solução tampão carbonato (pH 9,6). As placas foram incubadas a 4°C por 18h e após este intervalo de tempo serão bloqueadas com 100µl/poço de PBS + SFB 5%. A seguir, o soro de cada paciente, diluído na proporção de 1:80 em PBS-Tween 0,05% foi distribuído em cada poço e a placa incubada a 37°C por 45 minutos. Posteriormente, foi adicionado em cada poço da placa o conjugado diluído em PBS-Tween 0,05%, conforme titulação prévia, e as placas foram novamente incubadas a 37°C por 45 minutos. Ao final, foi adicionada a solução de substrato [O-fenilenodiamino-OPD, em solução de ácido cítrico e H₂O₂]. Decorrido o tempo de incubação a 37°C, a reação foi interrompida com a adição de ácido sulfúrico. Entre cada etapa, as placas foram submetidas a quatro lavagens com solução salina. A leitura foi realizada em leitor de microplaca (BIO RAD, Modelo 3550), com filtro de 490nm. Em cada placa foram adicionados 10 soros controles negativos e quatro controles positivos. A absorbância discriminante em cada placa foi calculada tomando-se a média da absorbância dos 10 soros negativos somados a dois desvios padrões, sendo os valores abaixo do índice de reatividade considerados negativos e acima positivos.

4.5 CRITÉRIO DE CURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

A susceptibilidade ou resistência ao BZ foi definida de acordo com os resultados obtidos nos métodos parasitológicos (Hm e PCR), sorológicos convencionais (ELISA).

Dessa forma, pacientes que apresentaram qualquer exame parasitológico (Hm e PCR) positivo foram considerados como não curados, independentemente dos resultados das técnicas sorológicas. Pacientes que apresentaram todos os exames

parasitológicos e sorológicos negativos foram considerados curados de acordo com o critério de cura clássico (CANÇADO et al., 2002; WHO, 2002).

4.6 AVALIAÇÃO CLÍNICA

A avaliação clínica foi realizada sob supervisão da médica cardiologista, Dra. Rosália Morais Torres, professora da Universidade Federal de Minas Gerais e membro da equipe de pesquisa, mediante realização de anamnese e exame clínico- cardiológico. Foram realizados ainda eletrocardiograma de repouso, RX do tórax em PA e ecodopplercardiograma. Foi aplicado também um questionário sobre questões pertinentes a aspectos clínicos e tratamento da doença. O ecodopplercardiograma foi realizado “in loco” utilizando-se um aparelho portátil Cypress dotado das modalidades Modo M, Bidimensional, Doppler pulsado, contínuo e a cores.

Tendo como referência a avaliação clínico cardiológica e os exames realizados, os pacientes foram categorizados como portadores de forma não cardíaca ou forma crônica cardíaca. Os critérios utilizados para classificar o paciente como portador da forma não cardíaca da Chagas foram ausência de sintomatologia clínica relacionada com a cardiopatia chagásica crônica, eletrocardiograma e RX do tórax normais e ausência de sintomatologia digestiva. A classificação clínica da cardiopatia chagásica foi feita segundo o Consenso Brasileiro da Doença de Chagas (MS, 2005).

Não foi realizada avaliação radiológica sistemática e completa do tubo digestivo porque nenhum dos pacientes apresentava obstipação intestinal ou sintomatologia que justificasse a realização do enema opaco. Diante da ausência de sintomatologia digestiva significativa, e levando-se em consideração o fato de os pacientes serem menores de idade no início do tratamento, exames radiológicos do cólon com utilização de contraste não estariam clínica e eticamente indicados.

4.6.1 Avaliação da evolução da doença

A classificação clínica dos pacientes avaliados foi realizada mediante avaliação clínico-cardiológica (anamnese, exame físico), realização de eletrocardiograma de

repouso, ecodopplercardiograma e estudo radiológico do tórax, conforme descrições a seguir. Para verificar a evolução da doença dos pacientes foi realizada a avaliação clínica periódica iniciada antes do tratamento e anualmente sempre que possível.

4.6.2 Eletrocardiograma

O eletrocardiograma foi realizado antes do tratamento e em todas as avaliações subsequentes, com registro, em repouso, das doze derivações clássicas, seguindo o mesmo protocolo de execução e de leitura do exame antes e após tratamento. A interpretação foi realizada de acordo com as Diretrizes de interpretação do eletrocardiograma de repouso (Pastore et al.; 2016). A realização desse exame foi anual sempre que possível, para detecção de eventual evolução da cardiopatia.

4.6.3 Avaliação radiológica do tórax

Os pacientes foram avaliados por meio estudo radiológico do tórax (Rx de tórax) na incidência pósterio-anterior (PA) em ortostatismo e inspiração profunda. O estudo radiológico do tórax foi utilizado para definir a silhueta cardíaca como normal ou alterada, considerando-se como normal o índice cardiotorácico menor que 0,50. Avaliou-se, ainda, os hilos, a trama vascular pulmonar, o parênquima pulmonar e a pleura.

O índice cardiotorácico é utilizado para se estimar a área cardíaca. Esta pode ser obtida comparando-se o diâmetro transverso do coração com o diâmetro transverso máximo do tórax. Um ICT maior que 50 é considerado anormal, representando cardiomegalia.

4.6.4 Ecodopplercardiograma

A avaliação ecodopplercardiográfica foi realizada de forma sistematizada, por um só examinador experiente, utilizando-se aparelhagem de ecocardiografia portátil Cypress dotada dos modos Unidimensional, Bidimensional, Doppler pulsado, contínuo, mapeamento de fluxo em cores e adaptado para obtenção do Doppler

tecidual. Utilizou-se transdutor multifrequencial de 3,0-3,5 MHZ, com registro eletrocardiográfico simultâneo. Utilizou-se a técnica convencional de exame, empregando-se as diversas modalidades do exame ecocardiográfico acima descritas. Os cortes ecocardiográficos foram realizados com o paciente posicionado em decúbito lateral esquerdo, inicialmente na posição para esternal, onde foram obtidos os cortes longitudinais do ventrículo esquerdo e cortes transversais ao nível da valva mitral e músculos papilares e, em sequência, na posição apical, onde foram obtidos os cortes de quatro, duas e cinco câmaras. Mediante análise combinada das técnicas Unidimensional, Bidimensional e Doppler foram avaliadas as dimensões cardíacas, as funções sistólica e diastólica ventricular esquerda e a contratilidade global e segmentar do ventrículo esquerdo. Ao longo da sistemática do exame, procurou-se identificar a presença de trombos, aneurismas, regurgitações valvares, hipertensão pulmonar e alterações pericárdicas.

4.6.5 Identificação do comprometimento miocárdico e estadiamento da cardiopatia chagásica crônica

O fator prognóstico mais importante na cardiopatia chagásica crônica (CCC) é a disfunção sistólica global do ventrículo esquerdo. O ecodopplercardiograma, por constituir método não invasivo de fácil execução, é considerado o exame ideal para avaliar a função miocárdica, permitindo identificar marcadores importantes para estadiamento da cardiopatia.

Na doença de Chagas, a identificação e o estadiamento do comprometimento miocárdico adotada pelos Consensos Brasileiro e Latino-Americano de Insuficiência Cardíaca considera dados obtidos ao eletrocardiograma, ecocardiograma e presença ou não de insuficiência cardíaca. Essa classificação permite identificação de subgrupos distintos do ponto de vista prognóstico e terapêutico, conforme mostrado na tabela abaixo.

Tabela I: Estadiamento do comprometimento miocárdico na cardiopatia chagásica crônica

Estádios	Eletrocardiograma	Ecocardiograma	Insuficiência Cardíaca
A	Alterado	Normal	Ausente
B1	Alterado	Alterado FEVE>45%	Ausente
B2	Alterado	Alterado FEVE<45%	Ausente
C	Alterado	Alterado	Compensável
D	Alterado	Alterado	Refratária

Fonte: I Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (MS, 2005).

Como pode-se observar nesta classificação, a presença de alterações eletrocardiográficas identifica o comprometimento miocárdico tornando o eletrocardiograma o exame marcador da presença de cardiopatia. O ecodopplercardiograma, ao avaliar a função sistólica ventricular através da fração de ejeção, complementa o eletrocardiograma e permite estadar a cardiopatia com o auxílio complementar do dado clínico presença ou ausência de insuficiência cardíaca.

4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todas as análises estatísticas e montagem dos gráficos com os resultados de ELISA foram realizados utilizando o software GraphPad Prism, Version 8.0.1 (San Diego, CA, USA).

4.8 FOLDER INFORMATIVO SOBRE DOENÇA DE CHAGAS

Foi elaborado um folder informativo sobre DCh (Figuras I e II) que será posteriormente distribuído à população de Berilo e José Gonçalves de Minas. O material gráfico será útil para instruir a população sobre o reconhecimento do inseto, como o capturá-lo e embalá-lo para ser encaminhado ao posto de saúde local, anotação do local de seu encontro para que seu combate seja feito pelos agentes de saúde que trabalham no controle da DCh, empregando o uso de inseticida. O informativo também instruirá a população de como deve ser feita a limpeza, melhoria e organização de suas casas e dependências (Unidades Domiciliares – UD), alertando sobre a importância de

denunciar a presença de insetos transmissores em suas casas e fora dela, consciência de que há outros mecanismos de transmissão independentes do vetor, além de incluir informações importantes sobre sintomas, tratamento e esclarecimento das principais dúvidas da comunidade sobre a DCh.

5 RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA TERAPÊUTICA

5.1.1 Técnicas parasitológicas (Hm e PCR)

As avaliações feitas de 0,5 a 7,5 anos pós-tratamento foram feitas por Borges e colaboradores (Borges et. al., 2006) e as avaliações seguintes foram realizadas no decorrer desse projeto. O tempo de acompanhamento das crianças foi diferente, devido ao não comparecimento periódico delas ao hospital, quando convocados.

Na primeira avaliação pós-tratamento (0,5 anos), conforme mostrado na tabela II, foi observado fracasso terapêutico

em duas crianças (855 e 1661), devido aos resultados positivos para hemocultura e PCR. Estes pacientes foram encaminhados para novo tratamento com Nifurtimox, resultando novamente em fracasso terapêutico, devido aos resultados novamente positivos das técnicas parasitológicas, que foram detectados até 6,5 anos pós-tratamento.

Tabela II: Avaliações parasitológicas pós-tratamento realizadas nos pacientes dos municípios de Berilo e José Gonçalves de Minas, MG.

Pacientes	Hemocultura (a.p.t.)										PCR do sangue (a.p.t)									
	0,5	1,5	2,5	3,5	4,5	6,5	7,5	11,5	12,5	14,5	0,5	1,5	2,5	3,5	4,5	6,5	7,5	11,5	12,5	14,5
855	P	N	N	P	N	P	*	*	N	N	P	N	P	P	N	N	*	*	N	*
1661	P	N	P	P	P	P	*	N	*	N	P	P	N	P	N	P	*	N	*	*
806	N	N	N	N	N	N	*	*	*	*	P	N	N	P	N	N	*	*	*	*
829	N	N	N	N	N	*	*	*	*	*	P	P	N	N	N	*	*	*	*	*
795	N	N	N	N	*	N	*	*	*	N	P	N	N	P	*	*	*	*	*	N
817	N	N	N	N	N	N	N	N	*	N	P	P	N	P	P	N	N	N	*	N

Legenda: a.p.t.: anos pós-tratamento; N: Negativo; P: Positivo; *Exame não realizado.

Fonte: Elaborado pela autora.

No entanto, após retomada das avaliações de 11,5 anos pós-tratamento, houve negatificação dos exames parasitológicos deles, o que revela atividade terapêutica e redução significativa da parasitemia após estes tratamentos.

Os pacientes 806 e 829, obtiveram negativação dos exames parasitológicos até 6,5 anos pós-tratamento, porém, após esse período os pacientes não compareceram às convocações feitas por nossa equipe, devido a mudança dos mesmos para outro estado, segundo informações do Hospital Municipal de Berilo-MG.

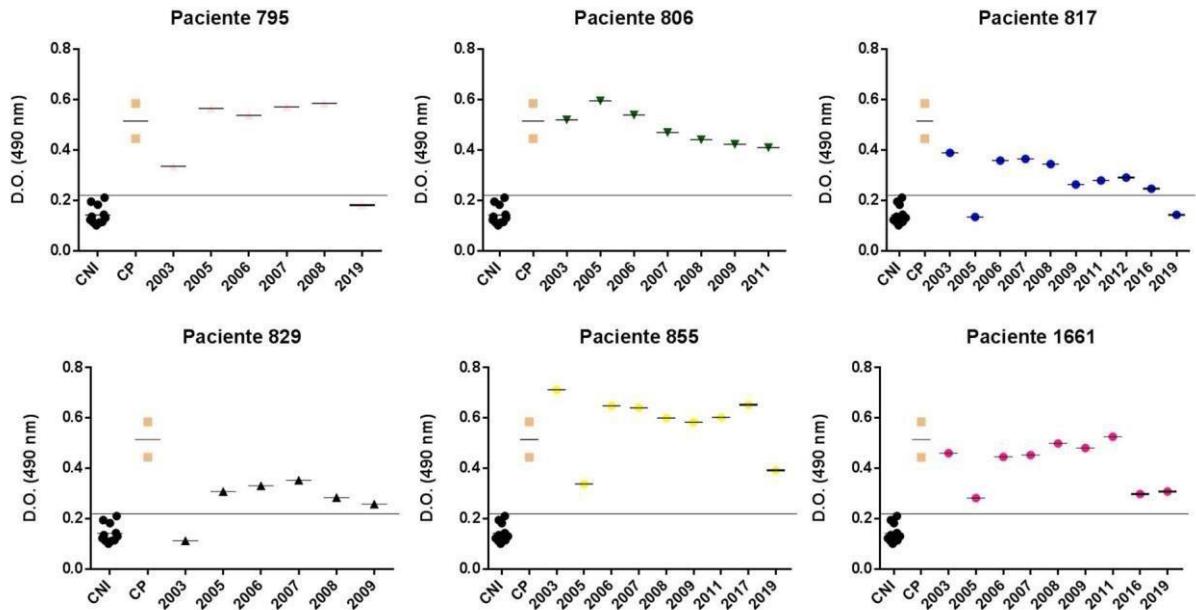
Já os pacientes 795 e 817, tiveram os resultados negativos em suas avaliações de hemocultura e PCR desde o início do tratamento, e continuam persistindo com esse resultado nas avaliações recentes, o que indica sucesso terapêutico do tratamento feito com benznidazol.

No entanto, é importante salientar que o paciente 795, que após um intervalo de 8 anos sem ser avaliado por ter mudado de Berilo para São Paulo, que a realização da PCR em tempo real (metodologia não descrita por não ter sido utilizada rotineiramente na avaliação de todos os pacientes) paralelamente à HC, PCR e sorologia foi também negativa.

5.1.2 Avaliação sorológica

Os gráficos da sorologia convencional (ELISA) mostraram redução progressiva dos níveis de anticorpos IgG anti-*T. cruzi* em quatro dos pacientes tratados (806, 829, 855 e 1661) (Figura 1). O paciente 1661, nas avaliações iniciais apresentou ligeira elevação da reatividade sorológica, e nas duas últimas avaliações apresentou queda intensa de títulos sorológicos. Os pacientes 795 e 817 tiveram resultados da sorologia negativos, assim como a hemocultura e a PCR nas últimas avaliações, indicando a cura da doença de Chagas.

Figura 1 - Reatividade sorológica (ELISA) pós-tratamento dos pacientes durante vários anos.



Legenda: D.O.: Densidade óptica; nm: nanômetros; CNI: Controle não infectado; CP: Controle positivo.

Fonte: Elaborado pela autora.

5.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS PACIENTES

Foi realizada avaliação clínica dos pacientes no tempo 0 (antes do tratamento com BZ/NF) e 5 anos após o tratamento etiológico. Essas avaliações são mostradas na Tabela III. Em todos os pacientes foi realizada avaliação clínico cardiológica, Rx de tórax em PA e perfil esquerdo, eletrocardiograma e ecodoppler cardiograma.

Tabela III: Avaliação cardiológica dos pacientes por Rx do tórax, eletrocardiograma e ecodopplercardiograma

Pacientes	Antes do tratamento					
	Rx tórax	ECG	Ecodopplercardiograma (ECO)	Conclusão	Rx tórax	ECG
795	Normal	Eixo 100 graus	Câmaras cardíacas de dimensões normais. Função sistó-diastólica ventricular esquerda preservada. Ausência de déficits contráteis segmentares. FEVE: 66%	Normal	Normal	Normal
817	Normal	Normal	Câmaras cardíacas de dimensões normais. Função sistó-diastólica ventricular esquerda preservada. Ausência de déficits contráteis segmentares. FEVE: 77%	Normal	Normal	-
855	Normal	HBAE	Câmaras cardíacas de dimensões normais. Função sistó-diastólica ventricular esquerda preservada. Ausência de déficits contráteis segmentares. FEVE: 69%	Cardiopatia leve	Normal (Índice cardiotorácico < 50)	Bradycardia sinusal com FC=52bpm. Desvio de eixo para a esquerda, entre - 50 graus, onda s profunda até V5. HBAE
1661	Normal	Normal	Câmaras cardíacas de dimensões normais. Função sistó-diastólica ventricular esquerda preservada. Ausência de déficits contráteis segmentares. FEVE: 75%	Normal	Normal (Índice cardiotorácico <50)	BIRD (R em V1 e V2) Baixa voltagem. Desvio do eixo para a esquerda -24 graus
806	Área cardíaca limitrofe	BAV 1º grau	Câmaras cardíacas de dimensões limitrofes. Função sistó-diastólica ventricular esquerda preservada. Ausência de déficits contráteis segmentares. FEVE: 69%	Cardiopatia leve	Área cardíaca limitrofe	BAV 2º grau
829	Alterado (aumento leve da área cardíaca)	Normal	Câmaras cardíacas de dimensões normais. Função sistó-diastólica ventricular esquerda preservada. Ausência de déficits contráteis	Cardiopatia leve	Alterado (aumento leve da área cardíaca)	Normal

Legenda: ECG: eletrocardiograma; BAV: bloqueio átrio-ventricular; FEVE: fração de ejeção do ventrículo esquerdo; FC: frequência cardíaca; HBAE:

hemibloqueio anterior esquerdo.

Fonte: Elaborado pela autora.

5.2.1 Avaliação clínico-cardiológica dos pacientes

Os pacientes identificados como portadores de doença de Chagas submetidos a tratamento etiológico foram acompanhados clínica e laboratorialmente, até o ano de 2019. Quatro deles compareceram às avaliações. Dois pacientes, 806 e 829, deixaram de comparecer às avaliações após 6,5 anos de estudo por terem mudado para o estado de São Paulo.

A análise comparativa dos exames clínico-cardiológicos mostrou que o paciente 795 apresentava, desde a primeira avaliação feita em 2006, desvio do eixo do QRS para a

direita, aspecto eletrocardiográfico isoladamente pouco específico, que pode ser atribuído ao biótipo do paciente, ou seja, uma variação da normalidade, ou desvio das forças elétricas para o ventrículo direito. Este paciente apresentava exames clínicocardiológico, radiologia torácica e ecodopplercardiograma normais à primeira avaliação. Em 2019, identificou-se persistência da mesma alteração eletrocardiográfica com demais exames dentro dos padrões da normalidade, permitindo inferir tratar-se de variação da normalidade. O paciente 817 apresentou todos os exames clínico-cardiológicos normais ao longo de todo o estudo, não tendo, até o momento, evoluído para cardiopatia.

Dois pacientes, 855 e 1661, evoluíram, ao longo dos anos, para cardiopatia chagásica crônica, identificada por surgimento de alteração eletrocardiográfica (bloqueio incompleto do ramo direito no paciente 1661 e bloqueio da divisão ânterosuperior do ramo esquerdo no paciente 855) que não estavam presentes na primeira avaliação. Nestes dois pacientes, a cardiopatia foi categorizada como de grau leve, estágio A do Consenso Brasileiro de Doença de Chagas, que se caracteriza por ausência de sintomatologia, ausência de insuficiência cardíaca, com ecodopplercardiograma normal e apenas eletrocardiograma alterado. Esses pacientes se mantiveram estáveis após o surgimento da alteração eletrocardiográfica, não evoluindo com progressão dessas alterações, e mantendo exame físico, Rx de tórax e ecodopplercardiograma normais até a última avaliação.

O paciente 806, acompanhado por 6,5 anos, avaliado inicialmente aos 14 anos, apresentou, desde a primeira avaliação, evidências de cardiopatia chagásica crônica, com ecodopplercardiograma mostrando dimensões ventriculares limítrofes, alterações da contratilidade do septo interventricular e, ao eletrocardiograma, veio a desenvolver bloqueio atrioventricular de 1º grau. O paciente 829, também acompanhado por 6,5 anos, apresentou cardiopatia leve, desde a sua primeira avaliação até a última.

5.3 FOLDER INFORMATIVO SOBRE DOENÇA DE CHAGAS

Figura 2 - Folder informativo sobre Doença de Chagas (frente)

Medidas de prevenção e controle



Mantenha os arredores da sua casa sempre limpos e organizados, sem acumulo de entulhos.



Permita que o agente da FUNASA borrife sua casa com inseticida.



Mantenha currais, galinheiros e cercas o mais distante possível da sua casa.



Reboque e pinte de branco as paredes da sua casa.

Encontrou um desses insetos?



Panstrongylus megistus



Triatoma pseudomaculata



Panstrongylus geniculatus

> Proteja suas mãos com um saco plástico para pegar o inseto;

> Coloque-o em um pote com furos na tampa e leve ao posto de saúde mais próximo da sua casa.

Dúvidas mais frequentes dos pacientes

Qual exame a pessoa faz para saber se tem doença de Chagas?
É feito o exame de sangue, que pode ser solicitado durante uma consulta com um médico que atenda em seu PSF (Programa de Saúde da Família).

É necessário que outras pessoas da família também façam o exame?
Sim, é importante que eles façam o exame para saber se também foram contaminados.

Quais os órgãos mais afetados pela doença?
Coração, esôfago ou intestinos.

O remédio é para tomar por toda a vida?
O paciente deve tomar a medicação de acordo com a orientação do seu médico.

Se o paciente se sentir mal com o remédio, o que deve fazer?
Deve procurar o médico ou um posto de saúde perto de sua casa para esclarecimentos.

O paciente pode trabalhar?
O médico deverá orientar o paciente sobre as atividades que ele pode realizar. A liberação para o trabalho dependerá da sua condição de saúde e da avaliação clínica pelo médico.

Gestantes portadoras da doença de Chagas podem transmiti-la para seus filhos durante a gestação?
Sim, mas o bebê poderá ser curado após o nascimento se diagnosticada a infecção e tratada adequadamente.



PROEX
Pró-Reitoria de
Extensão

DOENÇA DE CHAGAS

Informativo



Universidade Federal de Ouro Preto-UFOP
Escola de Farmácia - EFAR
Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas-NUPEB
Laboratório Doença de Chagas-LADOC
2018

Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 2- Folder informativo sobre Doença de Chagas (verso)

O que é a doença de Chagas?



> A doença de Chagas é uma infecção causada pelo parasito denominado *Trypanosoma cruzi* e sua principal forma de transmissão é pelo inseto barbeiro.

> A doença apresenta duas fases: uma aguda (4-6 meses), que pode ou não ser diagnosticada, e que evolui para a fase crônica, podendo durar por toda vida do paciente sem sintomas ou afetar o coração, esôfago ou os intestino.

> No Brasil, atualmente predominam os casos crônicos decorrentes de infecção por via vetorial, com aproximadamente três milhões de pessoas infectadas.

> É importante saber que o tratamento pode curar ou controlar a doença na maioria dos pacientes. Por isso, é muito importante fazer o diagnóstico e o acompanhamento com um médico do seu PSF (Programa de Saúde da Família).



A transmissão do *T. cruzi* para o ser humano pode ocorrer por diversos formas

Transmissão vetorial
Depois de picar, o barbeiro defeca na pele da pessoa e esta, ao se coçar, leva o parasito ao local da picada onde este atinge o sangue. O contato das fezes do barbeiro infectado com os olhos, boca e narina também pode iniciar a infecção.



Transmissão transfusional
Ocorre pela passagem do parasito por transfusão de sangue de doadores infectados a receptores sadios.



Transmissão oral
Pela ingestão de alimentos que contenham fezes de barbeiros infectados, como o açaí e o caldo de cana.



Transmissão congênita
Ocorre pela passagem de parasitos de mães infectadas para seus filhos durante a gestação ou o parto.



Transmissão por transplante de órgãos
Ocorre pelo transplante de órgãos de doadores infectados pelo parasito a receptores sadios.



Transmissão por compartilhamento de seringas
Ocorre quando uma pessoa sadia utiliza uma seringa com sangue de outra pessoa que esteja infectada.



O que o paciente sente quando tem doença de Chagas?



Febre prolongada (superior a 7 dias), **dor de cabeça**, **mal estar**, e uma ou mais das seguintes manifestações clínicas:

Chagoma de inoculação:
Mancha avermelhada no local da picada.

Sinal de Romaña:
Olho inchado com mancha roxa.

Cardiomegalia (aumento do coração):
Sinais de insuficiência cardíaca, derrame pericárdico, dor no peito, arritmias ("batedeira").

Alterações no aparelho digestivo que, frequentemente, evoluem para:

- Megaesôfago** (aumento do esôfago): o paciente sente dificuldade ao engolir, dor, e pode vomitar o alimento.
- Megacólon** (aumento do cólon ou intestino): Intestino preso por vários dias ou semanas.

Tratamento:
O **Benznidazol** é a droga disponível para o tratamento específico da doença de Chagas.

O tratamento específico é eficaz na maioria dos casos agudos (>60%) e congênicos (>95%), apresentando ainda boa eficácia em 50% a 60% de casos crônicos recentes.

Dependendo do grau da doença, pode ser necessária a realização de cirurgia nos intestinos. Pacientes com doença no coração podem necessitar de implante de marca-passo ou transplante nos casos mais graves.



Fonte: Elaborado pela autora.

6 DISCUSSÃO

O tratamento para a DCh é recomendado para pacientes com infecção aguda, congênita, crônica recente, infecção crônica na forma indeterminada e formas clínicas iniciais (MS, 2018; WHO, 2010). Estudos mostram que o tratamento precoce de indivíduos chagásicos aumenta a possibilidade de sucesso terapêutico, e por isso ele deve ser iniciado o mais breve possível (DE ANDRADE et al., 1996; SOSAESTANI et al., 1998; SCHIJMAN et al., 2003; ESCRIBA et al., 2009).

Um dos maiores desafios da Doença de Chagas é avaliar o impacto do tratamento etiológico nos parâmetros clínicos e laboratoriais dos pacientes a longo prazo.

O critério de cura clássico para indivíduos com doença de Chagas é a persistência de resultados parasitológicos e sorológicos negativos (CANÇADO, 2002; WHO, 2002; MS, 2005). Entretanto, métodos parasitológicos, como a hemocultura e o xenodiagnóstico (este não realizado neste estudo) têm baixa sensibilidade, os resultados são demorados e apresentam resultados falso-negativos quando realizados em amostras isoladas de pacientes crônicos, (CHIARI et al., 1992; JUNQUEIRA et al., 1996; BRENER et al., 2000), principalmente quando tratados. Entretanto, eles se tornam importantes no contexto das avaliações, pois a positividade de ambos é indicação segura de fracasso terapêutico. Por outro lado, a PCR tem elevada sensibilidade e especificidade, sendo então útil na detecção precoce de fracasso terapêutico em pacientes tratados, inclusive crianças (BRITTO et al., 1995; RUSSOMANDO et al., 1998; LAURIA-PIRES et al., 2000; SOLARI et al., 2001; GALVÃO et al., 2003; SCHIJMAN et al., 2003; MEIRA et al., 2004; ZULANTAY et al., 2004; LANA et al., 2009; MACHADO-DE-ASSIS et al., 2012;). Por isso, na interpretação dos resultados da PCR admite-se que resultados positivos após tratamento estão associados a parasitos extracelulares intactos ou parasitos recentemente lisados presentes no sangue (ZHANG & TARLETON, 1999).

Já a sorologia convencional pode permanecer positiva por vários anos devido à persistência de anticorpos específicos, portanto é necessário que seja feito um acompanhamento a longo prazo dos pacientes após o tratamento (GALVAO et al.,

1993; CANÇADO, 1999, 2002; SOLARI et al., 2001; FERNANDES et al., 2009; KRETTLI, 2009; LANA & MARTINS-FILHO, 2009; LANA et al., 2009).

Segundo o Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (2005), é considerado curado o paciente que, após o tratamento antiparasitário da doença de Chagas, tiver o resultado da sorologia negativa, o que acontece gradativamente. É importante considerar que o declínio persistente e progressivo acima de três diluições do soro é sugestivo de um processo de cura em curso que poderá ser confirmado em avaliações subsequentes DE ANDRADE et al., 1996; SOSA-ESTANI et al., 1998; SCHIJMAN et al., 2003; ESCRIBA et al., 2009).

Neste trabalho, de acordo com o critério de cura atual (Dias, 2015), os pacientes 795 e 817 são considerados curados, pois tiveram resultados de ELISA negativos nas últimas avaliações pós-tratamento (14,5 anos depois), paralelamente à negatificação da PCR. O paciente 795, apesar de não ter sido avaliada entre os anos 2009 a 2016, apresentou-se negativa inclusive na PCR em tempo real na última avaliação em 2019, o que reforça a sua cura parasitológica, uma vez que esta técnica apresenta em nossas condições laboratoriais 99,97% de sensibilidade e especificidade (Branquinho et al.; 2020). Apesar dos resultados dos exames parasitológicos destes pacientes terem sido positivos até 4,5 anos pós-tratamento, houve negatificação dos mesmos nas últimas avaliações parasitológicas realizadas. Além disso, a sorologia do paciente 795 foi positiva até 5 anos após tratamento, e depois teve seu resultado finalmente negativo detectado 14,5 anos após o tratamento. Já o paciente 817 teve sorologia positiva durante 12,5 anos, e soroconversão após 14,5 anos de acompanhamento. Ambos os resultados reforçam a importância do tratamento e acompanhamento a longo prazo para avaliação da cura parasitológica dos pacientes, empregando simultaneamente avaliações parasitológicas e sorológicas como recomendado no I Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (MS, 2005).

O paciente 795 considerado parasitologicamente curado e que se apresentou clinicamente normal na primeira avaliação clínica e com desvio de eixo do QRS para a direita, apresentou na última avaliação (14,5 anos pós-tratamento), a mesma alteração eletrocardiográfica com demais exames dentro dos padrões da

normalidade, permitindo inferir tratar-se de variação da normalidade. O paciente 817 apresentou todos os exames clínico-cardiológicos normais ao longo de todo o estudo, não tendo, até o momento, evoluído para cardiopatia, o que sugere estabilidade clínica possivelmente atribuível ao tratamento segundo o observado em outras crianças também tratadas (VIOTTI et al., 1994, 2006; DE ANDRADE et al., 1996, 2004; LUQUETTI, 1997; BAHIA-OLIVEIRA et al., 2000; GALLERANO e SOSA, 2000; FABBRO et al., 2000; SOSA-ESTANI & SEGURA, 2006; CASTRO et al., 2006; LANA et al., 2009; MACHADO-DE-ASSIS et al., 2012).

Considerando os pacientes 855 e 1661, foi observado fracasso terapêutico com o tratamento com benznidazol, devido aos resultados dos exames parasitológicos positivos em seis meses pós-tratamento, o que levou a um novo tratamento com o medicamento Nifurtimox. Apesar da persistência dos exames parasitológicos positivos durante vários anos pós-tratamento, houve negativação dos mesmos nas últimas avaliações. Além disso, observa-se redução gradativa dos títulos de anticorpos anti *T. cruzi* da classe igG em ambos os pacientes. Estes resultados corroboram com outros trabalhos que demonstraram também diminuição dos títulos sorológicos em crianças após o tratamento específico da doença de Chagas (DE ANDRADE et al., 1996; SOSA-ESTANI et al., 1998; SILVEIRA et al., 2000; ESCRIBA et al., 2009), assim como mostrado em STREIGER et al.(2004), que avaliando crianças residentes na Argentina, com idade entre 1 a 14 anos, observaram que naquelas tratadas e não curadas, houve declínio de títulos sorológicos, enquanto nas não tratadas os títulos se mantiveram sem mudanças significativas. Em conjunto, estes resultados sugerem possível atividade terapêutica progressiva, possivelmente auxiliada pela resposta imune dos hospedeiros, mas ainda não estão parasitologicamente curadas.

A análise comparativa dos exames clínico-cardiológicos destes dois pacientes evoluiu, ao longo dos anos, para cardiopatia chagásica crônica [identificada por surgimento de alteração eletrocardiográfica (bloqueio incompleto do ramo direito no paciente 1661 e bloqueio da divisão ântero-superior do ramo esquerdo no paciente

855) ausentes na primeira avaliação. A cardiopatia foi categorizada como de grau leve, estágio A do Consenso Brasileiro de Doença de Chagas (2005) com ausência de sintomatologia, de insuficiência cardíaca, e com ecodopplercardiograma normal. Esses pacientes se mantiveram estáveis até a última avaliação.

Já os pacientes 806 e 829, foram avaliados apenas até 6,5 pós-tratamento, depois disso eles não compareceram para as avaliações quando convocados, conforme justificado anteriormente. No entanto, foi possível observar redução drástica dos títulos de anticorpos e negatificação dos exames parasitológicos mesmo no curto período de tempo de acompanhamento desses pacientes, o que indica atividade terapêutica e que os mesmos estão em processo de cura.

O paciente 806 apresentou, desde a primeira avaliação, evidências de cardiopatia chagásica crônica, com ecodopplercardiograma com algumas alterações, e desenvolveu bloqueio atrioventricular de 1º grau no ECG. O paciente 829 também acompanhado pelo mesmo período, apresentou normalidade de todos os exames cardiológicos em todas as avaliações realizadas.

A revisão publicada por Pérez-Molina et al. incluiu pacientes cronicamente infectados tratados com benznidazol em comparação com nenhum tratamento ou placebo. Os desfechos parasitológicos e sorológicos foram combinados em uma única metaanálise mostrando que o benznidazol aumenta em 18 vezes a probabilidade de uma resposta benéfica. Em um outro estudo realizado na Argentina, SOSA-ESTANI et al. (1998) demonstraram eficácia do BZ em crianças tratadas na fase crônica recente da doença de Chagas, com idade entre 6 a 12 anos, uma vez que foi observada diminuição nos títulos sorológicos nestes pacientes tratados. ESCRIBA et al. (2009) avaliando crianças de Yoro, Honduras na fase crônica recente, menores de 13 anos, tratadas com BZ verificaram negatividade sorológica em 93,9% delas três anos após o tratamento com BZ, demonstrando alta taxa de cura em crianças residentes, evidenciando a importância do diagnóstico e tratamento precoce de crianças. O mesmo foi observado por Yun et al.; (2009) que demonstraram em apenas 18 meses pós- tratamento, elevados índices de soroconversão) em crianças de Honduras e Guatemala (87,1% e 58,1%) em relação às da Bolívia (5,4 % em Entre

Rios e 0% em Sucre) tratadas com BZ.. A precocidade da negatificação sorológica das crianças dos países da América Central em relação aos da América do Sul pode ser explicada pelas diferenças genéticas dos parasitos nestes países (predomínio de parasitos da DTU (Discrete Typing Unit) TcI nos primeiros e de TcII/TcV/TcV no segundo (Zingales et al.; 2012). Nossos pacientes, foram todos parasitados por TcII (Oliveira et al.; 2013), o que explica o longo tempo necessário para ocorrer a negatificação sorológica ou soroconversão, uma realidade muito presente em pacientes do Brasil Central e Sul. Os resultados obtidos por estes autores, em conjunto, corroboram a eficácia do tratamento na fase crônica recente da doença verificada no presente trabalho, sugerindo efeito tripanocida no acompanhamento a longo prazo.

De acordo com os resultados obtidos, considerando-se as especificidades operacionais dos sistemas nacionais de saúde, o tratamento antiparasitário para a doença de Chagas é factível, seguro (DIAS, 2015) e operacionalmente viável para utilização em unidades de atenção primária à saúde, por médicos que conheçam as particularidades dos medicamentos e da doença de Chagas. Dependendo da gravidade das condições clínicas de cada caso, principalmente os casos com a forma aguda ou reativada e formas crônicas descompensadas, pode haver necessidade de encaminhamento para unidades mais especializadas ou de referência, com maior densidade tecnológica em saúde, ou até mesmo internação hospitalar.

7 CONCLUSÕES

Os pacientes 795 e 817, que apresentaram negatificação dos testes ELISA e PCR 13 e 16 anos após o tratamento apresentaram exame físico normal, ecodopplercardiograma e ECG normais em todas as avaliações atendendo aos critérios de cura clássico do Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (2005) e são considerados curados.

Os pacientes 855 e 1661 nos quais constatou-se fracasso terapêutico na primeira avaliação pós-tratamento, com resultados positivos na hemocultura e PCR, sorologia mais elevada ao longo do tempo seguida de queda drástica na última avaliação, desenvolveram cardiopatia chagásica crônica ao longo do estudo evolutivo, definida por alteração do eletrocardiograma. No entanto, até a última avaliação clínica, seus exames clínico-cardiológico, ecodopplercardiográfico e radiológico do tórax mantiveram-se normais. O conjunto de resultados indicam fortemente um processo de cura em curso.

Os pacientes 806 e 829, cujo acompanhamento foi perdido após 6,5 anos de estudo, apresentaram redução drástica dos títulos de anticorpos e negatificação dos exames parasitológicos mesmo no curto período de acompanhamento, o que sugere atividade terapêutica e que eles estão, possivelmente, em processo de cura. O paciente 806 apresentava evidências de cardiopatia chagásica crônica (estádio B2) desde a primeira avaliação diferente do paciente 829 que apresentou desde à avaliação inicial, todos os exames normais.

Dos seis pacientes, apenas um (1661) evoluiu clinicamente, o que demonstra o benefício do tratamento quando administrado na fase crônica inicial da doença (< 14 anos de infecção).

Embora os pacientes apresentassem, no momento do diagnóstico e tratamento, fatores demográficos muito semelhantes e parasitados somente com parasitos do grupo genético TcII, as respostas individuais ao tratamento e os aspectos clínicos deles foram distintos entre eles, indicando a complexidade desta doença, a

diversidade da resposta ao tratamento etiológico, e a necessidade de realização de avaliações posteriores para acompanhar a evolução de cada paciente.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE A.L.S.S.; ZICKER F.; OLIVEIRA R.M.; SILVA S.A.; LUQUETTI A.O.; TRAVASSOS L.R, ANDRADE S.S.; ANDRADE J.G.; MARTELLI C.M. Randomised trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. **The Lancet**, v. 348, p. 1407-1413, 1996.

ANDRADE S.G.; FREITAS L.A.R; PEYROL S.; PIMENTEL A.R.; SADIGURSKY M. *Trypanosoma cruzi* antigens detected by immunoelectron microscopy in the spleen of mice serologically positive but parasitologically cured by chemotherapy (preliminary report). **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v. 21, p. 41- 42, 1988.

ANDRADE S.G.; MAGALHAES J.B.; FERRIOLLI-FILHO F.; LUQUETTI A.O. Specific chemotherapy of Chagas disease: a comparison between the response in patients and experimental animals inoculated with the same strains. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 86, p. 624 –626, 1992.

ANDRADE S. G.; MAGALHÃES J.B.; PONTES A.L. Evaluation of chemotherapy with benznidazole and nifurtimox in mice infected with *T. cruzi* of different types. **Bull World Health Organization**, v. 63, p. 721-726, 1985.

ÁVILA H. A.; SIDMAN D. S.; COHEN L.M.; MILLIKAN R.C.; SIMPSON L. Polymerase chain reaction amplification of *Trypanosoma cruzi* kinetoplast minicircle DNA isolated from whole blood lysates: diagnosis of chronic Chagas' disease. **Mol. Biochem. Parasitol**, v. 48, p. 211-222, 1991.

BAHIA-OLIVEIRA L.M.; GOMES J.A.; CANÇADO J.R.; FERRARI, T.C.; LEMOS E.M.; LUZ Z.M.; MOREIRA M.C.; GAZZINELLI G.; CORREA-OLIVEIRA R. Immunological and clinical evaluation of chagasic patients subjected to chemotherapy during the acute phase of *Trypanosoma cruzi* infection 14-30 years ago. **J. Infect. Dis**, v. 182, p. 634-638, 2000.

BORGES J.D.; ASSIS G.F.; GOMES L.V.; DIAS J.C.; PINTO I.D.; MARTINS-FILHO O.A.; TORRES R.M.; VINAS P.A.; BAHIA M.T.; MACHADO-COELHO G.L.; LANA M. Seroprevalence of Chagas disease in schoolchildren from two municipalities of Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil; six years following the onset of epidemiological surveillance. **Rev. Inst. Med. Trop**, São Paulo, v. 48, p. 81-86, 2006.

BORGES-PEREIRA J.; WILCOX H.P.F.; COURA J.R. Morbidade da doença de Chagas. Estudo longitudinal de seis anos, Virgem da Lapa, Minas Gerais, Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 80, p. 63-71, 1985.

BRANQUINHO, R. T. et al. Lychnopholide in Poly (D, L-Lactide) -Block-polyethylene glycol nanocapsules cures infection with a drug-resistant *Trypanosoma cruzi* strain at acute and chronic phases. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 64, n. 4, p. e01937-19, 2020.

BRENER Z.; ANDRADE Z.; BARRAL-NETO M. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2000.

BRENER Z. Imune response and immunopathology in *Trypanosoma cruzi* infection. In: Chagas disease: it's impact on transfusion an clinical medicine. **ISTB Brazil – SBHH**, São Paulo, p. 31- 48,1992.

BRITTO C.; CARDOSO M.A.; VANNI C.M.; HASSLOCHER-MORENO A.; XAVIER S.S.; OELEMANN W.; SANTORO A.; PIRMEZ C.; MOREL C.M.; WINCKER, P. Polymerase chain reaction for detection of *Trypanosoma cruzi* in human blood samples as a tool for diagnosis and treatment evaluation. **Parasitol.** v..110, p. 241247, 1995.

BRITO C.; CARDOSO M.A.; WINCKER P.; MOREL C.M. A simple protocol for the physical cleavage of *Trypanosoma cruzi* kinetoplast DNA present in blood samples and its use in polymerase chain reaction (PCR)-based diagnosis of chronic Chagas disease. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 88 p. 171-172, 1993.

CAMARGO E.P. Growth and differentiation in *Trypanosoma cruzi*. i. origin of metacyclic trypanosomes in liquid media. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 12, p. 93-100, 1964.

CAMARGO M.E.; DA SILVA G.R.; DE CASTILHO E.A.; SILVEIRA A.C. Serological survey of the prevalence of Chagas' infection in Brazil, 1975/1980. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 26, n. 4, p. 192-204, 1984.

CANÇADO J.R. Criteria of Chagas disease cure. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 331-335, 1999.

CANÇADO J.R. Etiologic treatment of chronic Chagas disease. Letter to the editor. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 43, p. 173-174, 2001.

CANCADO J.R. Long term evaluation of etiological treatment of chagas disease with benznidazole. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 44, p. 29-37, 2002.

CASTRO J.A.; MONTALTO DE MECCA M.; BARTEL L. (2006). Toxic side effects of drugs used to treat Chagas' disease (American trypanosomiasis). **Hum. Exp. Toxicol**, v. 25, p. 471-479, 2006.

CHIARI E.; DIAS J.C.P; LANA M.; CHIARI C.A. Hemocultures for the parasitological diagnosis of human chronic Chaga's disease. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 22, p. 19-23, 1989.

CHIARI E. Diagnostic tests for Chagas disease. In: WENDEL S.; BRENER Z.; CAMARGO M.E.; RASSI A. (Eds.). Chagas disease (American Trypanosomiasis): its impact on transfusion and clinical medicine. **ISBT**, São Paulo, p. 153-164, 1992.

CORDEIRO F.D.; MARTINS-FILHO O.A.; ROCHA M.O.C.; ADAD S.J.;

CORRÊAOLIVEIRA R.; ROMANHA A.J. Anti-*Trypanosoma cruzi* immunoglobulin G1 can be a useful tool for diagnosis and prognosis of human Chagas disease. **Clin. Diag. Lab. Immunol**, v. 1, p. 112-118, 2001.

COURA J.R.; ABREU L.L.; BORGES-PEREIRA J.; WILLCOX H.P. Morbidade da doença de Chagas. IV. Estudo longitudinal de dez anos em Pains e Iguatama, Minas Gerais, Brasil. **Mem. Inst Oswaldo Cruz**, v. 80, p. 73-80, 1985.

COURA, J. R.; ANUNZIATO, N.; WILLCOX, H. P.F. Morbidade da doença de Chagas: I-estudo de casos procedentes de vários estados do Brasil, observados no Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 78, p. 363-372, 1983.

COURA J. R.; BORGES-PEREIRA J. Chronic phase of Chagas disease: why should it be treated? A comprehensive review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 106, p. 641-645, 2011.

COURA J.R.; CASTRO S.L. A critical review on Chagas disease chemotherapy. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 3-24, 2002.

COURA, J. R. The main scenarios of Chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions - A comprehensive review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 3, p. 277-282, 2015.

DE ANDRADE A.L.S.S.; MARTELLI C.M.; OLIVEIRA R.M.; SILVA S.A.; AIRES A.I.; SOUSSUMI L.M.; COVAS D.T.; SILVA L.S.; ANDRADE J.G.; TRAVASSOS L.R.; ALMEIDA I.C. Short report: benznidazole efficacy among *Trypanosoma cruzi* - infected adolescents after a six-year follow-up. **Am. J. Trop. Med. Hygiene**, v. 71, p. 594-597, 2004.

DE ANDRADE A.L.S.S.; ZICKER F.; OLIVEIRA R.M.; SILVA A.S.; LUQUETTI A. O.; TRAVASSOS L.R.; ALMEIDA I.C.; ANDRADE S.S.; ANDRADE J.G.; MARTELLI C.M. Randomized trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. **Lancet**, v. 348, p. 1407-1413, 1996.

DIAS, J.C.P. História natural da doença de Chagas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 65, n. 4, p. 359-366, 1995.

DIAS J.C.P.; LOYOLA C.C.; BRENER S. Chagas' disease in Minas Gerais: current status and perspectives. **Rev. Bras. Malariol. Doenças. Trop.**, v. 37, p. 7-28, 1985.

DIAS, J.C.P.; SCHOFIELD, C. J. Controle da transmissão transfusional da doença de Chagas na Iniciativa do Cone Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, n. 4, p. 373-383, 1998.

DIAS, J.C.P. Vigilância epidemiológica em doença de Chagas. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 16, p. 43-59, 2000.

DIAS, J. C. P. et al. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2015. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, p. 7-86, 2016.

- ESCRIBA J.M. PONCE E.; ROMERO A.D.; ABAJAR-VIÑAS P.; MARCHIOL A.; BASSETS G.; PALMA P.P.; LIMA M.A.; ZÚNIGA C.; PONCE C. Treatment and seroconversion in a cohort of children suffering from recent chronic Chagas infection in Yoro, Honduras. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.104, p. 986-991, 2009.
- FABBRO D. S.; ARIAS E.; STREIGER M.; PIACENZA M. INGARAMO M.; DEL BARCO M.; AMICONE N. Evolutive behavior toward cardiomyopathy of treated (Nifurtimox or Benznidazol) and untreated chronic chagasic patients. **Rev. Inst. Med. Trop.** v. 42, p. 99-109, 2000.
- FERNANDES, C.D.; TIECHER F.M.; BALBINOT M.M.; LIARTE D.B.; SCHOOL D., STEINDEL M.; ROMANHA A. **Efficacy** of benznidazole treatment for asymptomatic chagasic patients from state of Rio Grande do Sul evaluated during a three years follow-up. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 27-32, 2009.
- FERREIRA H. O. (1990). **Tratamento da forma indeterminada da doença de Chagas com Nifurtimoz e Benznidazol**. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 23: 209-211.
- FILARDI, L. S.; BRENER, Z. Susceptibility and natural resistance of *Trypanosoma cruzi* strains to drugs used clinically in Chagas disease. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 81, n. 5, p. 755-9, 1987.
- FUENTES B.R.; MATURANA A.M.; DE LA CRUZ M.R. (2012). Efficacy of nifurtimox for the treatment of chronic Chagas disease. Rev. Chilena Infectol., v. 29, p. 82-86, 2012.
- GALLERANO R.R.; SOSA R.R. (2000). Interventional study in the natural evolution of Chagas disease. Evaluation of specific antiparasitic treatment. Retrospectiveprospective study of antiparasitic therapy. **Rev. Fac. Cienc. Med. Univ. Nac. Cordoba**, v. 57, p. 135-162, 2000.
- GALVÃO L.M.C.; CHIARI E.; MACEDO A.M.; LUQUETTI A.O.; SILVA S.A.; ANDRADE A.L.S.S. PCR assay for monitoring *Trypanosoma cruzi* parasitemia in childhood after specific chemotherapy. **J. Clin. Microbiol.**, v.41, p. 5066-5067, 2003.
- GALVÃO L.M.C.; NUNES R.M.B.; CANÇADO J.R.; BRENER Z.; KRETTLI A. Lytic antibody as mean of assessing cure after treatment of Chagas disease: a 10 years follow-up study. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 87, p. 220-223, 1993.
- GUEDES P.M.; FIETTO J.L.R.; LANA M.; BAHIA M.T. Advances in Chagas Disease Chemotherapy. **Anti-infective Agents in Med. Chem.**, v. 5, p. 175-186, 2006.
- HIGUCHI M.D.; BRITO T.D.; REIS M.M. Correlation between *Trypanosoma cruzi* parasitism an myocardial inflammatory infiltrate in human chronic chagasic myocarditis: ligth microscopy and immunohistochemical findings. **Cardiovasc. Path**, v. .2, p. 101-106, 1993.

HOTEZ P.J.; MOLYNEUX D.H.; FENWICK A.; KUMARESAN J.; SACHS S.E.; SACHS J.D. Control of neglected tropical diseases. **N Engl J Med**, v. 357, p. 10181027, 2007.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Cidades. 2012. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mg/berilo/panorama>. Acesso em: 10 nov. 2021.

JUNQUEIRA A.C.V.; CHIARI E.; WINCKER P. Comparison of the polymerase chain reaction with two classical parasitological methods for the diagnosis of Chagas disease in an endemic region of north-eastern Brazil. **Trans. R. Soc. Med. Hyg.**, v. 90, p. 129-132, 1996.

KRETTLI A.U.; BRENER Z. Resistance against *Trypanosoma cruzi* associated to antiliving trypomastigote antibodies. **J Immunol.** v, **129**, p. 2009-2012, 1982.

KRETTLI, A. U.; CANÇADO, J. R.; BRENER, Z. Critério de cura da doença de Chagas humana após quimioterapia específica: avanços recentes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 79, p. 157-164, 1984.

KRETTLI A.U..The utility of anti-trypomastigote lytic antibodies for determining cure of *Trypanosoma cruzi* infections in treated patients: an overview and perspectives. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 142-151, 2009.

LANA M.; LOPES L.A.; MARTINS H.R.; BAHIA M.T.; MACHADO-DE-ASSIS G.F.; WENDLING A.P.; MARTINS-FILHO A.O.; MONTOYA R.A.; DIAS J.C.P.; ALBAJARVIÑAS P.; COURA J.R. Clinical and laboratory status of patients with chronic Chagas disease living in a vector-controlled área in Minas Gerais, Brazil, before and nine years after aetiological treatment. **Mem. Inst. OswaldoCruz**, v. 104, p. 1-9, 2009.

LANA, M.; FILHO, O. A. M. Revisiting the Posttherapeutic Cure Criterion in Chagas Disease: Time for New Methods, More Questions, Doubts, and Polemics or Time to Change Old Concepts? **Biomed Res Int**, v. 2015, 2015.

LAURIA-PIRES L.; BRAGA M.S.; VEXENAT A.C.; NITZ N.; SIMÕES-BARBOSA A.; TINOCO D.L.; TEIXEIRA A.R. Progressive chronic Chagas heart disease ten years after treatment with anti-*Trypanosoma cruzi* nitroderivatives. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** V. 63, p. 111-118, 2000.

LUQUETTI A.O.; RASSI A. **Conferência: Perspectiva del uso de la serologia (Ag naturais y outros) en la evaluación de la eficacia dela tratamiento etiológico.** Available: www.fac.org.ar/fec/chagas2/llave/c003/luque.htm. 2002.

LUQUETTI A.O. Etiological treatment for Chagas disease. **Parasitology Today**, v. 13, p. 127 – 128, 1997.

MACEDO V.; SILVEIRA C.A. Perspectivas da terapêutica específica na doença de Chagas. Experiências na forma indeterminada. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 20, 1987.

MACEDO V. O. **Forma Indeterminada da doença de Chagas**. In: Dias, JCP & Coura, JR (eds). Clínica e terapêutica da doença de Chagas. Uma abordagem prática para o clínico geral. Rio de Janeiro, Editora FIOCRUZ, p. 135-151, 1997.

MACHADO-DE-ASSIS G.F. Avaliação laboratorial e clínica de indivíduos chagásicos tratados com benzonidazol e não tratados residentes no município de Berilo, Vale do Jequitinhonha, MG. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Ouro Preto, Minas Gerais. 2011. 146p.

MACHADO-DE-ASSIS G.F.; AZEREDO B.V.; CARBAJAL DE LA FUENTE A.L.; DIOTAIUTI L.; LANA M. Domiciliation of *Triatoma pseudomaculata* in the Jequitinhonha Valley, State of Minas Gerais. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 40, p. 391-396, 2007.

MACHADO-DE-ASSIS G.F.; SILVA A.R.; DO BEM V.A.; BAHIA M.T.; MARTINSFILHO O.A.; DIAS J.C.; ALBAJAR-VIÑAS P.; TORRES R.M.; LANA M. Posttherapeutic cure criteria in Chagas' disease: conventional serology followed by supplementary serological, parasitological, and molecular tests. **Clin. Vaccine Immunol.**, v. 19, p. 1283-1291, 2012.

MARIN-NETO J.A.; RASSI A.; AVEZUM A.; MATTOS AC.; RASSI A. The BENEFIT trial: testing the hypothesis that trypanocidal therapy is beneficial for patients with chronic Chagas heart disease. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 319-324, 2009.

MARTINS H.R.; FIGUEIREDO L.M.; VALAMIEL-SILVA J.C.; CARNEIRO C.M.; MACHADO-COELHO G.L.; VITELLI-AVELAR D.M.; BAHIA M.T.; MARTINS-FILHO O.A.; MACEDO A.M.; LANA M. Persistence of PCR-positive tissue in benznidazole-treated mice with negative blood parasitological and serological tests in dual infections with *Trypanosoma cruzi* stocks from different genotypes. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 61, p. 1319-1327, 2008.

MARTINS-FILHO O.A.; ELOI-SANTOS S.M.; CARVALHO A.T.; OLIVEIRA R.C., RASSI A.; LUQUETTI A.O.; RASSI G.G.; BRENER Z. Double-blind study to evaluate flow cytometry analysis of anti-live trypomastigote antibodies for monitoring treatment efficacy in cases of human Chagas' disease. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 9, p. 1107-1113, 2002.

MEIRA W.S.F.; GALVÃO L.M.C.; GONTIJO E.D.; MACHADO-COELHO G.L.L.; NORRIS K.A.; CHIARI E. Use of *Trypanosoma cruzi* recombinant complement regulatory protein to evaluate therapeutic efficacy following treatment of chronic chagasic patients. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, p. 707-712, 2004.

MARTINS-FILHO O.A.; PEREIRA M.E.S.; CARVALHO J.F.; CANCELADO J.R. BRENER Z. Flow cytometry, a new approach to detect anti-live trypomastigote

antibodies and monitor the efficacy of specific treatment in human Chagas' disease. **Clin. Diagn. Lab. Immunol**, v. 2, p. 569-573, 1995.

MOLINA, I.; SALVADOR, F.; SANCHEZ-MONTALVA, A. The use of posaconazole against Chagas disease. **Curr Opin Infect Dis**, v. 28, n. 5, p. 397-407, 2015.

MORILLO, C. A. et al. Ensaio randomizado de benznidazol para cardiomiopatia chagásica crônica. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 14, p. 1295-1306, 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 38 (Suplemento III), 2005.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas doença de Chagas [Internet]. 2018.

OLIVEIRA e SILVA, JCV. Caracterização biológica e molecular de amostras de *Trypanosoma cruzi* isoladas de escolares e de suas mães residentes no Vale do Jequitinhonha, MG. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - **Universidade Federal de Ouro Preto**, MG, Brasil. 2008.

OLIVEIRA-SILVA J.C.V.; MACHADO-DE-ASSIS G.F.; OLIVEIRA M.T.; VALADARES H.M.S.; VALLE I.F.; PAIVA, N.C.N.; MARTINS, H.R.; LANA M. Molecular and biological characterization of *Trypanosoma cruzi* strains isolated from children from Jequitinhonha Valley, State of Minas Gerais, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 46, p. 433-440, 2013.

PASTORE et al. III Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia Sobre Análise e Emissão de Laudos Eletrocardiográficos. **Arq Bras Cardiol**, v. 106, n. 4, 2016.

PÉREZ-MOLINA J.A.; PÉREZ-AYALA A.; MORENO S.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ M. C.; ZAMORA J.; LÓPEZ VÉLEZ R. Uso de benznidazol no tratamento da doença de Chagas crônica: uma revisão sistemática com meta-análise. **J Antimicrob Chemother**, v. 64, p. 1139–1147, 2009.

RASSI A. J.; LUQUETTI A.O. Therapy of Chagas disease: In: Wendel S, Breer Z, Camargo ME, Rassi A (eds) Chagas disease (American trypanosomiasis): its impact on transfusion and clinical medicine. **ISBT Brazil**, São Paulo, p. 237-247, 1992.

RASSI A. J.; MARIN-NETO J. A. Chagas disease. **Lancet**, v. 375, p. 1388-402, 2010.

RASSI, A. J.; MARIN, J. A. Cardiomiopatia chagásica crônica: uma revisão dos principais mecanismos patogênicos e a eficácia do tratamento etiológico após o estudo BENznidazol Evaluation for Interrupting Trypanosomiasis (BENEFIT). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, p. 224-235, 2017.

REZENDE, J. M. O aparelho digestivo na doença de Chagas: aspectos clínicos. In: DIAS, J. C. P. & COURA, J. R, **Clínica e terapêutica da doença de chagas**: uma abordagem prática para o clínico geral. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1997.

RUSSOMANDO G.; TOMASSONE M.M.C.; GUILLEN I.; ACOSTA N.; VERA N.; ALMIRON M.; CANDIA N.; CALCENA M.F.; FIGUEREDO A. Treatment of congenital Chagas disease diagnosed and followed up by the polymerase chain reaction. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.59, p. 487-491, 1998.

SANTOS, L. S. et al. Método ELISA interno para análise da reatividade de IgG anti *Trypanosoma cruzi* para diagnóstico diferencial e avaliação da morbidade da doença de Chagas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, p. 3544, 2012.

SCHIJMAN A.G.; ALTCHER J.; BURGOS J. M.; BIANCARDI M.; BISIO M.; LEVIN M.; FREILIJ H. Aetiological treatment of congenital Chagas' disease diagnosed and monitored by the polymerase chain reaction. **J. Antimicrob. Chemother**, v. 52, p. 441-449, 2003.

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

SEGURA M.A.; MOLINA R.E.; BASOMBRIO M.A. Reversibility of muscle and heart lesions in chronic, *Trypanosoma cruzi* infected mice after late trypanomicidal treatment. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 89, p. 213-216, 1994.

SILVEIRA C.A.N.; CASTILLO E.; CASTRO C. Specific treatment evaluation for *Trypanosoma cruzi* in children, in the evolution of the indeterminate phase. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 33, p. 191-196, 2000.

SOLARI A.; ORTÍZ S.; SOTO A.; ARANCIBIA C.; CAMPILLAY R.; CONTERAS M.; SALINAS P.; ROJAS A.; SCHENONE H. Treatment of *Trypanosoma cruzi*- infected children with nifurtimox: a 3 year follow-up by PCR. **J. Antimicrob. Chemother**, v. 48, p. 515-519, 2001.

SOSA-ESTANI S.; SEGURA E.L. Etiological treatment in patients infected by *Trypanosoma cruzi*: experiences in Argentina. **Curr. Opin. Infec Dis**, v. 19, p. 583-587, 2006.

SOSA-ESTANI S.; SEGURA E.L. Treatment of *Trypanosoma cruzi* infection in the indeterminate phase: experience and current guidelines of treatment in Argentina. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 363-365, 1999.

SOSA-ESTANI S.; SEGURA E.L.; RUIZ A.M.; VELAZQUEZ E.; PORCEL B.M.; YAMPOTIS C. Efficacy of chemotherapy with benznidazole in children in the indeterminate phase of Chagas' disease. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 59, p. 526-529, 1998.

STREIGER M.L.; DEL BARCO M.L.; FABBRO D.L.; ARIAS E.D.; AMICONE N.A. Longitudinal study and specific chemotherapy in children with chronic Chagas' disease, residing in a low endemicity area of Argentina. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 37, p. 365-375, 2004.

Simões, M. V., Romano, M. M. D., Schmidt, A., Martins, K. S. M., & Marin-Neto, J. A.. Cardiomiopatia da doença de Chagas. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, v. 31, n. 2, p. 173-189, 2018.

SUASNÁBAR D.F.; ARIAS E.; STREIGER M.; PIACENZA M.; INGARAMO M.; DEL BARCO M.; AMICONE N. (2000). Evolutive behavior towards cardiomyopathy of treated (nifurtimox or benznidazole) and untreated chronic chagasic patients. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 42, p. 99-109, 2000.

TOLEDO, M. J. O et al. Effects of specific treatment on parasitological and histopathological parameters in mice infected with different *Trypanosoma cruzi* clonal genotypes. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 53, p. 1045–1053, 2004.

TOLEDO M.J et al. *Trypanosoma cruzi*: chemotherapy with benznidazole in mice inoculated with strains from Paraná state and from different endemic areas of Brazil. **Rev Inst Med Trop**, v. 39, n. 5, p. 283-90, 1997.

TOLEDO M.J.; BAHIA M.T.; CARNEIRO C.M.; MARTINS-FILHO O.A.; TIBAYRENC M.; BARNABE C.; TAFURI W.L.; LANA M. Chemotherapy with benznidazole and itraconazole for mice infected with different *Trypanosoma cruzi* clonal genotypes. **Antimicrob. Agents Chemother**, v. 47, p. 223-230, 2003,

TARLETON R.L. Chagas disease: a role for autoimmunity? **Trends Parasitol**, v. 19, p. 447-451, 2003.

URBINA J.A. Parasitological cure of Chagas disease: is it possible? Is it relevant? **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 349-355, 1999.

URBINA, J. A. Specific treatment of Chagas disease: current status and new developments. **Curr Opin Infect Dis**, v. 14, n. 6, p. 733-41, 2001.

VIOTTI R.; VIGLIANO C.; ARMENTI H.; SEGURA E. Treatment of chronic Chagas' disease with benznidazole: clinical and serologic evolution of patients with long-term follow-up. **Am. Heart J.**, v. 127, p. 151-162, 1994.

VIOTTI R.; VIGLIANO C.; LOCOCO B.; BERTOCCHI G.; PETTI M.; ALVAREZ M.G.; POSTAN M.; ARMENTI A. Long-term cardiac outcomes of treating chronic Chagas disease with benznidazole versus no treatment: a nonrandomized trial. **Ann. Intern. Med.**, v.144, p. 724-734, 2006.

VOLLER A.; BIDWELL D.E.; BARTLETT A. Enzyme immunoassays in diagnostic medicine. Theory and practice. **Bull. World Health Organ**, v. 53, p. 55-65, 1976.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Control of Chagas disease**. WHO technical report series 905, World Health Organization, Geneva, 2002.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **WHO and Mundo Sano Foundation to facilitate access to paediatric treatment of Chagas disease**. Geneva, 2017.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases First WHO report on neglected tropical diseases.

YUN O.; LIMA M.A.; ELLMON T.; CHAMBI W.; CASTILLO S.; FLEVAUD L.; RODDY P.; PARREÑO F.; ALBAJAR-VIÑAS P.; PALMA. P.P. Feasibility, drug safety, and effectiveness of etiological treatment programs for Chagas disease in Honduras, Guatemala, and Bolivia: 10-year experience of Médecins Sans Frontières. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 3, 2009.

ZHANG L.; TARLETON R. L. Parasite persistence correlates with disease severity and localization in chronic Chagas' disease. **J. Infect. Dis.**, v. 180, p. 480-486, 1999.

ZINGALES, B. et al. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. **Infect. Genet. Evolut.**, v. 12, p. 240-253, 2012.

ZULANTAY I.; HONORES P.; SOLARI A.; APT W.; ORTIZ S.; OSUNA A.; ROJAS A.; LOPES B.; SANCHES G. Use of polymerase chain reaction (PCR) and hybridization assays to detect *Trypanosoma cruzi* in chronic chagasic patients treated with itraconazole or allopurinol. **Diag. Microb. Infect. Dis.**, v. 48, p. 253-257, 2004.

9 ANEXOS

Anexo I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos você para participar da pesquisa “Avaliação pós-tratamento com benzonidazol de pacientes com doença de Chagas de Berilo e José Gonçalves de Minas, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais” do médico Dra. Rosália Moraes Torres e do pesquisador Dr. Olindo Assis Martins Filho.

Se concordar em participar, você ajudará a esclarecer qual o impacto do tratamento com benzonidazol na evolução clínica da doença de Chagas. A doença de Chagas é uma doença crônica, de evolução lenta que atinge especialmente o coração e o esôfago e cólon. Entretanto, para tais esclarecimentos precisamos da sua autorização para realizar a avaliação clínica (preenchimento da ficha clínica epidemiológica, anamnese, eletrocardiograma-ECG, raio X do tórax, raio X do esôfago e cólon contrastado e ecocardiograma) e laboratorial mediante coleta de um pouco do seu sangue, para verificar se você está curado(a) da infecção. A coleta de sangue será feita por um profissional experiente e treinado que usará agulha e tubo de coleta descartáveis para sua segurança. A coleta de sangue pode causar uma dor leve e, raramente, poderá aparecer uma mancha roxa no local da picada (hematoma). Você não precisa estar em jejum.

Todos esses procedimentos de avaliação clínica serão realizados pela Dra. Rosália Moraes Torres, médica experiente e especialista nisso para evitar que você sinta dor, mal estar ou qualquer outro problema. Você será questionado sobre seu bem estar durante todo o procedimento e poderá pedir para interrompê-lo a qualquer momento. Se algum desconforto ocorrer depois do procedimento, você deverá procurar a Dra. Rosália Moraes Torres no local onde você realizou a coleta do sangue ou mesmo os responsáveis pela pesquisa. Eles esclarecerão suas dúvidas, lhe orientarão e oferecerão assistência para resolver o problema.

A sua participação não é obrigatória e você não receberá remuneração pela participação. Você poderá se recusar a participar ou sair da pesquisa a qualquer momento. Você tem o direito de ter resposta a qualquer dúvida sobre os

procedimentos, riscos e benefícios relacionados com a pesquisa e de indenização caso lhe ocorra algum dano durante a pesquisa.

Seu nome e todos os seus dados pessoais não serão divulgados por nenhum dos membros da equipe da pesquisa, ou seja, é garantida a confidencialidade de todos os resultados da pesquisa e todos os dados ficarão sob sigilo em posse do coordenador da pesquisa [Dr. Olindo Assis Martins-Filho do CPqRR (exames laboratoriais alternativos) ou seus coparticipantes Profa. Marta de Lana da Universidade Federal de Ouro Preto (exames convencionais empregados na avaliação pós-tratamento) ou Dra. Rosália Moraes Torres (exames clínicos)].

Se você concordar em participar desse estudo, pedimos que assine este documento, afirmando que entendeu as explicações e que está de acordo.

Eu _____ ou _____ meu _____ responsável,

RG _____, telefone () _____ recebi as informações e esclarecimentos necessários, estou ciente dos meus direitos acima relacionados e concordo em participar do estudo.

Assinatura _____

_____, _____ de _____ de 20____.

Endereço e telefone institucional do Pesquisador Principal e médico responsável:

Dr. Olindo Assis Martins Filho - Av. Augusto de Lima, 1715 – Barro Preto - Belo Horizonte – Tel.: (31) 3349 7764

Dra. Rosália Moraes Torres – Rua Fábio Couri, 310, apto 601, Bairro Luxemburgo- Tel.: (31) 3344 0439 e (31) 99950 3110

Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do IRR, órgão responsável por defender os interesses dos participantes da pesquisa.

Endereço e telefone institucional do Comitê de Ética - IRR/FIOCRUZ-Minas

Av. Augusto de Lima, 1715 – Barro Preto - Belo Horizonte - CEP: 30190-002 - Tel.: (31) 3349 782