



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DR. HEITOR VIEIRA DOURADO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL
MESTRADO EM DOENÇAS TROPICAIS E INFECCIOSAS**



**INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO PARA DOENÇA DE CHAGAS:
PERCEPÇÃO DE UMA POPULAÇÃO DE ÁREA RURAL DO AMAZONAS, SOBRE
SUA VULNERABILIDADE À INFECÇÃO PELO *TRYPANOSOMA CRUZI***

LAISE KELMAN COSTA MAGALHÃES



**MANAUS
2015**

LAISE KELMAN COSTA MAGALHÃES

**INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO PARA DOENÇA DE CHAGAS:
PERCEPÇÃO DE UMA POPULAÇÃO DE ÁREA RURAL DO AMAZONAS, SOBRE
SUA VULNERABILIDADE À INFECÇÃO PELO *TRYPANOSOMA CRUZI***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade do Estado do Amazonas em Convênio com a Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, como requisito para obtenção do título de *Mestre em Doenças Tropicais e Infeciosas*.

Orientadora: Dra. Maria das Graças Vale Barbosa Guerra

MANAUS

2015

Ficha Catalográfica

- M188 Magalhães, Laise Kelman Costa Magalhães.
Inquérito soroepidemiológico para doença de chagas:
percepção de uma população de área rural do Amazonas, sobre
sua vulnerabilidade à infecção pelo *trypanosoma cruzi* /Laise
Kelman Costa Magalhães. -- Manaus : Universidade do Estado
do Amazonas, Fundação de Medicina Tropical, 2015.
xv, 59f. : il.
- Dissertação (Mestrado) apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Medicina Tropical da Universidade do Estado do
Amazonas – UEA/FMT, 2015.
- Orientadora: Profa. Dra. Maria das Graças Vale Barbosa
Guerra
- 1.Inquérito soroepidemiológico 2 Fatores de risco. 3. Doença
de chagas crônica I. Título.
- CDU: 616.937(811.3)(043)

Ficha Catalográfica elaborada pela Bibliotecária Maria Eliana N Silva, lotada na
Escola Superior de Ciências da Saúde - UEA

FOLHA DE JULGAMENTO

INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO PARA DOENÇA DE CHAGAS: PERCEPÇÃO DE UMA POPULAÇÃO DE ÁREA RURAL DO AMAZONAS, SOBRE SUA VULNERABILIDADE À INFECÇÃO PELO *TRYPANOSOMA CRUZI*

LAISE KELMAN COSTA MAGALHÃES

“Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Doenças Tropicais e Infecciosas, aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade do Estado do Amazonas em convênio com a Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado”.

Banca Julgadora:

Dra. Maria das Graças Vale Barbosa Guerra

Dr. Wuelton Marcelo Monteiro

Dr. João Marcos Benfica Ferreira Barbosa

DEDICATÓRIA

A memória da minha mãe Ana Magalhães, e ao meu pai Raimundo Magalhães pelas palavras de sabedoria e as renúncias que fizeram por amor aos seus filhos.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo agradeço ao Senhor da minha vida, DEUS, graças a Ele e por Ele finalizo mais uma etapa da minha vida. Que todo conhecimento adquirido no decorrer desse curso seja instrumento nas mãos dEle.

Aqueles que aqui na terra são os meus tesouros, minha família, graças ao incentivo, apoio e por acreditarem em mim, me ajudando a concluir mais uma jornada.

À minha orientadora por sua paciência, pois mesmo com os diversos compromissos, sempre se disponibilizou a me ajudar, orientar e até mesmo aconselhar-me com seus ensinamentos de vida para que eu não desistisse dos meus objetivos profissionais. O meu muito obrigada todo aprendizado.

As minhas amigas e irmãs Laylah Magalhães e Suzane Prestes, pela imensa ajudar na execução do projeto, assim como por cada momento vivenciado ao lado de vocês, por terem permanecido ao meu lado em toda e qualquer situação e pelos obstáculos que superamos juntas. Obrigada meninas por terem me apresentado uma amizade tão fiel.

Ao grupo Chagas: Clézia Roque, Rosa Santana, Marcel Maciel, Josué Oliveira e todos os alunos de Iniciação científica, por terem abdicados de muitos fins de semanas e feriados, para se dedicarem as atividades de campo e laboratório. Se hoje finalizo essa dissertação é graças a contribuição de cada membro da equipe que se empenhou para a realização de cada etapa.

À Dra. Leíla Coelho por ter disponibilizado do seu tempo para me ensinar com toda dedicação as técnicas sorológicas realizadas nessa dissertação.

Ao Dr. Jorge Guerra por ter acompanhado não somente a parte clínica, mas também por sua ajuda no trabalho de campo.

Ao Dr. João Marcos Ferreira por ter sido o responsável pelo componente cardiológico no seguimento clínico.

Ao Dr. Wuelton Monteiro pela colaboração nas análises estatísticas.

À Gerência de Entomologia, Nelson Fé, por todo apoio para a execução do projeto.

As técnicas Rita Teixeira por sua contribuição para a realização das coletas sanguíneas, e a Yolanda Noguth por todo apoio e ajuda em toda e qualquer situação.

À Gerência de Transporte da FMT-HDV, e a todos os motoristas que se empenharam para que chegássemos a todos os lugares, especialmente nos ramais Assentamento Tarumã Mirim.

À coordenação e a secretaria da pós-graduação em Medicina Tropical, por todo apoio, ajuda e aprendizado.

À todos os docentes e colegas da turma de 2013 do curso de Mestrado em Doenças Infecciosas e Tropicais da Universidade do Estado do Amazonas, com quem compartilhei experiências que contribuíram para o meu aprendizado acadêmico.

À Fundação de Amparo e pesquisa do Amazonas (FAPEAM) pela bolsa de estudos e financiamento para a execução do projeto de dissertação.

À Universidade do Estado do Amazonas pelo compromisso em formar profissionais qualificados.

À Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado por toda estrutura disponibilizada para a execução do projeto de dissertação.

Finalmente aos participantes do estudo sem os quais não teríamos conseguido realizar esse trabalho.

DECLARAÇÃO DAS AGÊNCIAS FINACIADORAS

À Fundação de Amparo e Pesquisa do Amazonas (FAPEAM) pelo financiamento e concessão da bolsa de pesquisa.

Ao Departamento de Ciencia e Tecnologia (DECIT) /Ministério da Saúde pelo financiamento desta pesquisa.

RESUMO

A Amazônia brasileira que por muitos anos foi considerada área não endêmica para doença de Chagas, nos anos recentes tem apresentado índices crescentes da ocorrência da doença tanto na forma aguda como crônica. Na forma aguda, tem sido relatada a forma oral como a principal via de infecção, entretanto, para a forma crônica, não se tem clareza, uma vez que: as pessoas não apresentam sintomas; não têm ideia de como ocorreu o contato com o parasito; e como não há domiciliação dos vetores, conseqüentemente, inexistente a forma tradicional de transmissão, a vetorial dentro do domicílio. Assim a dinâmica de transmissão da doença, ainda é pouco conhecida, principalmente de habitantes de área rural da região. Neste sentido, os inquéritos sorológicos são uma importante ferramenta na busca da prevalência da doença. Este trabalho teve como objetivo estimar a prevalência da Doença de Chagas em uma população residente em área rural, e descrever aspectos sobre seu conhecimento e vulnerabilidade à infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. O estudo foi realizado na zona oeste de Manaus, no Assentamento Tarumã Mirim e Bairro do Tarumã. Foram coletadas amostras de sangue e realizados testes sorológicos para a detecção da infecção chagásica. Foi realizada uma entrevista para a coleta de dados socioeconômicos e demográficos. Foram incluídas 1.845 pessoas e diagnosticados 45 casos da infecção chagásica crônica, tendo uma prevalência de 2,4; 28 (62%) eram do sexo masculino, 30 (67%) naturais do Estado do Amazonas. Foram fatores de risco para infecção pelo *T. cruzi*: pessoas que exercem atividades como agricultores [OR=2,13; (IC95%:1,18-3,85); (p=0,01)]; tem eletricidade na residência [OR=2,21 (IC95%:0,30-16,21)(p=0,424)]; encontraram triatomíneos no domicílio [OR=6,3 (IC95%:3,43-11,58) (p<0,001)]; tem o hábito de entrar na mata [OR=3,79 (IC95%:1,94-7,39) (p=0,0000)]; consomem carne de caça regularmente [OR=2,69 (IC95%:1,06-6,86) (p=0,031)], e histórico de haver recebido transfusão de sangue [OR=3,32 (IC95%:1,65-6,67) (p=0,0000)]. A ocorrência de casos humanos da infecção chagásica crônica, sem que a população tenha conhecimento da forma de transmissão, mas, com evidência de sua inserção no ciclo silvestre do agente etiológico, reforça a importância dos inquéritos sorológicos. Estes são uma importante fonte de informação que pode ser usada pelos órgãos de vigilância responsáveis por políticas públicas para adoção de medidas práticas.

Palavra chave: Inquerito soropidemiológico. Fatores de risco. Doença de Chagas crônica.

ABSTRACT

The Brazilian Amazon, for many years considered a non endemic area for Chagas disease, in recent years has presented growing number of cases of acute form as well as chronic disease. For acute form, the main route of infection reported was the oral form. However, for the chronic form, as infected persons don't present symptoms it is difficult to identify the contact with the parasite. As vectors are not present inside domicile the traditional form of vector transmission is not present. Thus the dynamics of disease transmission, it is still little known, mainly for inhabitants of rural area in the region. In this sense the serological surveys, are an important tool to estimate the prevalence of the disease. The aim of this study was estimate the prevalence of Chagas disease in a population resident in rural area, and describe aspects of their knowledge and vulnerability to infection by *Trypanosoma cruzi*. The study was conducted in the settlement Tarumã-Mirim. Blood samples were collected and serological tests for the detection of infection by *Trypanosoma cruzi* were performed. Interviews to collect socioeconomic and demographic data were conducted. From 1,085 houses, 683 (93%) accepted to participate. From those houses, 1,845 blood samples were collected and 45 (2,4%) cases of chronic chagasic infection were detected. The risk factors for *T. cruzi* infection were: persons performing activities such as farming [OR = 2.13; (95% CI: 1.18 -3.85); (p = 0.01)]; electricity in their residences [OR = 2.21 (95% CI: 0.30 -16.21) (p = 0.424)]; presence of triatomines at home [OR = 6.3 (CI95%: -11.58 3.43) (p < 0.001)]; habit of visiting the forests [OR = 3.79 (CI95%: 1.94 -7.39) (p = 0.0000)]; consuming meat game regularly [OR = 2.69 (95% CI: 1.06 -6.86) (p = 0.031)], and blood transfusion history [OR = 3.32 (95% CI: -6.67 1.65) (p = 0.0000)]. The occurrence of human cases of chronic Chagas infection, without population awareness of the transmission cycle but with evidence of their insertion in the sylvatic cycle of the etiological agent, reinforces the importance of serological surveys. These are important source of information that can be used by surveillance agencies responsible for public policies to adopt practical measures.

Key words: Serology, Amazon basin, ELISA, IFI, Tesa cruzi.

RESUMO LEIGO

A doença de Chagas ou Tripanossomíase Americana é um sério problema de saúde pública nas Americas. É basicamente uma endemia rural, de populações pobres que vivem em moradias de má qualidade, onde existem condições para desenvolvimento de insetos, vulgarmente conhecidos como barbeiros, considerados os transmissores do parasito causador da doença, o *Trypanosoma cruzi*. Na Amazônia brasileira sempre se acreditou que essa doença não existisse. No entanto, nos ultimos anos tem sido noticiado que pessoas têm sido acometidas com essa infecção, geralmente em situações conhecidas como surtos agudos associados ao consumo do suco de frutos de palmeiras, principalmente o açaí. Em levantamentos realizados nessa região têm sido encontrado algumas pessoas com a doença na forma cronica indeterminada, assim chamada, porque as pessoas não apresentam nenhum sintoma e nem tem conhecimento da doença. Assim, estudos que visam verificar a ocorrência da doença na região são de grande importância. Esse estudo teve como objetivo estimar a prevalência da Doença de Chagas em uma população residente em área rural, e observar o que eles conhecem sobre o que deve ser feito para evitar o contato com o agente causador o *Trypanosoma cruzi* e assim evitar a contaminação. Para isso realizou-se um levantamento buscando pessoas da área rural da zona oeste de Manaus no período de outubro de 2010 a março de 2012. Todas as residencias abertas foram visitadas e os moradores convidados a participar do estudo. De 1.088 residências encontradas 732 estavam abertas e 1.845 moradores de 683 residencias representando 93%, concordaram em participaram do estudo. A maioria do sexo masculino; naturais do estado do Amazonas. Registrou-se a infecção chagásica em 2,4% da população. Observou-se que embora o *T. cruzi* tenha sido detectado na Amazonia há mais de 80 anos por Carlos Chagas essa doença ainda é pouco conhecida, principalmente dos habitantes de area rural da região. A maioria não conhece os aspectos básicos da dinâmica de transmissão da infecção. Neste contexto, torna-se de grande, valia a orientação pelos órgãos de vigilancia sobre medidas preventivas, particularmente sobre o consumo de alimentos, uma vez que a transmissão oral tem sido a forma mais indicada nos casos oral detenctados.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Características socioeconômicas, fatores de vulnerabilidade da população para a inserção no ciclo silvestre do *T. cruzi* e descrição de variáveis potencialmente associadas a fatores de risco para doença de chagas.....29

Tabela 2- Principais características dos 45 participantes chagásicos36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Imagem Landsat de Manaus, em destaque as áreas de estudo	22
Figura 2 - Fluxo de procedimento do inquérito sorológico para doença de Chagas realizado na zona oeste de Manaus	23
Figura 3 - Quantificação de residências e inclusão de moradores como participantes do estudo	27
Figura 4 -Descrição dos resultados da sorologia	34

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES DE MEDIDA

DC – Doença de chagas

DNA - Ácido desoxirribonucleico

DTU – Unidade de digitação discreta

ELISA – Ensaio Imunoenzimático

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia

IFI – Imunofluorescência Indireta

INCRA – (Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária

OR - Odds Ratio

PCR – Reação em cadeia de polimerase

Tc – *Trypanosoma cruzi*

WB – Western Blot

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
1.1 Histórico	1
1.2 Agente etiológico da Doença de Chagas	2
1.2.1 Ciclo biológico do <i>T.cruzi</i>	2
1.2.2 Diversidade genética do <i>Trypanosoma cruzi</i>	4
1.2.3 Formas de Transmissão do <i>T. cruzi</i> ao homem	5
1.3 Aspectos Clínicos da Doença	8
1.3.1 Fase Aguda.....	8
1.3.2 Fase Crônica.....	8
1.3.3 Forma Indeterminada.....	10
1.4 Diagnóstico da Doença.....	10
1.4.1 Testes Parasitológicos.....	10
1.4.2 Testes Sorológicos.....	12
1.5 Epidemiologia	15
1.5.1 Inquéritos Nacionais Soro-epidemiológico-epidemiológicos.....	16
1.5.2 Doença de Chagas na Amazônia	18
2 OBJETIVO	20
2.1 Geral.....	20
2.1.1 Específicos.....	20
3 METODOLOGIA	21
3.1 Modelo de Estudo	21
3.2 Área de Estudo	21
3.3 População do Estudo.....	22
3.4 Procedimentos - Inquérito Sorológico.....	24
3.4.1 Testes sorológicos	24
3.4.2 Ensaio Imunoenzimático - ELISA	24
3.4.3 Teste para Imunofluorescência Indireta - IFI.....	25
3.4.4 Teste Western Blot	25
3.5 Acompanhamento Clínico.....	25
3.6 Aspectos Éticos.....	26
3.7 Análise dos Dados	26
4 RESULTADOS	27
4.1 Caracterização da população de estudo quanto aos aspectos gerais e sócio-epidemiológicos e seu conhecimento sobre a doença de chagas	27

4.2	Fatores de vulnerabilidade e inserção da população no ciclo silvestre <i>Trypanosoma cruzi</i>	28
4.3	Aspectos sobre a concordância dos testes sorológicos utilizados e estimativa da taxa de soroprevalencia para infecção chagásica.....	33
5.1	Caracterização da população de estudo quanto aos aspectos gerais, sócio-epidemiológicos e seu conhecimento sobre a doença de chagas e aspectos que vulnerabilizam a população para infecção pelo <i>Trypanosoma cruzi</i>	38
5	CONCLUSÃO	47
6	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	48
7	ANEXO	55
	Anexo 1 - Termo de Consetimento Livre Esclarecido.....	55
	Anexo 2 - Ficha de Investigaçã e Acompanhamento Clínico de Pacientes.....	56
	Anexo 3 -Parecer de Aprovação do CEP.....	58

INTRODUÇÃO

Desde a sua descoberta em 1909, a doença de Chagas (DC) continua sendo um problema de saúde pública em grande parte dos países latino-americanos, motivo de preocupação, tanto para as autoridades sanitárias como para a comunidade científica. Nas últimas décadas programas de controle e medidas de prevenção estão sendo adotadas em possíveis locais de emergência e dispersão da doença (1)(2).

No Brasil estudos vêm sendo realizados com a finalidade de verificar a soroprevalência, os aspectos epidemiológicos, avaliação do nível de conhecimento da população sobre a relação vetor-doença, assim como forma de transmissão da mesma (3)(4).

A DC é considerada primariamente uma endemia rural, que afeta populações pobres e de pouca cultura, cujos indivíduos vivem em casebres de má qualidade, onde se domicíliam com relativa facilidade algumas das espécies do inseto vetor (2).

1.1 Histórico

Em 1907 o médico e cientista brasileiro Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas, assistente do Instituto Oswaldo Cruz, foi designado para a cidade de Lassance, interior de Minas Gerais, com o objetivo de controlar a malária que acometia os trabalhadores, envolvidos na construção do prolongamento da estrada de ferro central do Brasil. Instalado em um vagão de trem, que servia o mesmo tempo de residência e laboratório, Carlos Chagas iniciou o trabalho de controle da malária, porém, não se limitou ao tratamento dos doentes, nas horas vagas capturava, classificava e estudava os hábitos dos anofelinos assim como mosquitos locais, de modo que em 1908 sua dedicação o levou a descobrir um flagelado de mico, o qual denominou *Trypanosoma minasense*. Após dois anos, o pesquisador identificou outro *Trypanosoma* diferente do anterior, de cinetoplasto extremamente denso e movimentação intensa, no tubo digestivo de “chupões” ou “barbeiros”, um inseto hematófago muito frequente em casas da região, que após em Manguinhos, Chagas deu o nome de *Trypanosoma cruzi* em homenagem ao seu mestre e diretor Oswaldo Cruz. O maior mérito desse médico pesquisador foi descrever a doença por completo em todos os seus principais

parâmetros: o agente etiológico, as formas de transmissão, a epidemiologia, as medidas profiláticas, os aspectos clínicos e os princípios da base terapêutica (5).

1.2 Agente etiológico da Doença de Chagas

O *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* é um protozoário flagelado da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae caracterizado pela existência de um único flagelo, um cinetoplasto e organela contendo DNA localizada na mitocôndria. Seu complexo ciclo biológico para ser realizado necessita de um hospedeiro vertebrado, que pode ser espécies de diversas ordens de mamíferos, inclusive o homem, e um hospedeiro invertebrado, insetos hemípteros, conhecidos popularmente como barbeiros. Durante o seu ciclo de vida o *T. cruzi* apresenta três principais formas evolutivas: a tripomastigota (estágio infectante ao homem), epimastigotas (inseto) e amastigotas (vertebrado), as quais sofrem mudanças estruturais, bioquímicas e morfológicas de acordo com o hospedeiro (ambiente) em que se encontra. São identificadas morfológicamente pela posição do cinetoplasto com relação ao núcleo da célula e à emergência do flagelo (6)(7).

1.2.1 Ciclo biológico do *T. cruzi*

1.2.1.1 Ciclo Evolutivo do *T. cruzi* no Hospedeiro vertebrado

Independente do mecanismo de transmissão do *T. cruzi* no hospedeiro vertebrado, a forma infectante tripomastigota tem necessariamente de penetrar uma célula a fim de cumprir o seu ciclo evolutivo. O ciclo inicia-se quando tripomastigotas metacíclica presentes nos dejetos do vetor adentram através da pele ou mucosas do hospedeiro no organismo, onde o parasito se introduz em uma gama de células e tecidos: musculatura lisa e estriada, macrófagos, células epiteliais e fibroblastos. Após a penetração na célula hospedeira (macrófagos) o tripomastigota se diferencia em amastigota, que após período de latência de 20 a 30 horas inicia o seu processo de divisão binária intracelular que ocorre a cada 12 horas. O número de amastigotas intracelulares varia entre limites de 50 a 500 dependendo do tamanho da célula hospedeira, das características da cepa do *T. cruzi* e do número de tripomastigotas que concomitantemente se interioriza na célula. Os amastigotas transformam-se em tripomastigotas e após o rompimento da membrana da célula hospedeira, os

tripomastigotas são liberados e podem infectar células adjacentes, ganhar a corrente sanguínea e atingir outras células hospedeiras ou serem ingeridos pelo triatomíneo e dar assim continuidade ao ciclo de multiplicação no inseto vetor (5)(6).

1.2.1.2 Ciclo Evolutivo no Hospedeiro invertebrado

Os hospedeiros invertebrados são insetos estritamente hematófagos conhecidos popularmente como “barbeiros”. Ao ser ingerido pelo vetor o *T. cruzi* as formas tripomastigosta passam por uma sequência irreversível de transformações ao longo do tubo digestivo do inseto. Desse modo as formas sanguíneas ingeridas transformam-se em formas esferomastigostas e em epimastigotas; passando ao intestino médio processa-se a multiplicação dos epimastigotas, que em geral se perpetua por toda a existência do vetor; finalmente os epimastigotas atingem o reto onde se diferenciam em tripomastigotas metacíclicos que são eliminados com as dejeções do inseto. O ciclo evolutivo do *T. cruzi* no vetor é influenciado por vários fatores, tais como: a espécie do inseto, a linhagem do parasita, número de parasitas ingeridos e fatores ambientais. Alguns triatomíneos são parcial ou totalmente refratários à infecção pelo *T. cruzi*, fenômeno que tem sido atribuído à presença no tubo digestivo do inseto de um fator hemolítico que lisa as hemácias e reduz a população parasitária (6).

São conhecidas mais de 120 espécies de insetos vetores da Tripanossomíase americana, todas elas da classe hemíptera, família reduviidae e subfamília triatominae. São insetos de considerável tamanho (adultos variando de 0,5 a 4 cm de comprimento), estritamente hematófagos, de hábitos em geral noturnos e com metamorfose parcial (cinco estádios evolutivos, adquirindo asas apenas no último - adulto). Vivem em média entre 1 e 2 anos, com a evolução de ovo a adulto tardando de 3 a 8 meses. Insetos lentos, pouco agressivos e de vôo difícil, encontram seus principais fatores de sucesso nos hábitos noturnos (escapando, assim, à maioria das aves), na grande capacidade reprodutora, na vida relativamente longa e na enorme capacidade de resistência ao jejum (8). Na Amazônia as espécies de triatomíneos mais frequentes são *Rhodnius pictipes*, *Rhodnius robustus* e *Panstrongylus geniculatus* (9).

1.2.2 Diversidade genética do *Trypanosoma cruzi*

A inusitada heterogeneidade biológica dos isolados do *T. cruzi* quanto à sua morfologia, conteúdo de DNA, virulência, patogenicidade, suscetibilidade a drogas e outros parâmetros, está amplamente documentada na literatura. Desde a década de 70 estas observações estimularam a busca de marcadores moleculares que pudessem correlacionar o genótipo do parasita com as manifestações clínicas da doença de Chagas. Desta forma, o *T. cruzi* tornou-se um modelo favorito para estudos de epidemiologia molecular e genética de população, sendo possivelmente o patógeno, cuja evolução e estrutura populacional sejam mais conhecidas (10).

Os primeiros estudos de genética de população do *T. cruzi* basearam-se na análise do perfil eletroforético de isoenzimas historicamente utilizadas para explorar a diversidade genética de microorganismos. Tais estudos revelaram a presença de três grupos principais denominados zimodemas, que foram classificados como Z1, Z2 e Z3 (11)(12).

Posteriormente duas linhagens filogenéticas principais de *T. cruzi* (I e II) foram definidas através da amplificação de marcadores genéticos no DNA nuclear e no Kdna, em amostras isoladas de diferentes hospedeiros. A linhagem I corresponde ao Z2, enquanto que o Z1 pertence à linhagem II; a posição do Z3 não pôde ser definida nestes achados (13).

Em 2009 a comunidade científica sentiu a necessidade de padronizar mais uma vez a nomenclatura dos grupos de *T. cruzi*, para facilitar a comunicação entre os pesquisadores, visando o entendimento de questões de biologia básica, de características eco-epidemiológicas e de patogenicidade dos grupos. Assim o comitê recomenda que o *T. cruzi* seja dividido em seis grupos (*T. cruzi* I–VI); cada grupo seja denominado DTU (“discrete typing unit”), onde DTU é definido com um conjunto de isolados que é geneticamente semelhante e que pode ser identificado por marcadores moleculares ou imunológicos comuns (14); as DTUs *T. cruzi* I e *T. cruzi* II correspondem aos dois grupos originalmente definidos na primeira reunião de expertos (10).

Ciclos de transmissão do *T. cruzi* I predomina nos reservatórios silvestres, ao passo que *T. cruzi* II é mais associada a doença de Chagas no ciclo doméstico. A ligação entre os dois ciclos é feita por insetos vetores que carregam *T. cruzi* II para o domicílio (15).

A distribuição das DTUs em humanos indica a prevalência da TcI em pacientes do México, América Central, países do Norte da América do Sul e Amazônia. Nestes pacientes são observadas as formas indeterminada e cardíaca da doença de Chagas (10). Os TcI e TcII estão associados com lesões cardíacas em infecções humanas mas apenas o TcII está associado também com lesões do trato digestivo (16).

Na Amazônia brasileira a linhagem TcIII e TCIV tem sido relacionada a casos agudos esporádicos da doença (17)(18) e o TcI e o TcIV são os mais incriminados pelas infecções humanas (19)(20).

Em um estudo realizado em camundongos observou-se que TcI e TCIV são divergentes em termos de propriedades biológicas e médicas, com uma virulência mais elevada para TcIV, revelada por vários parâmetros biológicos (19). Recente uma nova linhagem de *T. cruzi*, o TcBat, foi descrita como sendo originário de morcegos (21).

1.2.3 Formas de Transmissão do *T. cruzi* ao homem

A infecção pelo *T. cruzi* pode ser adquirida a partir de transmissão vetorial, transfusão de sangue, transmissão transplacentária ou oral por gêneros alimentícios contaminados por fezes de triatomíneos infectados (22).

1.2.3.1 Transmissão vetorial

A principal forma de transmissão é a vetorial, que acontece pelo contato da pele ou mucosas com o parasito provocadas pelo triatomíneo inseto vetor durante o repasto sanguíneo ao eliminar as fezes ou urina contendo a forma infectante (tripomastigota metacíclica) (23). O risco de contrair a doença de chagas está

associado às precárias habitações nas áreas rurais, pois o inseto vetor se aloja nas frestas das paredes de barro das casas da população pobre. No Brasil, entre as muitas espécies existentes, aquela epidemiologicamente mais importante (*Triatoma infestans*) se reconheceu desde início como passível de eliminação por ser exclusivamente domiciliada (24).

1.2.3.2 Transmissão transfusional

A possibilidade de transmissão da doença de Chagas através da transfusão de sangue foi aventada em 1936 na Argentina e confirmada em 1952 no Brasil (25).

A alta prevalência de indivíduos chagásicos nos centros urbanos e a inexistência de programas de controle, fez com que a transmissão transfusional da DC fosse responsável na década de setenta, por aproximadamente 20 mil novos casos anuais da doença apenas no Brasil (26).

Hoje os riscos de transmissão transfusional no Brasil são mínimos, tendo sido estimados entre três e vinte ocorrências no contexto de mais de 4 milhões de transfusões anuais (27).

1.2.3.3 Transmissão congênita

Conforme o consenso brasileiro em doença de Chagas, considera-se um caso congênito basicamente as crianças nascidas de mães infectadas, com a confirmação do parasita no sangue do recém nascido e/ou a detecção de anticorpos não-maternos na criança após os 6 ou 7 meses de idade, desde que excluídos outros mecanismos de transmissão (28).

No último levantamento de soroprevalência da doença de Chagas realizado em áreas rurais do país, foi diagnosticado 20 casos com provável transmissão congênita (29). Em 2011 houve o primeiro relato de doença de Chagas congênita autóctone na Amazônia, resultante de infecção materna aguda durante um surto familiar de transmissão oral (30).

1.2.3.4 Transmissão oral

A Transmissão oral do *T. cruzi* é relatada de longa data, sendo comum entre animais no ciclo silvestre, esporádica e circunstancial em humanos, ocorrendo pela ingestão de alimentos contendo triatomíneos ou suas dejeções. Nos últimos anos tem recebido crescente atenção por conta de surtos agudos relatados no Brasil e Venezuela; com histórico do consumo de sucos de frutas contaminados, onde na Venezuela estava associado ao consumo da goiaba (31)(32), em Santa Catarina a cana-de-açúcar (33), Pará e Amazonas ao açaí e abacaba (34). Esses surtos aparecem geralmente de forma súbita atingindo um número pequeno de pessoas (35)

A maioria dos surtos afetam grupos familiares especialmente os que ocorrem na região amazônica (36). O maior surto já relatado registrou mais de 100 infecções entre os estudantes e funcionários de uma escola em Caracas, contaminados pelo suco de goiaba (37).

1.2.3.5 Outras formas de transmissão

Incluem transplantes de órgãos de doadores infectados. No Brasil foram descritos casos de transmissão através do transplante de rins (38), e infecções acidentais de profissionais que trabalham em laboratórios esses acidentes têm ocorrido em laboratórios de triatomíneos, na captura do vetor em áreas endêmicas, em trabalhos experimentais com mamíferos infectados e culturas, aerossóis de materiais infectados e nas mais diversas situações. Também há relatos de contaminação cirúrgica a partir de pacientes agudos, nesse caso a contaminação ocorre no momento da coleta de sangue ou devido as deficiências de segurança no transporte de materiais infectados. Na década de 1980 o Prof. Zigman Brener (1984) já havia contabilizado numa listagem pessoal, mais de cinquenta episódios inseridos nos vários serviços no Brasil e no exterior (2)(39).

1.3 Aspectos Clínicos da Doença

Clinicamente a doença de Chagas é caracterizada por uma fase aguda e uma fase crônica (2) com sintomas clássicos ou quase imperceptíveis dependendo da linhagem do *T. cruzi* circulante e da resposta imune do hospedeiro (40).

1.3.1 Fase Aguda

É caracterizada geralmente pela ausência de manifestações clínicas, embora uma reação inflamatória cutânea na porta de entrada do parasito, conhecida como chagoma seja comum. Se a infecção é na mucosa conjuntival observa-se um edema unilateral bipalpebral conhecido como sinal de Romana. Após um período de incubação de 7 a 14 dias, crianças ou raramente adultos podem apresentar sintomas mais graves. Essa fase dura em média de um a quatro meses, durante a qual são observadas altas taxas de parasito no sangue, detectado pelo exame a fresco e no exame histopatológicos que detecta as formas amastigotas nos tecidos (41).

1.3.2 Fase Crônica

Inicia-se com um período que pode ser assintomático, caracterizando a forma indeterminada ou latente durante esse estágio. Apesar de comprovada a infecção por *T. cruzi* não há lesões aparentes, e os estudos eletrocardiográficos e radiológicos do coração, esôfago e cólon aparecem normais (42).. É marcada pela escassez de parasitos no sangue devido ao desenvolvimento de uma resposta imune específica capaz de controlar a multiplicação do parasito. Essa fase é conhecida pelo acometimento do coração (forma cardíaca), do tubo digestivo (forma digestiva) e do sistema nervoso (forma nervosa), porém pode haver uma ausência de sintomas (forma indeterminada), sendo possível diagnosticar a doença somente através de exames imunológicos, que irão detectar o que caracterizar a infecção chagásica, caso seja reativo em dois testes diferentes (28).

1.3.2.1 Forma Cardíaca

Nessa forma são observadas complicações relacionadas com alterações no ritmo cardíaco e na condução do impulso elétrico. É a mais expressiva manifestação

clínica da doença, por sua frequência e gravidade. Na grande maioria dos casos a sintomatologia é caracterizada por cardiomiopatia dilatada associada com miocardite, fibrose e disfunção cardíaca (43). O envolvimento cardíaco é a maior causa de morbidade e mortalidade da doença pelos diferentes níveis de dano no sistema de condução e pela ocorrência de falência cardíaca nos casos mais severos (44).

Na Amazônia brasileira há relatos de pacientes com manifestações de cardite aguda. Um levantamento feito em 1994 a partir de 20 pacientes com DC aguda revelou alterações eletrocardiográficas em metade dos pacientes (45).

No estado do Pará registrou-se casos de comprometimento cardíaco agudo, com evidências de miocardiopatia e alterações no sistema de condução do coração, havendo similaridade com a descrição da doença em áreas endêmicas (46). Em 2008 foram descritos 233 casos de doença de Chagas aguda oriundos dos estados do Pará, Amapá e Maranhão, com cerca de 40% dos pacientes apresentando alguma alteração cardíaca (36).

No Amazonas, Barbosa-Ferreira et al. (47), observaram alterações cardíacas em pacientes diagnosticados com doença de Chagas aguda procedentes do estado do Amazonas e Pará. Em 2010 documentou-se o primeiro caso da forma predominantemente tromboembólica da cardiopatia chagásica crônica na Amazônia (48).

1.3.2.2 Forma Digestiva

É caracterizada pela dilatação de vísceras ocas principalmente o esôfago e cólon. Pacientes sintomáticos podem ter disfunção de motilidade e obstipação intestinal, podendo haver também comprometimento esofageano, sendo este bastante comum e caracterizado por disfagia e regurgitação. Afeta de 15% a 20% da população infectada em áreas endêmicas e, geralmente manifesta-se anteriormente à forma cardíaca. Embora as manifestações cardíacas sejam comuns a todas as áreas geográficas onde a doença existe, a digestiva praticamente não ocorre em pacientes que vivem nos países americanos situados acima da linha do Equador (28)(49).

1.3.2.3 Forma Mista

A forma mista é caracterizada pela manifestação simultânea das formas cardíaca e digestiva (2)

1.3.3 Forma Indeterminada

A maioria dos casos agudos não tratados evoluem para a chamada forma crônica indeterminada, que consiste na presença da infecção revelada por sorologia e/ou métodos parasitológicos indiretos, com ausência de sintomatologia e aos exames clínicos, eletrocardiográficos e radiológicos (coração, esôfago e cólon) normais, tendo muitas vezes sido chamada de forma subclínica ou assintomática (50). Mais de 50% dos indivíduos permanecem na forma indeterminada por toda a vida e muitos desconhecem a presença da doença, sendo comum a descoberta ao acaso, através de exames admissionais ou testes para triagem de doadores em bancos de sangue (42).

1.4 Diagnóstico da Doença

O diagnóstico é realizado com base em aspectos da epidemiologia e/ou pela clínica e confirma-se pela presença do parasito (testes parasitológicos) ou de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi*, através de testes sorológicos (51). Apresentam diferentes resultados de sensibilidade se aplicados na fase aguda ou crônica da doença, devido a quantidade de parasitos circulantes (52).

1.4.1 Testes Parasitológicos

Na fase aguda o diagnóstico etiológico é baseado na detecção do parasita através de métodos parasitológicos diretos e/ou indiretos (53)

1.4.1.1 Exame direto

Segundo o Ministério da Saúde (54) o exame parasitológico direto é a técnica de referência para o diagnóstico da fase aguda da doença. O sangue deve ser colhido em tubos EDTA, para processamento de todas as metodologias descritas a seguir:

- a. A pesquisa à fresco de tripanossomatídeos: utilizada como primeira alternativa por ser de execução rápida e simples, sendo mais sensível que o esfregaço corado. A situação ideal é a realização da coleta com paciente febril e dentro de 30 dias do início de sintomas;
- b. Concentração – Strout (microhematócrito ou creme leucocitário): maior sensibilidade, são recomendados principalmente quando a pesquisa a fresco for negativa. São indicados quando o paciente estiver com sintomas há mais de 30 dias;
- c. Gota espessa ou esfregaço: possui menor sensibilidade que os métodos anteriores, prioritariamente utilizado na região da Amazônia Legal, em virtude da sua utilização para diagnóstico da Malária. Em casos de elevada parasitemia, como na transmissão transfusional e em imunodeprimidos, pode ser um achado casual no exame de esfregaço para contagem diferencial de leucócitos.

Quando os resultados forem negativos na primeira amostra devem ser realizadas novas coletas até a confirmação do caso e/ou desaparecimento dos sintomas agudos, ou confirmação de outra hipótese diagnóstica.

1.4.1.2 Exames indiretos

Os métodos convencionais indiretos para a identificação do *T. cruzi*, são o xenodiagnóstico e a hemocultura.

1.4.1.2.1 Xenodiagnóstico

Este método consiste em investigar a presença de parasitas nas fezes e/ou conteúdo intestinal de barbeiros (insetos vetores), mantidos em laboratório e alimentados com sangue de indivíduos que serão testados.

1.4.1.2.2 Hemocultura

Existe uma grande variedade de meios de cultura nos quais o *T. cruzi* pode multiplicar-se abundantemente, tais como os meios difásicos com base de ágar sangue (NNN) e outros meios líquidos como o LIT (Liver Infusion Triptose) (55). A sensibilidade desse método varia de 0% a 98%, dependendo de fatores relacionados ao protocolo adotado, como volume de sangue, temperatura de processamento e incubação, presença de anticoagulantes e meio de cultura utilizado (56).

1.4.2 Testes Sorológicos

São de extrema importância para o diagnóstico da doença de Chagas especialmente na fase crônica (57), contribuem para fazer diagnósticos individuais, levantar níveis de endemicidade, avaliar medidas de controle de transmissão, selecionar doadores de sangue, avaliar atividades de drogas e acompanhar as respostas imunes (53).

São testes que se baseiam na detecção de imunoglobulinas específicas contra o *T. cruzi* da classe IgM (fase aguda) e IgG (fase crônica), contra uma complexa mistura de antígenos do parasito (42). Pelo elevado grau de confiança têm sido empregados na avaliação do comportamento da infecção e na avaliação do impacto de medidas de controle vetorial em áreas endêmicas (58).

Nos últimos 30 anos, novos testes de triagem sorológica foram sendo introduzidos, na medida em que os agentes patógenos eram identificados e reagentes disponibilizados. Considera-se indivíduo infectado aquele que apresenta anticorpos anti-*T. cruzi* detectados por meio de no mínimo dois testes sorológicos de princípios distintos ou com diferentes preparações antigênicas (28).

1.4.2.1 Teste ELISA

O teste de ELISA (Ensaio Imunoenzimático) é o mais indicado por sua alta sensibilidade, rapidez e baixo custo. Existem dois tipos de teste de ELISA: o indireto

e o sanduíche, sendo que para diagnosticar a doença de Chagas é realizado o teste indireto.

Esta técnica consiste em detectar anticorpos contra o parasita através da utilização de um segundo anticorpo (anti-imunoglobulina humana produzido em animais de laboratório) conjugados a enzimas, que em presença de substratos específicos geram produtos coloridos, cuja quantificação é feita espectrofotometricamente (59). O resultado de uma reação é definido pela leitura da absorbância ou densidade óptica (DO) em espectrofotômetro, utilizando um filtro com comprimento de onda indicado pelo fabricante. Cada conjunto tem a sua forma de calcular o “cut-off” (CO), ou seja, o seu ponto de corte, acima ou abaixo do qual as amostras são consideradas reagentes, não reagentes ou indeterminadas (60)

O desempenho dos diferentes Kits diagnósticos para a infecção chagásica tem mostrado uma sensibilidade de 97,7 a 100% e especificidade de 93,3 a 100% (53). A possibilidade de automação é uma das suas maiores vantagens técnicas, pois desta forma é possível testar várias amostras ao mesmo tempo numa placa de 96 poços, sendo a abordagem mais utilizada em bancos de sangue (61). Atualmente, o método o ELISA é o mais utilizado na triagem de pacientes nos serviços de hemoterapia por permitir boa reprodutibilidade, fácil execução e possibilidade de automação (62).

1.4.2.2 Teste IFI

Este teste baseia-se na interação das formas epimastigotas de *T. cruzi* com anticorpos específicos *anti-T. cruzi*. O antígeno é preparado com formas epimastigotas de *T. cruzi*, que são coletadas da cultura em meio LIT na fase exponencial de crescimento, lavados e fixados em solução de formol, paraformaldeído e/ou liofilizado. Os anticorpos do soro de pacientes são colocados sobre uma lâmina contendo antígenos de *T. cruzi*. Os anticorpos anti- *T. cruzi* são revelados com o uso de anticorpos anti-imunoglobulina (Ig) humanos conjugados a fluoresceína e observados ao microscópio de fluorescência (63). Amostra reagente: presença de fluorescência uniforme em todas as membranas do *Trypanosoma*. Amostra não reagente: Ausência total de fluorescência nos trypanosomas e amostra indeterminada: qualquer padrão diferente dos descritos acima (60).

A maior desvantagem é a possibilidade de reações cruzadas com as leishmanioses, mesmo os títulos obtidos por RIFI utilizando antígenos de leishmânias sendo menores que com *T. cruzi* (64). A grande vantagem é a alta sensibilidade sendo por muitos anos o teste de escolha para a confirmação sorológica em casos de resultados inconclusivos (63).

1.4.2.3 Teste de Hemaglutinação Indireta

É um teste que baseia-se na aglutinação de hemácias de carneiro, recobertas com antígenos citoplasmáticos de *T. cruzi* em presença de soro que contenham anticorpos para este parasita (65). Amostra é considerada reagente quando as hemácias estão distribuídas de maneira homogênea, em forma de tapete ou manto, ocupando área maior do que 50% do fundo da placa; não reagente quando as hemácias ficam acumuladas em forma de botão no fundo do poço; e é considerada indeterminada quando apresenta qualquer padrão diferente dos anteriores (61). No entanto, a utilização do 2-mercaptol-etanol (2ME) em amostras reagentes para eliminar anticorpos inespecíficos de classe IgM que podem induzir resultados falso-positivos é uma desvantagem da técnica, devido à sua toxicidade (63).

1.4.2.4 Teste Western Blot

Esse teste é baseada no uso de extrato de formas tripomastigotas do *T. cruzi* em reações de imunoblotting. O antígeno imunodominante semipurificado denominado TESA (Trypomastigote Excreted-Secreted Antigen), contém em sua composição estrutural o SAPA (Shed Acute Phase Antigen) e outros componentes, ainda não identificados, que migram em reações de imunoblotting na região entre 130-200 kDa (encontrados na fase aguda da doença) e 150-160 kDa (encontrados na fase crônica). Esse teste não tem demonstrado reatividade cruzada (66).

Utiliza antígenos excretório-secretório de tripomastigotas de *T. cruzi* da cepa Y transferidos à membrana de nitrocelulose, onde anticorpos (amostra) podem ligar-se e serem revelados pela adição de anticorpos anti-IgG conjugados a enzima

foi definido como um método sensível nos casos de doenças de Chagas aguda e congênita apresentando 100% de sensibilidade e 96% de especificidade (67).

1.5 Epidemiologia

Tudo indica que a DC é relativamente antiga e focal em algumas populações nativas da América, tendo se expandido na era pós-colombiana com as enormes mudanças demográficas e ecológicas produzidas pelas conquistas hispânicas e portuguesas. Em princípio é basicamente uma endemia rural, de populações pobres e de pouca cultura, cujos indivíduos vivem em casebres de má qualidade, onde se domicíliam com relativa facilidade algumas das espécies do inseto vetor (68).

Sua maior dispersão e incidência parece ter ocorrido na primeira metade do século XX, tendo como principal forma de transmissão a vetorial. A partir dos anos 40, observou-se uma progressiva urbanização da endemia, fruto das crescentes migrações das populações rurais para as cidades e também do aumento do número de casos produzidos pela via transfusional, inclusive para países não-endêmicos (44).

Atualmente cerca de 65 milhões de pessoas nas Américas vivem em áreas expostas a doença de Chagas e correm o risco de contrair a infecção. Considerada endêmica em todos os países sul-americanos e Central, bem como no México e o sul dos Estados Unidos, onde se tem relatos no Texas, Califórnia, Tennessee, Louisiana e Mississippode, com ciclos enzoóticos de *T. cruzi* e infecções humanas autóctones, transmitidas por vetores (44)(69).

A urbanização progressiva da população rural na América Latina, principalmente a partir da década de 1940, fez com que a doença de Chagas se tornasse um importante problema médico e social urbano. Essa urbanização contribui para novos riscos de DC, como a possibilidade de transmissão do *T. cruzi* através de transfusão de sangue. Em 1960 estimou-se que entre 6.000 e 10.000 casos de doença de Chagas a cada ano, foram causadas por transfusão de sangue infectado no Rio de Janeiro e São Paulo, respectivamente (70). Até os anos 70, apenas o Estado de São Paulo mantinha ações regulares de controle, em paralelo com trabalhos pioneiros de

investigação em Minas Gerais (Município de Bambuí e algumas áreas do Triângulo Mineiro), conforme (58).

A partir de 1975 foi delimitada a área onde há risco de transmissão para o restante do país, através de inquérito de soroprevalência da infecção na população humana e de inquérito entomológico, já como parte da rotina de operações (3).

A transmissão da doença de Chagas em países não endêmicos, (fora da América Latina), com excepcional ou nenhuma transmissão vetorial - surgiu desde o início de 2000. Este fenômeno está sobretudo relacionado à mobilidade da população. Durante as últimas décadas, a transmissão ocorreu em países não endêmicos na América do Norte (Canadá e Estados Unidos da América), a região do Pacífico Ocidental (principalmente Austrália e Japão) e, mais recentemente na Europa (71).

No Brasil as ações de controle foram dirigidas ao vetor domiciliado *Triatoma infestans*. As bases técnicas do programa foram definidas por volta de 1944, mas somente a partir de 1975 o programa começou a ser estruturado e a metodologia foi sendo normatizada. O programa obteve sucesso no controle do *T. infestans*, e em 2006 o Brasil recebeu uma certificação da Organização Mundial de Saúde e da Organização Pan America de Saúde, relativa à eliminação da transmissão da doença de Chagas pelo principal vetor (*Triatoma infestans*) e e pela via transfusional (72);

1.5.1 Inquéritos Nacionais Soro-epidemiológico-epidemiológicos

Na segunda metade dos anos 70, diante da perspectiva de se sistematizar as ações de controle da doença de Chagas, com o aporte adicional de recursos que deveria ser proporcionado pela desativação de atividades do programa de malária em áreas com transmissão interrompida, haveria que atualizar o conhecimento não só sobre a distribuição dos vetores, foco principal das atividades a serem implementadas, como também sobre a prevalência da infecção humana no país. Em função disso, a Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM) do Ministério da Saúde, em associação com o Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq), através do recém-criado Programa Integrado de Doenças Endêmicas (PIDE), promoveu estudo

sorológico com o propósito de estimar a prevalência da infecção chagásica na população geral residente em área rural (3).

O inquérito se fazia necessário, pois apesar do grande volume de informações existentes sobre a distribuição da doença e do grande número de estudos sorológicos realizados, não se tem um quadro muito preciso da situação. Isto decorre de que os dados são fragmentários e nem sempre podem ser coligidos ou confrontados, na medida em que foram colhidos em diferentes momentos, por métodos e técnicas diversas. Em muitos casos os resultados foram confirmatórios aos já descritos na literatura, como as altas taxas de soro-prevalência para o Rio Grande do Sul (8,84), Minas Gerais (8,83), Bahia (5,4) e Goiás (7,4); assim foi também para estados em que se esperava uma sororeatividade, como para a maior parte dos estados da Amazônia, Espírito Santo (32) e Santa Catarina (1,39) (3).

Passados mais de vinte anos, desde quando inauguradas ações regulares de controle químico vetorial no país, havia que se promover um novo inquérito de soroprevalência de âmbito nacional. Assim foi realizado em 2001-2008 um novo inquérito nacional, o qual buscava verificar a efetividade das medidas de controle entomológico implementadas no Brasil nas últimas décadas, utilizando para isso a estratégia de estudar crianças com idade inferior a cinco anos de idade, consideradas como indicador da situação atual de transmissão vetorial. No estudo foram identificadas 11 crianças com a infecção chagásica por provável via vetorial distribuíram-se predominantemente na região nordeste (Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Alagoas), acrescidas de um caso no Amazonas e um no Paraná. Dos 20 casos com provável transmissão congênita sobressaiu-se o Rio Grande do Sul, com 60% deles, representando este o primeiro relato de diferenças regionais na transmissão congênita da doença de Chagas no Brasil. Foram registradas nove crianças positivas identificadas na região nordeste, uma no Amazonas e uma no Paraná. O estudo demonstrou a virtual inexistência de transmissão de doença de Chagas por via vetorial, resultante da combinação dos programas regulares e sistemáticos de combate à moléstia e de mudanças de natureza socioeconômica observadas no país ao longo das últimas décadas (29).

1.5.2 Doença de Chagas na Amazônia

Na Amazônia o *T. cruzi* é mantido em um ciclo enzoótico muito bem estabelecido entre animais silvestres da região (73). Entretanto o primeiro caso humano documentado de infecção chagásica nessa região foi relatado em 1941 por Floch & Tasque, na Guiana Francesa, e depois disso oito casos humanos foram relatados entre 1940 e 1956, sendo o parasita identificado somente a partir de critérios morfológicos. Sobre 160 soros examinados, obtidos de índios Oyampi originários da bacia do rio Oiapoque, três casos positivos foram identificados segundo um inquérito sorológico de 1971 utilizando imunofluorescência (74).

Na Amazônia brasileira em 1969, Shaw e cols (75), descreveram os quatro primeiros casos agudos da doença em Belém do Pará. Passados 20 anos relataram aquele que pode ser considerado o segundo registro de surto familiar de doença de Chagas aguda na região Amazônica, sendo descrita em oito pessoas pertencentes a duas famílias originárias de Macapá, no Amapá. Desde então mais de 400 casos agudos têm sido relatados, a maioria deles de surtos provavelmente causada por transmissão oral nos estados do Pará, Amapá e Amazonas (36)(76)(77)(78).

1.5.2.1 Estado do Amazonas

No Amazonas, desde 1980, registram-se casos de DC, sendo do município de São Paulo de Olivença o primeiro caso agudo registrado (79). Após cinco anos, Souza-Lima et al. (80) descreveu o primeiro caso agudo da doença de Chagas, que resultou de uma infecção mista com *T. cruzi* e *T. rangeli* no município de Barcelos. O Inquérito Sorológico Nacional estimou uma prevalência de 1,9% para o Amazonas, o que proporciona um número esperado de 8.195 casos positivos para uma população de 435.379 habitantes na época (3).

A partir de 1991, foram realizados estudos seccionais (81) e alguns inquéritos sorológicos incluindo uma avaliação clínica e eletrocardiográfica de pacientes sorologicamente positivos na área urbana e rural do município de Barcelos e de outros municípios como : Santa Izabel do Rio Negro, em populações ribeirinhas e piaçabais do próprio Rio Negro e dos afluentes Aracá, Demeni, Curuduri, Padauri, Preto e Ereré

Em Barcelos os resultados dos inquéritos demonstraram transmissão relacionada à extração de fibras de piaçaba, onde no 1º em 1991, 89 (12,5%) de 710 soros testados pela imunofluorescência indireta para anticorpos anti-*T. cruzi*, foram positivas. No 2º realizado em 1993, 90 (13,7%) de 658 amostras foram também positivas e no 3º em 1997, teve 117 (13,2%) de 886 soros reagentes, confirmando assim os resultados das pesquisas anteriores. Em 2010 um estudo soroepidemiológico foi realizado nesse município ocorrendo positividade em 38 de 152 participantes. Observou-se que a soropositividade foi 19,9 vezes mais frequente nos trabalhadores do extrativismo em geral e 10,4 vezes mais frequente no extrativismo da piaçaba, demonstrando que doença de Chagas na região estudada pode ser considerada uma doença ocupacional (82).

Desde 2004 cinco surtos de doença de Chagas aguda já foram registrados nesse estado. O 1º ocorreu em 2004, no município de Tefé com 9 casos, o 2º em 2007, em Coari com 25 casos, o 3º em 2010 com 17 casos em Santa Izabel do Rio Negro e o 4º em 2011 ocorreram no Município de Carauari respectivamente, todos com relato de transmissão oral, através da ingestão do suco de açaí (83)(84)(80)(85).

1.5.2.1.1 DC em Manaus

Em 1971 foi registrada a ocorrência de triatomíneos envolvidos na transmissão da doença e de *T. cruzi* no município de Manaus (86). Em um inquérito realizado na área rural de Manaus pela Fundação de Medicina Tropical, detectou-se uma frequência de sorologia positiva para a infecção pelo *T. cruzi* em 1,3% dos indivíduos inseridos no estudo. Entre os fatores de risco amplamente encontrado estava a construção das residências próximas as palmeiras que servem de abrigo para os triatomíneos e marsupiais, ambos frequentemente infectados com *T. cruzi* (87).

2 OBJETIVO

2.1 Geral

Estimar a prevalência da Doença de Chagas em uma população residente em área rural, e descrever aspectos sobre seu conhecimento e vulnerabilidade à infecção pelo *Trypanosoma cruzi*.

2.1.1 Específicos

1. Caracterizar a população de estudo quanto aos aspectos gerais e sócio-epidemiológicos e seu conhecimento sobre a doença de chagas.
2. Descrever aspectos sobre a sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos utilizados e estimar a taxa de soroprevalencia da infecção chagásica.
3. Descrição dos aspectos que vulnerabilizam a população para infecção pelo *Trypanosoma cruzi* e associar variáveis de risco para infecção chagásica.

3 METODOLOGIA

3.1 Modelo de Estudo

Estudo de descritivo sobre um inquérito soro-epidemiológico realizado em uma população da zona oeste de Manaus. Este projeto fez parte de um projeto maior intitulado: “Estudo eco-epidemiológico da infecção chagásica: soroprevalência, vetores, reservatórios e caracterização de cepas de *Trypanosoma cruzi* em área periurbana e rural de Manaus” e o inquérito sorológico foi realizado no período entre outubro de 2010 a junho de 2012.

3.2 Área de Estudo

Foram selecionadas três áreas localizadas na zona oeste de Manaus (Assentamento Tarumã Mirim e bairro Tarumã) (Figura 1), onde já havia registro de casos agudos e/ou crônicos da infecção chagásica, ou histórico da ocorrência de triatomíneos e reservatórios do *T. cruzi*. Foram realizadas visitas às residências (nos fim de semana e feriados).

Escolheu-se o bairro Tarumã porque embora haja grande quantidade de fragmentos de floresta devido as invasões e loteamento de áreas para construção de condomínios residenciais, nessa área já havia sido realizado um estudo e encontrado vetores e reservatórios naturalmente infectado pelo *T. cruzi*.

O Assentamento Tarumã Mirim, criado pelo INCRA (Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária), numa área de 42.910,76ha com capacidade para assentar 1.042 famílias (INCRA/AM 1999), está localizado no KM21 da BR 174, numa área que possui características rurais e a população sobrevive basicamente de agricultura e extrativismo.

Antes de iniciar o inquérito realizou-se um projeto piloto e foram realizadas reuniões pré-agendadas com os moradores, para informar sobre a relevância do estudo e explicar os aspectos sobre a dinâmica de transmissão do *Trypanosoma cruzi* e a importância da doença a chagas na Amazônia.

3.3 População do Estudo

Para inserção da população, todas as casas abertas foram visitadas e o(s) morador(es) convidado(s) a participar do estudo, realizando-se até três visitas nas casas fechadas na tentativa de inclusão de moradores. Foram incluídas crianças a partir de um ano, adolescentes e todos os adultos que concordaram em participar voluntariamente do estudo.



Figura 1 - Imagem Landsat de Manaus, em destaque as áreas de estudo.

A abordagem do sujeito da pesquisa foi realizada esclarecendo-se o objetivo e as etapas do projeto, explicando-se sobre a necessidade de coletar-se uma amostra de sangue para a realização de exames iniciais, denominados de exames sorológicos. Explicou-se que a equipe retornaria para entregar o resultado do exame e que em caso de reatividade (exame positivo) seria necessária a realização do seguimento clínico.

Ao concordar em participar o sujeito da pesquisa assinava o termo de consentimento livre esclarecido (TCLE) (Anexo 1), fez-se a coleta de sangue e a entrevista. O questionário era composto de perguntas fechadas contendo elementos para a Investigação da vulnerabilidade, possibilidade de exposição e aspectos

socioepidemiológico dos participantes (Anexo 2). Durante a aplicação do questionário mostrou-se uma coleção de barbeiros dos gêneros de importância médica, *Triatoma*, *Panstrongylus* e *Rhodnius*, com a finalidade de avaliar se os participantes poderiam reconhecê-los (Figura 2).

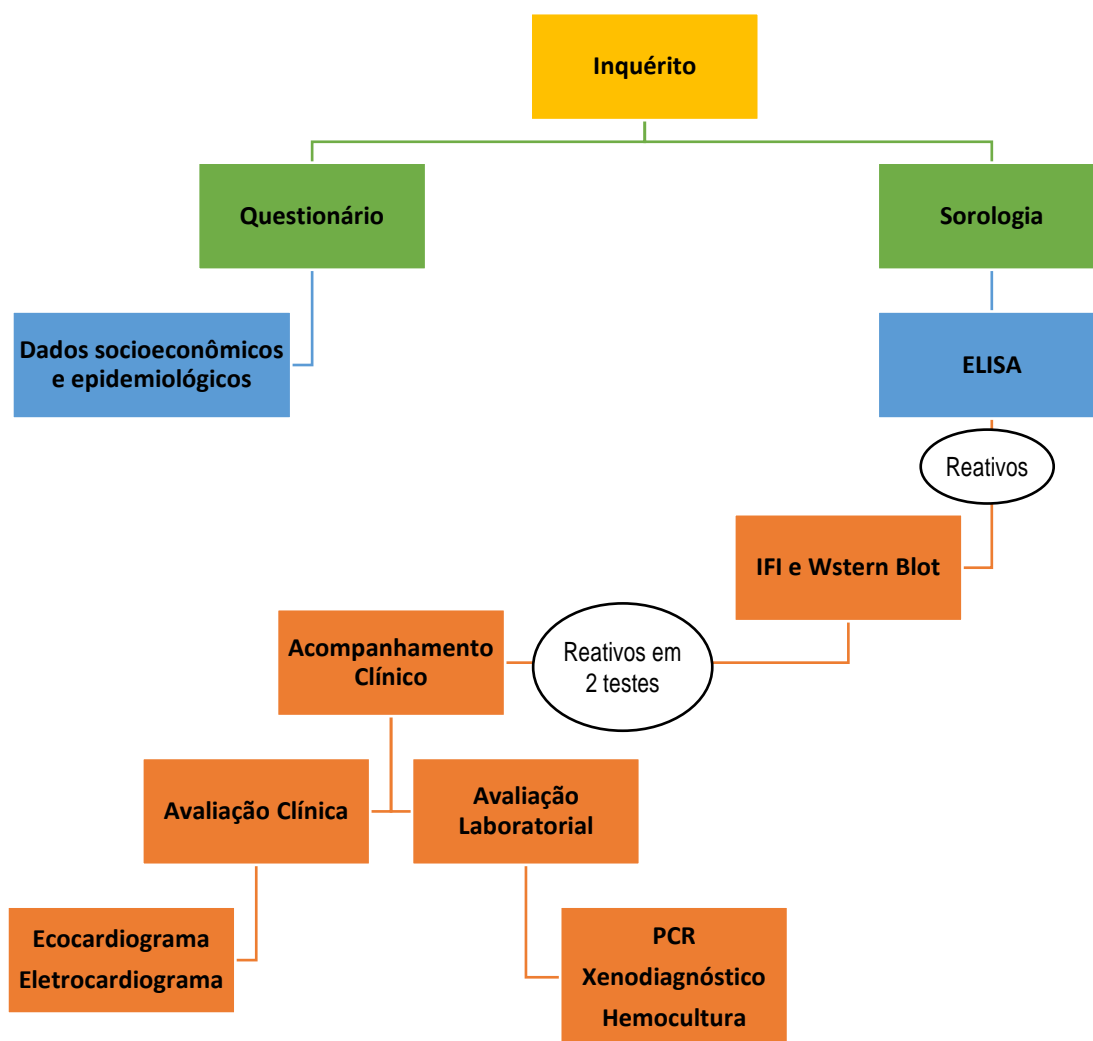


Figura 2 – Fluxo de procedimento do inquérito sorológico para doença de Chagas realizado na zona oeste de Manaus.

3.4 Procedimentos - Inquérito Sorológico

De todos os participantes foi coletada no campo uma amostra de 10 mL (mililitros) de sangue, por punção venosa em em tubos para coleta de sangue e os testes sorológicos foram realizados no Laboratório da Entomologia da FMTAM-HVD.

3.4.1 Testes sorológicos

Os testes sorologicos realizados foram: a) Ensaio Imunoenzimatico - ELISA, b) Imunofluorescência indireta-IFI, e c) Western Blot –TesaBlot. Em todas as amostras foi realizado o teste ELISA, e as amostras reativas foram submetidas aos testes de IFI e Western Blot.

3.4.2 Ensaio Imunoenzimatico - ELISA

Todas as amostras foram submetidas a dois kits para ELISA de diferentes fabricantes, disponiveis para compra durante a execução do estudo: 1) Bioeasy® - denominado Teste A e 2) o Wama® -Teste B. Os procedimentos para a realização dos testes foram seguidos de acordo com o protocolo disponibilizado pelo fabricante dos Kits.

O Kit Chagas III ELISA Test Bioeasy (Teste A) é um ensaio *in vitro* para a detecção qualitativa de anticorpos IgG *anti-Trypanosoma cruzi* em amostras de soro ou plasma humano. Realiza-se em placas cujos poços são sensibilizados com extratos totais das cepas de *T. cruzi* , Tulahuén e Mn, incluindo antígenos de membrana altamente imunogênicos.

O Kit Imuno-Elisa Chagas da Wama – (Teste B) realiza determinação qualitativa e semi-qualitativa de anticorpos IgG *anti-Trypanosoma cruzi* no soro humano, usando antígeno recombinante. As cavidades da placa de microtitulação são cobertas por antígenos recombinantes de *T.cruzi* altamente purificados, anticorpos específicos *anti-Trypanosoma cruzi* presentes no soro ligam-se a esses antígenos. Não há descrição sobre a procedência da linhagens de *T. cruzi* utilizado neste kit.

3.4.3 Teste para Imunofluorescência Indireta - IFI

O kit utilizado no teste para Imunofluorescência Indireta foi o Imuno-CON Chagas da Wama - que determina anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* no soro humano por imunofluorescência indireta. Os anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* presentes no soro ligam-se ao antígeno fixado na lâmina e são revelados por antigamaglobulina marcada com isotiocianato de fluoresceína.

3.4.4 Teste Western Blot

O teste TESAcruzi (Western Blot) utilizado foi o fabricado pela Biomeuriex – composto por tiras de introcelulose contendo o antígeno TESA (antígeno de secreção e excreção obtidos pelo cultivo de formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*) são preparadas por eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de SDS – PAGE seguido de transferência eletroforética para membrana de introcelulose.

3.5 Acompanhamento Clínico

De acordo com o Ministério da Saúde para uma pessoa ser considerada chagásica é necessário que ocorra a reatividade em pelo menos dois testes sorológicos diferentes (35). Assim todos os participantes cujas amostras foram reativas em pelo menos dois testes sorológicos diferentes, foram convidados a vir para a cidade a fim de que pudesse ser submetido à avaliação clínica (infectologia e cardiologia), onde foi realizado o ecocardiograma e o eletrocardiograma desses pacientes. Em Manaus a avaliação pelo infectologista e os exames parasitológicos complementares foram realizados na Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado. A avaliação pelo Cardiologista e os exames cardiológicos foram realizados na Fundação Francisca Mendes.

De todos os participantes reativos que aceitaram realizar o seguimento clínico realizou-se a avaliação laboratorial através da PCR (nova coleta de sangue), o xenodiagnóstico utilizando-se 40 ninfas de IV estágio de barbeiros da espécie *Triatoma infestans* e hemocultura; e avaliação clínica através da infectologia e cardiologia, com os exames ecocardiográfica e eletrocardiograma. Ressalta-se que a avaliação laboratorial no acompanhamento clínico não faz parte dessa dissertação,

3.6 Aspectos Éticos

O projeto maior tendo como título: “Estudo eco-epidemiológico da infecção chagásica: soro prevalência, vetores, reservatórios e caracterização de cepas de *Trypanosoma cruzi* em área periurbana e rural de Manaus” foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FMT-HVD (Anexo 2).

O estudo sobre o xenodiagnóstico gerou uma dissertação e os resultados foram publicados por Santana et al. 2014, citados neste estudo como complemento das informações aqui apresentadas.

Os aspectos éticos da pesquisa foram considerados de acordo com a Resolução nº 196 de 10/10/96 da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde, que estipula normas éticas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Sendo garantido o sigilo dos dados coletados dos pacientes desse estudo.

3.7 Análise dos Dados

Para a análise dos dados foi criado um banco de dados no programa Excel. Para o cálculo da prevalência, foi utilizado como denominador o total de entrevistados inseridos no estudo.

Os dados foram analisados por meio do Statistical Package for the Social Sciences SPSS® versão 21.0 para Windows. Foi avaliada a frequência de cada variável em relação ao total da população estudada. Foram utilizadas, regressão logística para as análises multivariadas e as Odds Ratio ajustadas, com IC 95%, para avaliar fatores de risco associados população considerando chagásica. Considerou-se entre as variáveis avaliadas o sexo, idade e escolaridade, condições de habitação, histórico de DC na família, presença do vetor no domicílio, contato com o triatomíneo, reconhecimento do vetor, presença de animais no peridomicílio e o consumo de carne de caça e fruto de palmeira e histórico de transfusão de sangue.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização da população de estudo quanto aos aspectos gerais e sócio-epidemiológicos e seu conhecimento sobre a doença de chagas

Foram visitadas três áreas com características rurais, duas no Assentamento Tarumã Mirim (Ramal do Pau Rosa (área 1) com 15 vicinais e Ramal da Cooperativa (área 2) com 24 vicinais) e 10 Ramais (área 3) no Bairro tarumã (Figura 1). Nessas áreas foram encontradas 1.088 residências, localizadas em áreas próximas de floresta. Um total 732 (67%) estavam abertas. Incluiu-se 1.845 moradores de 683 (93%) residências que aceitaram participar do inquérito (Figura 3). Registrou-se uma variação entre 1 e 24 moradores por residência em 287/683 (42%) havia um único morador, somando um total de 267/1845 (15%) moradores vivendo sozinho. Destes, a maioria 181/267 representando 68% são do sexo masculino; com idade entre 41-60 anos 120/267 (45%); 139/267 (52%) relataram ser solteiros; 78/267 (29%) tinham apenas o ensino fundamental; 146/267 (55%) agricultores e 101/267 (38%) procedentes do interior do estado.

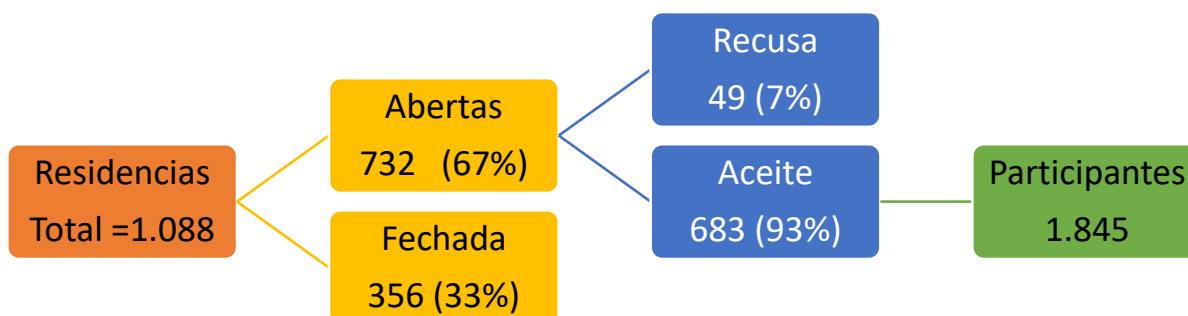


Figura 3 – Quantificação de residências e inclusão de moradores como participantes do estudo

Do total de 1.845 pessoas que participaram do inquérito, 1.009 (55%) foram do sexo masculino; média de idade 35 (\pm 20) anos, 1066 (56,7%) na faixa etária entre 21 a 40 anos, 393 (21%) tinham idade abaixo de 15 anos. Observou-se que a maioria 992 (54%) tinha cursado mais de cinco anos de estudo; 1.297 (70%) da cor parda;

1.654 (90%) são da procedentes da região norte; 1.365(74%) são naturais do estado do Amazonas, 580 (31%) exercem atividades na agricultura; 1.540 (83%) residiam em casas de madeira; 753 (40%) residem em casa com número acima de 4 moradores por residência; 1.760 (95%) não têm saneamento básico; 1.002 (54%) não possuem água encanada; 1.088 (59%) não tratam a água de consumo e 1.064 (58%) utilizam água do rio/igarapé; 87 (4%) não têm acesso a energia elétrica(Tabela 1).

4.2 Fatores de vulnerabilidade e inserção da população no ciclo silvestre ***Trypanosoma cruzi***

Entre os fatores que vulnerabilizam a população estudada está o fato de que todos os participantes residiam em casas construídas em uma distância de menos de 100 m da borda da floresta.Registrou-se que 713 (39%) representando mais de 1/3 da população, nunca tinham ouvido falar sobre a DC; 292 (16%) já haviam recebido orientação de um profissional de saúde sobre a DC e 818(44%) não tinham conhecimento sobre o barbeiro;1.021 (55%) não reconheceram os barbeiros; 373 (20%) afirmaram ter visto o inseto dentro de suas residências; 1.144 (62%) disseram que é comum a presença de marsupiais (mucura, gambá), próximo a suas casas; 790(43%) entram na mata para desenvolver suas atividades, entre elas caçar animais silvestres para consumo; 1.387(75%) consomem carne de caça regularmente; 1.684(91.3%) consomem frutos de palmeira; 171(9%) afirmaram ter realizado transfusão sanguínea (Tabela 1).

Variáveis	Total	Participantes com DC	Participantes sem DC	Odds Ratio (IC 95%)	P
Sexo					
Masculino	1009 (55%)	28 (62,22%)	981 (54,5%)	1.38 (0.75-2.53)	0.191
Feminino	836 (45%)	17 (37,8%)	819 (45,5%)		
Média de idade		43.4 (±16.5)	35.1 (±19.9)	...	0.006
Grupos de idade					
≤15	393 (21%)	3 (6,67%)	390 (21,67%)	0.26 (0.08-0.84)	0.015
>15	1452 (79%)	42 (93,33%)	1410 (78,3%)		
Área de moradia					
Rural	1607 (87%)	27 (60,0%)	1580 (87,78%)	0.209 (0.11-0.385)	<0.001
Periurbana	238 (13%)	18 (40,0%)	220 (2,22%)		
Anos de estudo					
≤5	853 (46%)	27 (60,0%)	826 (45,89%)	1.77 (0.97-3.23)	0.069
>5	992 (54%)	18 (40,0%)	974 (54,1%)		
Etinia					
Branco	401 (21,73%)	7 (15,56%)	394 (21,89%)	...	0.272
Negro	115 (6,23%)	5 (11,11%)	110 (6,1%)		
Pardo	1297 (70%)	31 (68,89%)	1,266 (70%)		
Amarelo	23 (1,25%)	1 (2,22%)	22 (1,2%)		
Indigena	1 (0,05%)	0	1 (0,06%)		
Ignorado	8 (0,43%)	1 (2,22%)	7 (0,39%)		
Região/Nascimento					
Região Norte	1654 (89,65%)	35 (77,78%)	1,619 (89,94%)	...	0.051
Região Nordeste	160 (8,67%)	9 (20,0%)	151 (8,39%)		
Região Centro Oeste	15 (0,81%)	0	15 (0,83%)		
Região Sul	7(0,38%)	0	7 (0,39%)		
Região Sudeste	9 (0,49%)	1 (2,22%)	8 (0,44%)		
Naturalidade					
Amazonas	1365 (73,98%)	30 (1,67%)	1,335 (74,17%)	0.70 (0.37-1.31)	0.257
Outros	480 (26,02%)	15 (33,33%)	465 (25,83%)		
Procedência					
Região Norte	1684 (91,27%)	36 (80,0%)	1,648 (91,56%)	0.37 (0.17-0.78)	0.007
Outras regiões	161 (8,73%)	9 (20,0%)	152 (8,44%)		
Ocupação					
Agricultor / extrativista	580 (31%)	22 (49%)	558 (31%)	2.13 (1.18-3.85)	0.011

Outros	1264 (69%)	23 (51%)	1,241 (69%)		
Tipo de residências					
Madeira	1540 (83,47%)	30 (66,67%)	1510 (83,89%)	...	0.063
Alvenaria	15 (0,81%)	1 (2,22%)	14 (0,78%)		
Mista	282 (15,28%)	14 (31,11%)	268 (15%)		
Outros	8 (0,43%)	0	8 (0,44%)		
No. pessoas/residência					
≤ 4	1092 (59,19%)	31 (68,89%)	1,061 (58,94%)	1.54 (0.82-2.92)	0.180
>4	753 (40,81%)	14 (31,11%)	739 (41,06%)		
Residencia-paredes completas					
Sim	1612 (87%)	36 (80,0%)	1,576 (88%)	0.57 (0.27-1.20)	0.271
Não	233 (13%)	9 (20,0%)	224 (12%)		
No. Cômodos/residência					
≤3	1047 (56,75%)	26 (57,78%)	1,021 (57%)	1.04 (0.57-1.90)	0.888
>3	798 (43,25%)	19 (42,22%)	779 (43%)		
Água encanada					
Sim	843 (45,69%)	19 (42,22%)	824 (45,78%)	0.87 (0.48-1.58)	0.636
Não	1002 (54,31%)	26 (57,78%)	976 (54,22%)		
Esgoto (saneamento)					
Sim	85 (4,61%)	4 (8,89%)	81 (4,5%)	2.07 (0.72-5.92)	0.165
Não	1760 (95,39%)	41 (91,1%)	1,719 (95,5%)		
Tipo de água consumida					
Poço	781 (42,33%)	23 (51,1%)	758 (42,1%)	...	0.605
Rio/igarapé	1064 (57,67%)	22 (48,89%)	1,042 (57,89%)		
Electricidade na residência					
Sim	1758 (95,28%)	44 (97,78)	1,714 (95,2%)	2.21 (0.30-16.21)	0.424
Não	87 (4,72%)	1 (2,22%)	86 (4,78%)		
Conhecimento sobre a DC					

Sim	1132 (61,36%)	29 (65%)	1,103 (61%)	1.45 (0.62-2.12)	0.784
Não	713 (38,64%)	16 (35%)	697 (26%)		
Conhecimento - vetor da DC					
Sim	1027 (55,66%)	24 (53%)	1,003 (57%)	0.91 (0.50-1.64)	0.750
Não	818 (44,34%)	21 (47%)	797 (44%)		
Informação sobre a DC (profissional de saúde)					
Sim	292 (16%)	9 (20%)	283 (16%)	1.34 (0.64-2.81)	0.437
Não	1553 (84%)	36 (80%)	1,517 (84,3%)		
Histórico de DC na família					
Sim	42 (2%)	0	42 (2%)	...	0.300
Não	1803 (98%)	45 (100%)	1,758 (98%)		
Reconhece triatomíneos					
Sim	824 (45%)	24 (53%)	800 (44%)	1.43 (0.79-2.59)	0.236
Não	1021 (55%)	21 (47%)	1000 (56%)		
Triatomíneos – Residência					
Sim	373 (20%)	27 (60%)	346 (19%)	6.30 (3.43-11.58)	<0.001
Não	1472 (80%)	18 (40%)	1,454 (81%)		
Didelfídeos (mucuras) – peridomicílio					
Sim	1144 (62%)	33 (73%)	1,111 (62%)	1.71 (0.88-3.33)	0.113
Não	701 (38%)	12 (27%)	689 (38%)		
Animais domésticos no peridomicílio					
Sim	1576 (85%)	34 (76%)	1,542 (86%)	0.52 (0.26-1.03)	0.058
Não	269 (15%)	11 (24%)	258 (14%)		
Hábito de entrar na mata					
Sim	790 (43%)	33 (73%)	757 (42%)	3.79 (1.94-7.39)	0.0000
Não	1055 (57%)	12 (27%)	1,043 (58%)		

Consumo - animais silvestres					
Sim	1387 (75%)	40 (89%)	1,347 (75%)	2.69 (1.06-6.86)	0.031
Não	458 (25%)	5 (11%)	453 (25%)		
Transfusão de sangue					
Sim	171 (9%)	11 (24%)	160 (9%)	3.32 (1.65-6.67)	0.0000
Não	1674 (91%)	34 (77%)	1,640 (91)		

4.3 Aspectos sobre a concordância dos testes sorológicos utilizados e estimativa da taxa de soroprevalência para infecção chagásica

Com relação aos testes sorológicos, observaram-se diferenças na sensibilidade dos kits utilizados. No geral 184 (10%) amostras foram reativas e 12 (1%) indeterminadas, observando-se maior percentual de reatividades (67%) no resultado das amostras submetidas ao ELISA-A teste que apresentou as 12 (1%) amostras indeterminadas.

No segundo teste sorológico (IFI) registraram-se 38 (21%) amostras reativas proveniente do resultado reativo no ELISA e 4/12 (36%) das amostras indeterminadas.

No terceiro teste sorológico (Tesa cruzi), registrou-se positividade em 11 (5,6%) das 196 amostras analisadas sejam reativas ou indeterminadas no ELISA e reativas ou não na IFI (Figura 4).

Assim, considerou-se que 45 (2,4%) dos 1.845 participantes que tinham resultado reativo em pelo menos dois testes sorológicos sendo portanto considerados com infecção chagásica. Destes, 28 (62%) são do sexo masculino; média de idade do grupo de 43.4 (\pm 16.5) anos; faixa etária variando entre 8 e 73 anos; 35 (%) são naturais da região norte; 30 (67%) são naturais do Amazonas; 22 (49%) são agricultores; 30 (66%) residem em habitações de madeiras; 44 (97%) possuem energia elétrica; 26 (58%) não possuem água encanada; 22 (49%) consomem água do poço ou cisterna (Tabela 1).

Dentre os fatores de risco para infecção pelo *T. cruzi* entre os participantes com sorologia reativa para infecção chagásica, foram registrados: pessoas que exercem atividades como agricultores [OR=2,13; (IC_{95%}:1,18-3,85); (p=0,01)]; tem eletricidade na residência [OR=2.21 (IC_{95%}:0,30-16,21)(p=0,424)]; encontraram triatomíneos no domicílio [OR=6.3 (IC_{95%}:3,43-11,58) (p<0,001)]; tem o hábito de entrar na mata [OR=3.79 (IC_{95%}:1,94-7,39) (p=0,0000)]; consomem carne de caça

regularmente [OR=2.69 (IC_{95%}:1,06-6,86) (p=0,031)], e histórico de haver recebido transfusão de sangue [OR=3.32 (IC_{95%}:1,65-6,67) (p=0,0000)] (Tabela 1).

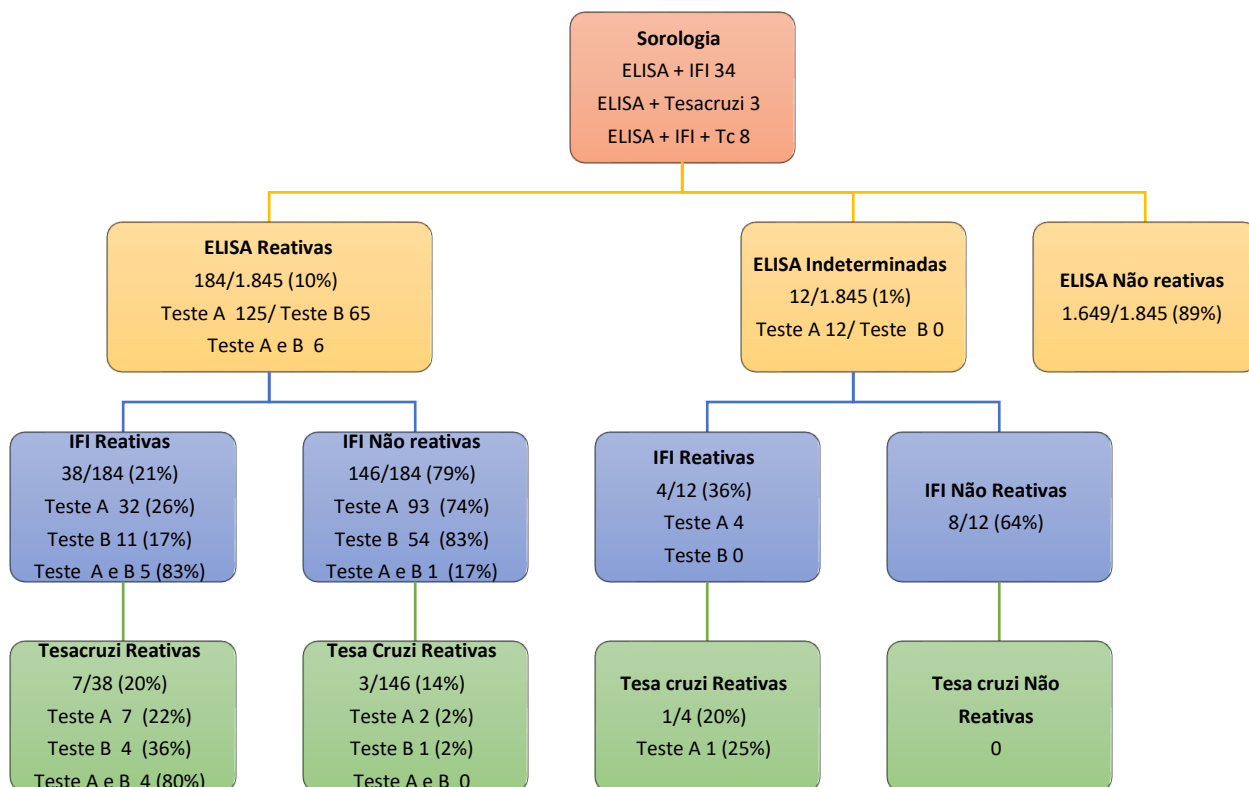


Figura 4- Descrição dos resultados sorologia

Dos 45 sororeativos para infecção chagásica, 10 (22%) não realizaram o seguimento clínico. Destes, 2 (4,4%) se recusaram a fazer os exames complementares e 8 (18%) não foram encontrados em suas residências, por motivos diversos, entre eles a mudança de endereço sem atendimento ao contato registrado na ficha utilizada durante o inquérito sorológico. Os demais fizeram o xenodiagnóstico, e não foram observadas formas flageladas que indicassem positividade no exame a fresco, no entanto, registrou-se DNA de *T. cruzi* (TcI) em 12/35 (34%), dados esses que fizeram parte de outra dissertação, já publicados (25). Não houve queixas digestivas, entretanto em 5/35 (14%) foram observadas alterações cardiológicas; dos quais 2 (6%) são procedente do Amazonas, 2(6%) do Ceará e

1(3%) de Minas Gerais. Observou-se que dois dos participantes são mãe e filho ambos com 46 anos e 16 anos respectivamente, naturais do Amazonas (Tabela 2).

Tabela 2 - Principais características dos participantes considerados chagásicos.

N	Área	Sexo	Idade	Naturalidade	Teste A	Teste B	IFI	WB	PCR	Seguimento Clínico	Xenodiagnostico	Alterações Clínicas
1	Rural	M	53	Ceara	+	+	+	+	-	Sim	-	Normal
2	Rural	F	53	Maranhão	+	-	-	+	-	Não	Não realizou	Não realizou
3	Rural	M	45	Amazonas	Indeterminado	-	+	+	+	Sim	-	Normal
4	Rural	M	34	Ceara	Indeterminado	-	+	-	-	Sim	-	ECO: Bradicardia sinusal, FC 45bpm, bloqueio divisional anterior superior, distúrbio de condução pe ramo direito e extrassístolia ventricular isolada.
5	Rural	M	65	Amazonas	+	-	+	-	-	Sim	-	ECO: Disfunção diastólica ventricular esquerda grau tipo relaxamento alterado
6	Rural	M	51	Para	-	+	+	-	-	Não	Não realizou	Não realizou
7	Rural	M	49	Para	+	-	+	-	-	Não	Não realizou	Não realizou
8	Rural	M	62	Minas Gerais	-	+	+	-	+	Sim	-	ECO: Disfunção diastólica ventricular esquerda grau tipo relaxamento alterado Eletro:Normal
9	Rural	M	45	Maranhão	Reativo	+	-	+	-	Não	Não realizou	Não realizou
10	Rural	M	36	Amazonas	+	+	+	+	-	Sim	-	Normal
11	Rural	M	57	Amazonas	+	-	+	+	-	Sim	-	Normal
12	Rural	M	54	Amazonas	+	-	+	-	-	Não	Não realizou	Não realizou
13	Rural	M	26	Amazonas	+	-	+	+	-	Não	Não realizou	Não realizou
14	Rural	M	73	Ceara	+	-	+	-	-	Sim	-	ECO: Disfunção diastólica ventricular esquerda grau tipo relaxamento alterado; Eletro: alteração de repolarização ventricular; extrassístolia supraventricular isolada
15	Rural	M	39	Ceara	+	-	+	-	-	Não	Não realizou	Não realizou
16	Rural	M	42	Maranhão	+	-	+	-	-	Não	Não realizou	Não realizou
17	Rural	F	37	Amazonas	+	-	+	-	-	Sim	-	Normal
18	Rural	F	48	Amazonas	+	-	-	+	-	Sim	-	Normal
19	Rural	F	31	Amazonas	+	-	+	+	+	Sim	-	Normal
20	Rural	F	21	Amazonas	+	-	+	-	-	Sim	-	Normal
21	Rural	F	28	Amazonas	+	-	+	-	-	Sim	-	Normal
22	Rural	F	08	Amazonas	+	-	+	-	-	Sim	-	Normal
23	Rural	M	51	Amazonas	+	+	+	+	-	Sim	-	Normal
24	Rural	F	49	Amazonas	+	-	+	-	-	Sim	-	Normal
25	Rural	M	09	Para	+	-	+	-	+	Sim	-	Normal
26	Rural	F	20	Amazonas	+	+	+	-	+	Sim	-	Normal

27	Rural	M	45	Amazonas	-	+	+	-	+	Sim	-	ECO: Disfunção diastólica ventricular esquerda grau tipo I (tipo relaxamento alterado)
28	Periurbana	F	58	Amazonas	+	-	+	-	-	Sim	-	Normal
29	Periurbana	M	57	Amazonas	+	-	+	-	-	Não	Não realizou	Não realizou
30	Periurbana	M	61	Amazonas	+	-	+	-	+	Sim	-	Normal
31	Periurbana	F	54	Amazonas	+	-	+	-	-	Sim	-	Normal
32	Periurbana	F	29	Amazonas	+	-	+	-	-	Sim	-	Normal
33	Periurbana	F	42	Para	Reativo	+	+	-	+	Sim	-	Normal
34	Periurbana	M	57	Amazonas	Indeterminado	-	+	-	-	Sim	-	Normal
35	Periurbana	M	67	Amazonas	+	-	+	-	-	Não	Não realizou	Não realizou
36	Periurbana	F	59	Amazonas	+	-	+	-	-	Sim	-	Normal
37	Periurbana	M	73	Piauí	Indeterminado	-	+	-	+	Sim	-	Normal
38	Periurbana	F	21	Amazonas	+	-	+	-	-	Sim	-	Normal
39	Periurbana	M	35	Amazonas	+	+	+	-	+	Sim	-	Normal
40	Periurbana	F	54	Amazonas	+	-	+	-	-	Sim	-	Normal
41	Periurbana	F	46	Amazonas	+	-	+	-	+	Sim	-	Normal
42	Periurbana	M	16	Amazonas	+	-	+	-	-	Sim	-	Normal
43	Periurbana	M	37	Pari	+	-	+	-	-	Sim	-	Normal
44	Periurbana	M	40	Maranhão	+	+	+	+	+	Sim	-	Normal
45	Periurbana	M	14	Amazonas	+	+	+	-	-	Sim	-	Normal

5 DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da população de estudo quanto aos aspectos gerais, sócio-epidemiológicos e seu conhecimento sobre a doença de chagas e aspectos que vulnerabilizam a população para infecção pelo *Trypanosoma cruzi*

No presente estudo observou-se que muitas casas estavam fechadas nas três tentativas de visitas, permanecendo assim até o final do trabalho, percebendo-se que alguns assentados, não permanecem em suas casas, particularmente nos fins de semana. Esse é um aspecto a ser levado em conta quando se pretende realizar inquérito sorológico em áreas rurais da Amazonia e necessita-se fazer acompanhamento dos participantes após a realização dos exames. Outra situação foi a recusa de alguns moradores em participar do estudo e de 8 pessoas com resultado sorológico positivos que não quiseram realizar o *follow up*. Entre os motivos em participar, estavam, serem parentes ou amigos do morador; serem apenas visitantes; serem doadores de sangue e nesse caso acharem que seriam prejudicados; estarem alcoolizados no momento da visita; e medo da furada da agulha da seringa para a coleta de amostra sanguínea por punção venosa. Já entre os motivos

Durante o estudo foi explicado à população que a doença de chagas ocorre como resultado de uma ação direta do homem sobre a natureza, que ao inserir-se no ciclo zoonótico de *T. cruzi* (88), através de sua moradia e hábitos viabiliza a possibilidade de infecção e transposição do ciclo silvestre para o doméstico (89). Esclareceu-se que a doença crônica surge quando a fase aguda da infecção por *T. cruzi* não é detectada e tratada, e que essa fase da infecção denominada indeterminada, é silenciosa e não apresenta sintomas, mas num futuro indefinido, pode se manifestar com possibilidade de comprometimento cardíaco, e persistir pelo resto da vida da pessoa (90), ainda assim, 7% dos moradores recusaram-se a participar do inquérito sorológico.

Aparentemente a doença parece ainda não causar preocupação à população, o que até certo ponto é compreensível, pois embora o *T. cruzi* tenha sido detectado na Amazonia há mais de 80 anos quando Chagas realizou sua expedição a região norte do país (7), essa doença ainda é pouco conhecida, principalmente de habitantes

de area rural da região, levando a ideia de que a doença de Chagas ainda não lhes representa uma ameaça.

Esse pensamento é visto particularmente no Amazonas, onde a ocorrência de casos humanos pode ser considerada recente, uma vez que nesse estado o primeiro caso foi registrado em 1980 (7), e somente nos últimos 15 anos é que a doença vem sendo registrada com mais frequência (47)(48)(85)(91), apresentando-se de forma diferente das regiões consideradas endêmicas nas Américas e das áreas onde houve dispersão da infecção (92)(93)(94)(95).

Por isso, um novo cenário epidemiológico vem sendo estabelecido, nessa região, sendo a forma oral o principal meio de transmissão da doença (9) causando pequenos surtos, divulgados pela mídia, momento em que muitas pessoas passam a ter conhecimento sobre a infecção chagásica. O Pará é o estado que tem registrado o maior número de casos, particularmente da forma aguda, associados principalmente ao consumo de suco de frutos de palmeiras principalmente de açai (*Euterpe olerace*).

Além dos sucos de frutos de palmeiras o consumo de carne mal cozida, ou sangue de alguns reservatórios do parasita, como o Tatu (*Dasytus* sp.), consumido regularmente por moradores de populações rurais, podem ser considerados uma fonte de infecção oral. Outra possibilidade é a transmissão direta do reservatório do *T. cruzi*, especialmente envolvendo marsupiais, que eliminam as formas infectantes do parasito através de glândulas odoríferas e podem transmiti-lo aos outros animais e aos humanos (73).

Destaca-se ainda o registro de 42% dos moradores vivendo sozinhos, predominantemente de pessoas do sexo masculino, sendo grande parte migrantes do interior do estado para a cidade grande, provavelmente em busca de melhores condições de vida, que, no entanto, ao se instalarem em ambientes rurais, permanecem vivendo muitas vezes, em condições não muito diferente da anterior, expostos as zoonoses, desconhecendo o ciclo de transmissão das doenças e sobre as medidas mínimas de prevenção.

5.2 Concordância dos testes sorológicos utilizados e estimativa da taxa de prevalência para infecção chagásica

Nesse estudo registrou-se uma prevalência de 2,4%, resultado maior do que o já registrado anteriormente no Amazonas nos trabalhos de Carmargo et al. (3) no inquérito nacional realizado entre 1975 a 1980 e em Manaus, Magalhães et al. (87) em inquérito realizado em 2008, quando ambos demonstraram uma prevalência estimada de 1,9%. O teste ELISA por sua alta sensibilidade, foi utilizado como teste de triagem neste estudo, e para aumentar a possibilidade de amostras reativas, utilizaram-se Kits de fabricantes diferentes, observando que o teste cujas placas eram sensibilizadas com extratos totais de duas cepas, foi o que apresentou maior número de amostras reativas e indeterminadas. Antígenos recombinantes são mais específicos do que os extratos de parasita que reagem de forma cruzada com os soros de pacientes com outras doenças como a Leishmaniose (96) *Trypanosoma rangeli* (97), sífilis ou febre reumática.

No resultado geral da sorologia o teste em que apresentou maior reatividade foi o ELISA, devido a sua alta sensibilidade, no entanto, o número de amostras reativas diminuiu bastante na IFI por ser um teste mais específico. O Diagnóstico sorológico da doença de Chagas é frequentemente baseado em testes como ensaio imunoenzimático (ELISA), ensaios de imunofluorescência indireta (IFI) e ensaios de hemaglutinação indireta (IHAs), que geralmente empregam formas epimastigotas do *T. cruzi*, como o antígeno (98). Se os kits de boa qualidade são selecionados e práticas laboratoriais corretas são seguidas, boa sensibilidade pode ser conseguida com qualquer um dos testes. Sensibilidade da ordem de 95 a 99% pode ser obtida, e estes podem ser aumentados para 100% com o uso de mais de um teste (99)(100). A utilização de antígenos recombinantes e peptídeos sintéticos foi proposta para melhorar a especificidade e sensibilidade, que é essencial para que sejam evitados resultados falso-negativos.

Nos ensaios sorológicos convencionais, faltam especificidade para a confirmação dos anticorpos para *T. cruzi* devido a reações cruzadas incontroláveis. Nenhum teste único para doença de Chagas é suficientemente sensível para evitar

transmissão de transfusão da doença nos centros urbanos do Brasil. Acredita-se que a discordância entre os kits pode ter relação com a cepa de *T. cruzi* utilizada na sua fabricação, uma vez que nenhum kit comercial utiliza as linhagens que circulam na região da Amazônia.

Nos anos recentes a principal inovação no diagnóstico de doença de Chagas, com a detecção de anticorpos contra o *T. cruzi* é o TESA-blot (TESA - trypomastigote excretado-secretada-antígeno). Este é um ensaio de immunoblot que tem sido amplamente utilizado devido à sua alta sensibilidade e especificidade em relação aos convencionais métodos sorológicos. A popularidade desta técnica reside na sua simplicidade. Qualquer método de diagnóstico novo seja molecular, sorológico ou proteômico, pode ter um impacto significativo no campo do diagnóstico de doenças parasitárias, no entanto, muitas vezes, a microscopia ainda é considerada o padrão-ouro. Embora haja vários kits comerciais disponíveis no mercado para o teste ELISA, no caso da DC crônica particularmente na Amazônia observa-se discrepâncias nos resultados, dificultando o diagnóstico sorológico, reforçando a necessidade de investimentos para a realização kits utilizando as linhagens de *T. cruzi* da Amazônia. (98).

Na análise estatística utilizou-se como medida de efeito a odds ratio visto que na regressão logística o resultado é essa medida (40). Considerando que o risco relativo se baseia na observação de que nem todos têm a mesma probabilidade (risco) de padecer um dano, mas que para alguns este risco é maior do que para outros, no presente estudo foram fatores de risco para a infecção pelo *T. cruzi* : ter o hábito de entrar na mata, serem agricultores/extrativista, ter eletricidade na residência, ter encontrado triatomíneos no domicílio; consumir carne de caça regularmente e histórico de haver recebido transfusão de sangue. Destaca-se que ao entrar na mata o homem amazônico exerce atividades diversas, desmatamento para a preparação de roçados, caça de animais silvestres, pernoite a céu aberto, o que os expõem e os torna susceptíveis ao contato com parasito.

De acordo com Silveira et al., (101) os modelos de assentamento devem atender às características ambientais, sociais e políticas das diferentes áreas geográficas do país. Os assentamentos rurais em geral têm sido tratados pelas

políticas agrárias como espaços fixos, que podem ser delimitados, subdivididos, organizados e ocupados segundo os critérios estabelecidos por elas. O fato de que 100% das casas são construídas muito próximas da mata, com madeira extraída na própria floresta, favorece as mudanças ambientais antrópicas que estão entre as principais causas de transmissão da infecção chagásica para as pessoas. Tradicionalmente as mudanças ambientais antrópicas estão entre as principais causas da transmissão da infecção chagásica para os humanos e os padrões dessa infecção foram diretamente ou indiretamente influenciados pela perda de florestas tropicais naturais. Nesse sentido o desmatamento parece ser o principal fator, afugenta as fontes alimentares e coloca as pessoas em contato com os vetores (102).

A transmissão da doença de Chagas foi primeiramente induzida em tempos antigos, quando os seres humanos começaram a limpar a terra para a agricultura e assentamentos. Historicamente o desenvolvimento do ciclo doméstico do *T. cruzi* foi facilitado pela habilidade de algumas espécies de triatomíneos, em particular *T. infestans*, em adaptar-se facilmente à vegetação mais aberta e a desenvolver uma preferência por habitações humanas ao longo do tempo (103). Na Amazônia, diferentes padrões sócio-ambientais de ocupação de terra, incluindo casas abertas desfavorecem a colonização do vetor, além disso, a mobilidade contínua, como por exemplo de populações indígenas, impedem a domiciliação e conseqüentemente a transmissão vetorial da doença de Chagas no ambiente domiciliar (73).

Entre os fatores que contribuem para o desconhecimento da população sobre sua inserção no ciclo silvestre do *T. cruzi*, estão a não domiciliação dos vetores e conseqüentemente inexistência da forma tradicional de transmissão, a vetorial dentro do domicílio. Muitos moradores disseram ter encontrado triatomíneos em seus domicílios, sendo esse um fator que aumenta as chances de risco para a infecção, conforme visto nesse trabalho. Entretanto, dos chagásicos 21 não reconheceram os triatomíneos durante a apresentação dos exemplares, observando-se confundimento do barbeiro com outros insetos, principalmente da ordem coleoptera (besouros), suscitando a necessidade de orientação dessas populações sobre os cuidados profiláticos para prevenção da infecção chagásica na Amazonia (28), onde a doença já pode ser considerada um problema de saúde pública.

É importante ressaltar que mais de 20 espécies de triatomíneos já foram registradas na região Amazônica e pelo menos 10 espécies já foram encontradas infectadas naturalmente com *T. cruzi* ou semelhante ("cruzi-like"), associadas com numerosos reservatórios silvestres (73).

Um dos estigmas da doença de Chagas é ser conhecida como uma doença da pobreza rural da América Latina. Nesse contexto os órgãos responsáveis por políticas públicas e pelas práticas a serem conduzidas, precisam se apropriar das informações que estão sendo produzidas dentro da pesquisa; a Educação em saúde seria uma alternativa importante no sentido de ampliar o conhecimento da população sobre a doença de Chagas, particularmente na Amazônia onde ela é desconhecida de grande parte da população, e principalmente pelo fato de que a real prevalência pode estar sendo subestimada. O hábito dos participantes de entrar e pernoitar na mata e consumir a carne de animais, que também são considerados reservatórios silvestres do *T. cruzi*, como por exemplo: *Agoute paca* e *Didelphis marsupialis* (73), o suco de fruto de palmeiras especialmente açaí, bacaba e patauí. Cada vez mais atenção tem sido centrada na via oral de transmissão de *T. cruzi*, especialmente por conta do aumento no número de casos, na forma aguda, sempre relacionados ao consumo principalmente do açaí (104).

Surtos atribuídos ao suco de frutas ou de cana-de-açúcar contaminados, foram relatados no Brasil (30)(34)(36)(80)(33) sendo na Venezuela o país onde ocorreu o maior surto já relatado, que acometeu 103 pessoas, entre estudantes e professores em uma escola em Caracas, tendo o suco de goiaba sido incriminado, como o responsável pela transmissão (37), sem consenso sobre a forma de infecção, com possibilidade inclusive, de envolvimento de marsupiais nesse processo (Comunicação pessoal - médico Juan Marques).

Normalmente na região amazônica, ocorrem pequenos surtos, muitas vezes afetando grupos familiares, com relato de que açaí foi o alimento ingerido (105)(30)(34). Vale lembrar que esse suco faz parte da dieta alimentar da população, mas é vulnerável à contaminação, pelo *T. cruzi*, entretanto, a forma de contaminação nunca é esclarecida.

No Amazonas já ocorreram cinco surtos agudos e em todos houve relatos dos pacientes de haverem consumido açaí (80)(105). Esta nova situação impõe mudanças necessárias na estratégia de programas de controle da infecção chagásica, porque até agora ainda têm sido limitados às atividades de controle vetorial em comunidades rurais da América Latina em áreas de endemicidade.

Na Amazônia, a DC é uma etiologia significativa de miocardiopatia dilatada, sendo importante sua pesquisa nos pacientes autóctones . Não se conhece totalmente a patogenicidade das linhagens do *T. cruzi* circulante, mas acredita-se que causem baixa morbidade, provavelmente menor que a encontrada nas áreas endêmicas (105). Entre as observações feitas nesse estudo estão o fato de que a população está convivendo com a doença sem saber que está infectada. Neste sentido os inquéritos soropidemiológicos são muito importantes pois realizam o diagnóstico desses pacientes. Lamentavelmente algumas pessoas optam por não realizar o seguimento, dificultando em muito o desfecho de seu problema de saúde, pois sem os exames complementares não se pode confirmar o estágio da doença ou até mesmo iniciar o tratamento. Essa situação foi vivenciada nesse estudo, quando duas pessoas não aceitaram realizar o seguimento clínico.

Embora se considere que a doença na região apresenta baixa morbidade é muito importante a realização desses inquéritos e sobretudo o seguimento longitudinal dos casos. Ao longo do seguimento cinco pacientes com sorologia positiva apresentaram alterações clínicas e/ou eletrocardiográficas. Os dados desse estudo demonstram que os indivíduos de áreas rurais ou áreas peri-urbanas estão inseridos em situações consideradas fatores de risco para a infecção chagásica, assim sendo, a correlações entre as alterações clínicas encontradas nos pacientes e a etiologia chagásica só poderá se concretizar mediante um adequado *follow-up* e a realização de novos inquéritos que permitam do ponto de vista estatístico estabelecer uma boa correlação.

O fato de que 11% dos pacientes apresentaram alterações eletrocardiográficas, sendo dois do Amazonas, e os demais procedentes de reconhecidas áreas de transmissão de DC no Brasil, vivendo em áreas consideradas anteriormente como endenes, também assume grande importância pois nenhum

deles sabiam serem portadores de DC e estabeleciam mais um elo na cadeia de transmissão da doença na Região, essas informações reforçam os achados desse estudo sobre a presença dos casos na região e a importância de sua realização em diferentes áreas da Amazonia.

Nesse estudo apresentou-se resultados de um projeto realizado com objetivo de entender como ocorre a dinâmica de transmissão da DC na Amazonia, particularmente no Amazonas, que entre 1980 e 2015 registrou mais de 100 casos de DC aguda, distribuídos em 19 dos 62 municípios do estado. Já foram notificados cinco surtos da DCA, todos associados a transmissão oral por ingestão de suco de açaí (80). Embora em todos os surtos a detecção precoce tenha sido realizada pelo sistema estruturado para o diagnóstico microscópico da malária, assim como a pronta atuação das equipes de serviços da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) e da Fundação de Vigilância em Saúde (FVS/AM), tenha sido fundamental na adoção de medidas de controle dos surtos e tratamento dos casos, os pacientes após serem tratados voltaram a suas regiões de origem e não se sabe se houve cura da doença (85).

Após os estudos iniciados em 2007 tem se estruturado o atendimento ambulatorial para a DC da FMT-HVD. Atualmente os pacientes estão sendo atendidos nesse serviço de ambulatório da FMT-HVD, em média, 10 pacientes por semana com história de DC. No processo de atendimento e diagnóstico desses casos, participam também a Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (FHEMOAM) na triagem em doadores no banco de sangue, a FVS/AM e o Hospital Francisca Mendes, através do Serviço de Cardiologia. Na detecção dos casos crônicos o estabelecimento de serviços estruturados de referência e contra-referência da infectologia, cardiologia e bancos de sangue tem sido a chave e a FMT-HVD vem realizando essa tarefa há algum tempo (85).

Dessa forma torna-se de extrema relevância o conhecimento do que vem ocorrendo com os pacientes tratados nos surtos e nos casos isolados para doença aguda, e acompanhar os casos crônicos bem como para melhorar o entendimento sobre a doença. Para isso novos estudos serão necessários para que se obtenham resultados que possam atrair o investimento de laboratórios, bem como nas questões

relacionadas a gestão de um plano de entendimento sobre a dinâmica da doença na região.

5 CONCLUSÃO

Foram visitadas 1.088 residências e incluídos 1.845 moradores sendo a maioria natural do estado do Amazonas, do sexo masculino; 15% vivendo sozinhos, faixa etária idade produtiva ou seja entre 41-60 anos; agricultores. Grande parte da população não tem conhecimento sobre a DC e sua dinâmica de transmissão

Entre os fatores que vulnerabilizam a população estudada está o fato de que como a doença não é conhecida na região, grande parte dos moradores exercem atividades que os insere ou expõem ao ciclo do parasito; nunca tinham ouvido falar sobre a DC; não ter conhecimento sobre o barbeiro e não reconhecer os barbeiros; terem visto o barbeiro dentro de suas residências; entrar e desenvolver atividades na mata; caçar e consumir carne de caça e consumir sucos de frutos de palmeira; 22% dos participantes reativos que não realizaram o seguimento clínico.

Dos 1.845 participantes 45 foram reativos em pelo menos dois testes sorológicos; Registrou-se divergências entre os Kits do ELISA utilizados; Estimou-se uma prevalência de 2,4 pessoas chagasicas.

Foram considerados fatores de risco que aumentaram as chances de aquisição sorológicos; Registrou-se *T. cruzi* : exercer atividades como agricultor e extrativista; ter eletricidade na resididos; Regier encontrado triatom entre os Kits do ELISA utilizados; Estimou-se uma prevalência de 2,4 pessoas chagasicas;

Foram considerados fatores de risco que aumentaram as chances de aquisição da infecção pelo *T. cruzi* : exercer atividades como agricultor e extrativista; ter eletricidade na residência; ter encontrado triatomíneos no domicilio; ter o hábito de entrar na mata e ter realizado transfusão de sangue.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Silveira AC. Controle Da Doença De Chagas Nos Países Do Conesul Da América. *J Chem Inf Model*. 2002;53:160.
2. Dias J, Coura J. Clínica e terapêutica da Doença de Chagas, uma abordagem prática para o clínico geral. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 1997. 263-263 p.
3. Camargo ME, da Silva GR, de Castilho E a., Silveira a. C. Inquérito Sorológico da Prevalência de Infecção Chagásica no Brasil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1984;26(4):192–204.
4. Carlos J, Dias P, Prata A, Schofield J. Doença de Chagas na Amazônia : esboço da situação atual e perspectivas de prevenção . Chagas ' disease in the Amazon : an overview of the current situation and perspectives for prevention . *Rev Soc Bras Med Trop*. 2002;35(6):669–78.
5. Coura J rodrigues. Síntese histórica e evolução dos conhecimentos sobre a doença de Chagas. Scielo Books. Rio de Janeiro; 1997.
6. Brener Z. *Trypanosoma cruzi: morfologia e ciclo evolutivo*. FIOCRUZ. Rio de Janeiro: Scielo books; 1997.
7. Chagas C. Nova tripanozomíase humana. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*; 1909.
8. Schofield C. *Triatominae: Biología y Control*. Health ZP, editor. Eurocommunica; 1994. 80 p.
9. Coura JR, Junqueira ACV, Fernandes O, Valente SAS MM. Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil. *Trends Parasitol*. 2002;13:117–6.
10. Zingales B. *Trypanosoma cruzi: um parasita, dois parasitas ou vários parasitas da doença de chagas?* *Rev da Biol*. 2011;6b:44–8.
11. Miles MA, Souza A, Póvoa M, Shaw JJ, Lainson R TP. Isozymic heterogeneity of *Trypanosoma cruzi* in the first autochthonous patients with Chagas' disease in Amazonian Brazil. *Nature*. 1978;27(272):819.
12. Miles, M.A.; Lanham, Sheila; Souza, A.A.; Póvoa M. Further enzymic characters of *Trypanosoma cruzi* and their evaluation for strain identification. Instituto Evandro Chagas da Fundação SESP. Pará; 1979;
13. Souto, R.P.; Fernandes, O; Macedo, A.M; Campbell, D.A; Zingales B. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol*. 1996;83(2):141–52.
14. Tibayrenc M and Ayala FJ. Isozyme Variability in *Trypanosoma cruzi*, The Agent of Chagas' Disease: Genetical, Taxonomical, and Epidemiological Significance. *Soc study Evol*. 1988;42(2):277–92.
15. Zingales, B.; Souto, R.P.; Lisboa, C.V.; Campbell, D.A.; Coura, J.R.; Jansen, A.; Fernandes O. Molecular epidemiology of American trypanosomiasis in Brazil based on dimorphisms of rRNA and mini-exon gene sequences. *Int J Parasitol*. 1998;28(1):105–12.

16. Recommendations from a satellite meeting. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999;94 Suppl 1(I):429–32.
17. Miles, M.A.; Povoá, M.M.; Souza, A.A.; Lainson, R.; Shaw, J.J.; Ketteridge DS. Chagas ' s disease in the Amazon Basin : 11 . The distribution cruzizymodemes 1 and 3 in Pará State , north of Trypanosoma Materials and Methods Host Species and no . per Locality Didelphis marsupialis (common opossum) Philander-opossum Belém Marituba-P. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1981;75(5).
18. Monteiro WM, Magalhães LK, Santana Filho FS, Borborema M, Silveira H, Barbosa MDG V. Trypanosoma cruzi TcIII/Z3 genotype as agent of an outbreak of Chagas disease in the Brazilian Western Amazonia: Short Communication. Trop Med Int Heal. 2010;15(9):1049–51.
19. Monteiro WM, Margioto Teston AP, Gruending AP, dos Reis D, Gomes ML, de Araújo SM, et al. Trypanosoma cruzi I and IV stocks from Brazilian Amazon are divergent in terms of biological and medical properties in mice. PLoS Negl Trop Dis. 2013 Jan;7(2):e2069.
20. Santana RA, Magalhães LK, Magalhães LK, Prestes SR, Maciel MG, da Silva GA, et al. Trypanosoma cruzi strain TcI is associated with chronic Chagas disease in the Brazilian Amazon. Parasit Vectors [Internet]. 2014;7(1):267. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24916362>
21. Hamilton PB, Teixeira MMG, Jamie R. Stevens. The evolution of Trypanosoma cruzi: the “bat seeding” hypothesis. Trends Parasitol. 2012;28(4).
22. WHO. No Title. UNICEF. 2015. p. <http://www.who.int/tdr/diseases - topics/chagas/en/>.
23. Aquino MVM. Doença de chagas: uma revisão bibliográfica. 1909;
24. Moncayo A. Progress Towards Interruption of Transmission of Chagas Disease. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999;94(SUPPL. 1):401–4.
25. Freitas JLP, Amato Neto V, Sonntag R BA. Primeiras ratificações de transmissão acidental da moléstia de Chagas ao homem por transfusão de sangue. Rev Paul Med. 1952;1952(40):36–40.
26. Dias JCP. Control of Chagas disease: status in the blood supply in endemic and nonendemic countries. Transfusion. 1991;31:547–57.
27. Dias JCP SA. Enfermedad de Chagas en las Américas: situación actual y perspectivas. Rev Soc Bras Med Trop. 2005;32(2):5–13.
28. CONSENSO BRASILEIRO EM DOENÇA DE CHAGAS 1. Freitas JLP, Amato Neto V, Sonntag R, Barcalama A. 2005;38(Suplemento III):1–29.
29. Ostermayer AL, Passos ADC, Silveira AC, Ferreira AW, Macedo V, Prata AR. O inquérito nacional de soroprevalência de avaliação do controle da doença de chagas no Brasil (2001-2008). Rev Soc Bras Med Trop. 2011;44(SUPPL. 2):108–21.
30. Pinto, A.Y.N; Valente, V.C.; Valente, S.A.S.; Figueiras ACM. Congenital Chagas disease due to acute maternal Trypanosoma cruzi infection transmitted by the oral route. 2011;(91):89–94.
31. Nóbrega A a., Garcia MH, Tatto E, Obara MT, Costa E, Sobel J, et al. Oral transmission of chagas disease by consumption of Açaí palm fruit, Brazil. Emerg Infect Dis. 2009;15(4):653–5.

32. Nóbrega A a., Garcia MH, Tatto E, Obara MT, Costa E, Sobel J et al. Large urban outbreak of orally acquired acute Chagas disease at a school in Caracas, Venezuela. *J Infect Dis.* 2010;201(9):1308–15.
33. Sousa, ELM, Barbosa M, Gomes I, García-Zapata M. Os gambás (*Didelphis* sp) e a cana-de-açúcar (*Saccharum* spp) na possível transmissão oral do *Trypanosoma cruzi*: revisão da literatura; Opossums (*Didelphis* sp). *UNOPAR Cient, Ciênc Biol Saúde* [Internet]. 2011;13:357–62. Available from: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IscScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=621748&indexSearch=ID>
34. Beltrão Hde B, Cerroni Mde P, Freitas DR, Pinto AY, Valente Vda C, Valente SA, Costa Ede G SJ. Investigation of two outbreaks of suspected oral transmission of acute Chagas disease in the Amazon region, Para State, Brazil, in 2007. *Trop Doct.* 2009;39:231–2.
35. Dias JCP. Doença de Chagas e transfusão de sangue no Brasil : vigilância e desafios. *Rev Bras Hematol.* 2006;28(2):83–4.
36. Pinto, A.Y.N.; Valente, S.A.; Valente, V.C.; Junior, A.G.F.; Coura JR. Fase aguda da doença de Chagas na Amazônia brasileira . Estudo de 233 casos do Pará , Amapá e Maranhão observados entre 1988 e 2005 Acute phase of Chagas disease in the Brazilian Amazon region . Study of 233 cases from Pará , Amapá and Maranhão observed b. 2008;41(6):602–14.
37. Noya O, Colmenares C R. *Notas Científicas.* 2010;8:135.
38. Chocair PR, Sabbaga E, Amato Neto V, Shiroma M GG. Transplante de rim: nova modalidade de transmissão da doença de Chagas. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1985;23:280–92.
39. Dias JCP, Neto VA. Prevenção referente às modalidades alternativas de transmissão do *trypanosoma cruzi* no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2011;44(SUPPL. 2):68–72.
40. Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis.* 2001;1(2):92–100.
41. Amato-Neto, A.V.; Yasuda, M.A.S.; Amato VS. Doença de Chagas aguda. 1997;
42. Moncayo a, Ortiz Yanine MI. An update on Chagas disease (human American trypanosomiasis). *Ann Trop Med Parasitol.* 2006;100(8):663–77.
43. Rassi A, Junior AR, Rassi AG. *Cardiopatia crônica: Scielo books.* 1997;
44. WHO. *Control of Chagas Disease.* 1991;
45. Crescente JAB, Pinheiro NCN, Valente SAS, Rodrigues RMV, Rebelo RR, Ayres SFG CM. Análise clínica e epidemiológica de 20 casos autóctones de Doença de Chagas Aguda ocorridos no período de janeiro de 1988 a dezembro de 1992, Estado do Pará. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1994;27(1):182.
46. Pinto A, Harada GS, Valente C, Elson J, Abud A, Gomes S, et al. Acometimento cardíaco em pacientes com doença de Chagas aguda em microepidemia familiar , em Abaetetuba , na Amazônia Brasileira Cardiac attacks in patients with acute Chagas ' disease in microepidemic familiar episode , in Abaetetuba City , Brazilian Ama. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2001;34(5):413–9.

47. Barbosa-Ferreira JM, Guerra JADO, Santana Filho FS De, Magalhães BML, Coelho LI a. RC, Barbosa MDGV. Acometimento cardíaco em Casos de Doença de Chagas Aguda da Amazônia. *Arq Bras Cardiol.* 2010;94(6):147–9.
48. Barbosa-ferreira JM, Nobre AF, Giovany J, Maldonado A, Borges-pereira J. Relato de Caso / Case Report Acidente vascular encefálico isquêmico em paciente chagásico crônico autóctone da Amazônia Brasileira Stroke in a chronic autochthonous chagasic patient from the Brazilian Amazon. 2010;43(6):751–3.
49. Sanchez-Lermen RDLP, Dick E, Salas J a P, Fontes CJF. Sintomas do trato digestivo superior e distúrbios motores do esfínago em pacientes portadores da forma indeterminada da doença de Chagas crônica. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2007;40(2):197–203.
50. Macedo VO. Forma indeterminada da doença de chagas. Rio de Janeiro: Scielo Books; 1997.
51. Ostermayer AL, Castro AM De, Castro AM De. Diagnóstico sorológico da doença de chagas. Rio de Janeiro: Scielo Books; 1997.
52. Coura J. Doença de Chagas. Guanabara. Síntese das Doenças Infecciosas e Tropicais; 2008.
53. Gomes YM. Diagnóstico Etiológico. Savier. 1996;32.
54. MS. Recomendações Sobre O Diagnóstico Parasitológico , Sorológico E Molecular Para Confirmação Da Doença De Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop [Internet].* 2013;42(Anexo 1):475–8. Available from: http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/arquivos/pdf/2013/nov/18/inforde_diagnostico_dc_nucom_2_pdf
55. Luz ZMP, Coutinho MG, Caçado JR, Krettli AU. HEMOCULTURA : TÉCNICA SENSÍVEL NA DETECÇÃO DO TRYPANOSOMA CRUZI EM PACIENTES CHAGÁSICOS NA. 1994;7(3):143–8.
56. Krettli AU. 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.* 2009;104(SUPPL. 1):142–51.
57. Almeida, R.B.; Santiliano FC. Levantamento dos Métodos de Diagnóstico para a Doença de Chagas. *Enciclopédia Biosf.* 2012;8(14):1586.
58. Brener Z. Profilaxia In: *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas.* Guanabara. Silveira, editor. Guanabara; 1999.
59. Voller A, Draperb C, Bidwellc D BA. Microplate enzyme-linked immunosorbent assay for Chagas' disease. *Lancet.* 1975;305(7904).
60. Gadelha AAM. Avaliação do Desempenho do “Kit” EIE-Recombinante-Chagas-Biomanguinhos Frente ao ELISA Convencional e ao Teste de Hemaglutinação Indireta Dissertação. Fundação Oswaldo Cruz; 2003.
61. Ms. Coordenação Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids. Doença de Chagas. Triagem e diagnóstico sorológico em unidades hemoterápicas e laboratórios de saúde pública. Série TELELAB. 1998;71.
62. Chamone D, Sáez-alquézar A, Salles N, Bassit I SE. Triagem Sorológica em Bancos de Sangue. Roca. Manual de Transfusão Sangüínea.; 2001. 227–56. p.

63. Ferreira A ÁS. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. . Editora . Rio de Janeiro; 2001.
64. Camargo, M.; Rebonato C. Cross-reactivity in immunofluorescence test for *Trypanosoma* and *Leishmania* antibodies. *Trop Med Hyg.*; 1969;18.:500–5.
65. Fuchs A, Fioratti V, Mello V BE. Diagnóstico sorológico na doença de Chagas. Estudo comparativo de diferentes técnicas. *Rev Inst Med Trop.* 1980;22:242–5.
66. Amato Neto V, De Marchi CR, Ferreira CS, Ferreira AW. Observations on the use of TESA blot for the serological diagnosis of Chagas' disease. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005;38(6):534–5.
67. Umezawa ES, Nascimento MS, Kesper N, Coura JR, Borges-Pereira J, Junqueira a. C V, et al. Immunoblot assay using excreted-secreted antigens of *Trypanosoma cruzi* in serodiagnosis of congenital, acute, and chronic Chagas' disease. *J Clin Microbiol.* 1996;34(9):2143–7.
68. Martins A. *Epidemiologia*. In: *Doença de Chagas*. Belo Horizonte; 1968.
69. Bern C, Montgomery SP. An estimate of the burden of Chagas disease in the United States. *Clin Infect Dis [Internet]*. 2009 Sep 1 [cited 2015 Jan 12];49(5):e52–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19640226>
70. Schmunis G a, Yadon ZE. Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. *Acta Trop.* 2010;115(1-2):14–21.
71. Schmunis GA. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries : the role of international migration. 2007;102(PAHO 2006):75–85.
72. Para más información, por favor visite: www.paho.org/chagas www.paho.org • © OPS/OMS, Marzo 2014. 2014;2014.
73. Deane L DR. Tripanosomídeos de mamíferos da Região Amazônica II. Tripanosomas de macacos da Zona do Salgado, Estado do Pará. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1961;9:143–8.
74. Esterre, P; Dedet JP. Situação Atual da Doença de chagas na Guiana Francesa. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1987;20(3):139–42.
75. Shaw J, Lainson R FH. Epidemiology of the first autochthonous cases of Chagas' disease recorded in Belem, Para, Brazil. *Rev Saude Publica.* 1969;3(2):153–7.
76. Valente S. Considerations on the epidemiology and transmission of Chagas disease in the Brazilian Amazon. *Memórias do Inst ... [Internet]*. 1999 [cited 2015 Jan 12];94:395–8. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02761999000700077&script=sci_arttext
77. Pinto, A.Y.N; Valente, S.A.S.; Valente VC. Emerging Acute Chagas Disease in Amazonian Brazil: Case Reports With Serious Cardiac Involvement. 2004;8(September 2000):454–60.
78. Coura J. Transmissão da infecção chagásica por via oral na história natural da doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2006;39(3):113–7.
79. França, M.S.; Frade, J.M.; Konasugava, K.; Almeida FB. Doença de Chagas - Primeiro caso autóctone na Amazônia Ocidental - Amazonas - Brasil. *Acta Amaz.* 1980;10(4):759–62.

80. Souza-lima RDC De, Vale G, Coura JR, Ruth A, Arcanjo L, Nascimento S, et al. Outbreak of acute Chagas disease associated with oral transmission in the Rio Negro region , Brazilian Amazon. 2013;46(November 2011):1–5.
81. Boia MN, Motta LP Da, Salazar MDSP, Mutis MPS, Coutinho RB a., Coura JR. Estudo das parasitoses intestinais e da infecção chagásica no Município de Novo Airão, Estado do Amazonas, Brasil. *Cad Saude Publica*. 1999;15(3):497–504.
82. Brum-soares LM, Xavier SS, Sousa AS De, Borges-pereira J, Bemfica JM, Ferreira B, et al. Morbidade da doença de Chagas em pacientes autóctones da microrregião do Rio Negro , Estado do Amazonas Morbidity of Chagas disease among autochthonous patients from the Rio Negro microregion , State of Amazonas. 2010;43(2):170–7.
83. Borborema M, Guerra JAO, Malheiros R, Fé N, Lacerda MVL, Coelho LIA et. al. Doença de Chagas urbana em Tefé-AM: Relato de nove casos com suspeita de transmissão oral. *Soc Bras Med Trop*. 2005;38:491.
84. Monteiro WM, Barbosa MDGV, Toledo MJDO, Fé FA, Fé NF. Series of acute Chagas' disease cases attended at a tertiary-level clinic in Manaus, State of Amazonas, from 1980 to 2006. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010;43(2):207–10.
85. Barbosa M, Barbosa-Ferreira J, Ruth A, Arcanjo L, Amélia R, Santana G, et al. Review Article Chagas disease in the State of Amazonas: history , epidemiological evolution , risks of endemicity and future perspectives. 2015;48(September 2014):27–33.
86. Almeida FB. Encontro de três espécies naturalmente infectadas por *Trypanosoma* semelhante ao cruzi, no Estado do Amazonas (Hemiptera reduviidae). *Inst Nac Pesqui da Amaz*. 1971;
87. Magalhães BML, Coelho LIARC, Maciel MG, Ferreira JMJB, Umezawa ES, Coura JR, et al. Serological survey for Chagas disease in the rural areas of Manaus, Coari, and Tefé in the Western Brazilian Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2011;44(6):697–702.
88. Noireau F, Diosque P, Jansen AM. *Trypanosoma cruzi*: Adaptation to its vectors and its hosts. *Vet Res*. 2009;40(2).
89. Coura JR, Willcox HPF, Tavares ADM, Paiva DD De, Fernandes O, Rada ÉLJC, et al. Aspectos epidemiológicos, sociais e sanitários de uma área no Rio Negro, estado do Amazonas, com especial referência às parasitoses intestinais e à infecção chagásica. *Cad Saude Publica*. 1994;10:327–36.
90. Pinto AYDN, Ferreira AG, Valente VDC, Harada GS, Valente SADS. Urban outbreak of acute Chagas disease in Amazon region of Brazil: four-year follow-up after treatment with benznidazole. *Rev Panam Salud Publica*. 2009;25(1):77–83.
91. Albajar PV, Velihovetchi Laredo S, Brasil Terrazas M, Rodrigues Coura J. Miocardiopatia dilatada em pacientes com infecção chagásica crônica. Relato de dois casos fatais autóctones do Rio Negro, Estado do Amazonas. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003;36(3):401–7.
92. Schmunis GA YZ. Chagas disease: a Latin America health problem becoming a world health problem. *Acta Trop*. 2010;115(1-2):14–21.

93. Montgomery SP, Starr MC, Cantey PT, Edwards MS, Meymandi SK. Neglected parasitic infections in the United States: Chagas disease. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2014 May [cited 2015 Jan 12];90(5):814–8. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4015570&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
94. Strasen J, Williams T, Ertl G, Zoller T, Stich A RO. Epidemiology of Chagas disease in Europe: many calculations, little knowledge. *Clin Res Cardiol*. 2014;103(1):1–10.
95. WHO. Chagas disease (American trypanosomiasis) [Internet]. 2014. Available from: <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>
96. Caballero ZC, Sousa OE, Marques WP, Saez-Alquezar A, Umezawa ES. Evaluation of serological tests to identify *Trypanosoma cruzi* infection in humans and determine cross-reactivity with *Trypanosoma rangeli* and *Leishmania* spp. *Clin Vaccine Immunol*. 2007;14(8):1045–9.
97. Coura J, R.; Willcox, H. P. F.; Arboleda, M. N.; Fernandes, O. & Paiva DD. Chagas' disease in the Brazilian Amazon. III. 1995.
98. Ricciardi a., Ndao M. Diagnosis of Parasitic Infections: What's Going On? *J Biomol Screen* [Internet]. 2014;20(1):6–21. Available from: <http://jbx.sagepub.com/cgi/doi/10.1177/1087057114548065>
99. Oelemann WM, Teixeira MD, Veríssimo Da Costa GC, Borges-Pereira J, De Castro J a, Coura JR, et al. Evaluation of three commercial enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of Chagas' disease. *J Clin Microbiol*. 1998;36(9):2423–7.
100. Salles, NA; Sabino, EC; Cliquet, MG; Eluf-Neto, J; Maver, A; Almeida-Neto, C; Mendonça, MC; Dorliach-Llacer, P; Charmone, DF; Saéz-Alquézar A. Risk of exposure to Chagas' disease among seroreactive Brazilian blood donors. *Transfusion*. 1996;36(11-12):969–73.
101. Silveira LB, Wiggers R. Protegendo a floresta, reconfigurando espaços na Amazônia: o caso do Projeto de Assentamento Extrativista Santa Maria Auxiliadora, Humaitá (AM). *Rev Adm Pública* [Internet]. 2013;47(3):671–93. Available from: http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84879730643&partnerID=tZOtx3y1\&nhttp://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-76122013000300007&lng=pt&nrm=iso&tlng=en
102. Steverding D. The history of Chagas disease. *Parasit Vectors* [Internet]. 2014 Jan [cited 2014 Dec 31];7(1):317. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4105117&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
103. Walsh JF, Molyneux DH BM. Deforestation: effects on vector-borne disease. *Parasitology*. 1993;106(S55-75.).
104. Yoshida N. Molecular mechanisms of *Trypanosoma cruzi* infection by oral route. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104:101–7.
105. Monteiro WM, Magalhães LKC, de Sá ARN, Gomes ML, Toledo MJDO, Borges L, et al. *Trypanosoma cruzi* IV causing outbreaks of acute Chagas disease and infections by different haplotypes in the Western Brazilian Amazonia. *PLoS One*. 2012 Jan;7(7):e41284.

ANEXO

Anexo 1 - Termo de Consentimento Livre Esclarecido



FMT-AM

Fundação de Medicina Tropical do Amazonas

DIRETORIA DE ENSINO, PESQUISA E CONTROLE DE ENDEMIAS COORDENADORIA DE PESQUISA -
GERÊNCIA DE ENTOMOLOGIA

TCIA DE EEstudo eco-epidemiológico da infecido chagá chaga infecidmência, vetores, reservatórios e caracterizaervatSQUISA
E CO*Trypanosoma cruzi* em áreas periurbana e rural de Manaus”

Investigador: MARIA DAS GRAÇinvestigador: MA

Instituição: FUNDAadO DE MEDICINATROPICAL DO AMAZONAS

N.º de protocolo:

Patrocinador:

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O abaixo assinado ou sob responsabilidade do seu parente prde do seu parente prade do u, nos casos necessol programme in
Brazil. era reduviidae). Inst Nac Pesqui da Amaz. 1971; as, Brasil. Cad Sauestar ciente após ter lido ou ouvido o presente Termo
de Consentimento que lhe informa o seguinte:

- I. Que está participando de um estudo que tem por finalidade avaliar a ocorrência da Doença de Chagas no Amazonas;
- II. Que a participação neste estudo é voluntária, assim como a sua recusa não haverá qualquer tipo de retaliação ou perda de benefícios a que o responsável ou seu dependente tenham direito;
- III. Que, havendo concordância para a participação no estudo, se procederá às seguintes condutas:
 1. Preenchimento da ficha individual e um questionário (constando de dados relativos à doença);
 2. poderão ser coletados 10 ml de sangue da veia, com seringas descartáveis, para realização de testes sorológicos, e exames de rotina para avaliar se sou portador ou tive contato com o transmissor dessa doença. A retirada de sangue implica em dor pela picada da agulha no momento da coleta;
 3. Em havendo suspeita da doenlica em dor pela picada da agulha no momento da coleta;missor dessa doennecessários, sob a responsabilidade do investigador ou médico que assina este documento, declara estar ciente após *Trypanosoma cruzi*; e Isolamento do parasito em meios de cultura;
- I. que, participando do estudo, o paciente ou a família não obterão quaisquer benefícios adicionais além dos já citados (diagnóstico da infecção e/ou doença), que entretanto estarão contribuindo para o conhecimento da Doença de Chagas no Amazonas, podendo dessa forma beneficiar outras pessoas com esta doença;
- II. que o paciente terá direito a indenização conforme previsto no item V.6 da Resolução 196/99 da CONEP.
- III. que o material retirado se destina apenas a pesquisa constante do protocolo, mas que concordo que o material que porventura venha a sobrar, seja estocado e possa ser utilizado para outras pesquisas clínicas e imunológicas que envolvam o diagnóstico acompanhamento de casos e isolamento de cepas de Doença de Chagas no Amazonas;
- IV. que o projeto poderá ser encerrado caso ocorram efeitos adversos além dos esperados e que possam prejudicar o sujeito da pesquisa;
- V. que a participação neste estudo será confidencial e os registros ou resultados dos testes relacionados ao estudo serão mostrados apenas aos participantes e aos representantes da FMTAM, bem como a autoridades normativas estaduais ou nacionais, com o objetivo de garantir informações de pesquisas clínicas ou para fins normativos.
- VI. A identidade dos participantes permanecerá sempre em confiabilidade. O patrocinador assegura que isso acontecerá de acordo com as normas legais reguladoras de proteção nacionais ou internacionais;
- VII. que o participante e seus familiares têm direitos aos esclarecimentos que julgarem necessários a qualquer período do desenvolvimento deste estudo e será notificado sobre qualquer nova informação relacionada. A Dra. Maria das Graças Vale Barbosa e ou ao Dr. Jorge Augusto de Oliveira Guerra, cujo número de telefone é 2127-3525 terá disponibilidade para atender e esclarecer possíveis dúvidas dos participantes;
- VIII. que o participante tem o direito de se retirar deste estudo a qualquer momento, sem qualquer retaliação, e também o direito de manter em seu poder cópia assinada deste documento;
- IX. que, por estar devidamente esclarecido sobre o conteúdo deste termo, livremente expressa seu consentimento e/ou do seu responsável para inclusão como participante nesta pesquisa.

Nome do paciente.	Idade	sexo	
Assinatura do paciente ou responsável			

Impressão dactiloscópica
(p/ analfabeto)

Data:

...../...../.....

Nome do pesquisador: MARIA DAS GRAÇAS VALE BARBOSA

Assinatura do pesquisador.....

Anexo 2 - Ficha de Investigação e Acompanhamento Clínico de Pacientes

Projeto: Estudo eco-epidemiológico da infecção chagásica: soroprevalência, vetores, reservatórios e caracterização de cepas de *Trypanosoma cruzi* em área periurbana e rural de Manaus

Ficha de Investigação Epidemiológica e Acompanhamento Clínico de Pacientes

IDENTIFICAÇÃO

Agravo: Doença de Chagas Data dos primeiros sintomas: ___/___/___

Nome do paciente:

Data de Nascimento: Idade: Sexo:

Idade: Sexo: Mogena () Negro () Branco () Amarelo () Pardo

Escolaridade (em anos de estudo concluídos):

Alfabetizado 1 a 4, 5 a 8, 9 a 11, superior C I

Estado civil:

Residência: Ramal: Ramal:

Telefone: celular: contato:

Procedência: Naturalidade:

Profissão: Ocupação: Lazer:

ANTECEDENTES EPIDEMIOL: cont

Data da investigação:

Toma algum remédio controlado? () sim () não Qual?

Moradia () alvenaria () pau-a-pique () palafita ou madeira

Quantas pessoas moram nessa casa? Paredes completas?

Quantidade de cômodos () sim () não

Água encanada? () sim () não

Tratamento da água e esgoto? () sim () não

Qual a origem da água utilizada pela família? () rio ou igarapéia? () ou cisterna () cacimba () cisterna

Casa paredes completas?

Como você trata a água para o seu consumo? () Coa () filtra () ferve () usa hipoclorito

Possui energia elétrica nessa casa? () sim () não

Foi realizada a borrifação sim () não últimos 12 meses? () sim () não quando?

Deslocamento (viagens para áreas infestadas com triatomíneos nos últimos 90 dias): Presençamos 90 dias):

Reconhece o barbeiro? () Sim () Não

Presença/Contato de mucura (*Didelphis marsupialis*) (Últimos 30 dias):

Consumo de carne de caça (queixada, anta, veado, paca, tatu, cotia) nos últimos 30 dias:

Consumo de suco de frutos de palmeira nos últimos 30 dias:

Data do consumo de açaí

História de Uso de Sangue ou Hemoderivados

Animais domésticos na sua casa? () sim () Não

Já ouviu falar do barbeiro ou piolho de piaçaba? () sim () não

Já ouviu falar sobre Doença de Chagas? () sim () Não

Já teve alguma instrução sobre a DC () sim () Não

Há história familiar para Doença de Chagas? () sim () não

Teve Leishmaniose () sim () Não quando _____

EXAMES LABORATORIAIS

Parasitológicos:

Hemoscopia: () Positiva () Negativa

Xenodiagnóstico: Realizado () Sim () Não

Hemocultura: Realizado ()

Coleta de sangue em papel de filtro: () Realizado () Não _____

Imunol de sangue Hemaglutinação Indireta: () Positivo () Negativo

Imunofluorescência: () Positivo () Negativo

ELISA: () Positivo () Negativo

ECG: () Normal () Com alterações

Bloqueio AV de 1º grau AV

Alterações primárias de T ()

Prolongamento de Q-T ()

Alterações de ST-T ()

Baixa voltagem de QRS ()

Alterações de P ()

Extras ()es ventriculares ()

Ritmo juncional ()

Bloqueio completo de ramo direito ()

Outras: _____

Radiografia do tóadiografia do t_____

Radiografia do esôadiografia do es_____

Radiografia do cóadiografia do cs_____

Hemograma: _____

ECC: _____

Anexo 3 - Parecer de Aprovação do CEP



Fundação de Medicina Tropical do Amazonas
Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos
Av. Pedro Teixeira, 25 – Dom Pedro
Cep: 69040-000
Manaus – Amazonas - Brasil



APROVAÇÃO Nº 1986

Registro CEP Nº3305-09

CAAE – 0022.0.114.000-09

Processo Nº3305/2009-FMT-AM

Projeto de Pesquisa: Estudo eco-epidemiológico da infecção chagástica: Soroprevalência, vetores, reservatórios e caracterização de cepas de Trypanosoma cruzi em áreas periurbana e rural de Manaus.

Pesquisador responsável: Maria das Graças Vale Barbosa

Instituição Sediadora: Fundação de Medicina Tropical do Amazonas

Instituição Vinculada: Não se aplica.

Área Temática Especial: Não se aplica.

Patrocinador: PPSUS.

Registro para armazen. de mat. Biológico humano: Não se aplica

Ao se proceder à análise relativo do Projeto em questão, o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (FMT-AM), em sessão ordinária do dia 08 de março de 2010 e de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Situação do Protocolo: APROVADO

Manaus, 08 de março de 2010.


Luiz Carlos de Lima Ferreira
Coordenador de Ética em Pesquisa
FMT-AM

*seub. n.
26/03/10
LGF*

Obs: Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP, os relatórios parciais e finais sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº196, de 10.10.1996, inciso IX. 2 letra "c") conforme o Formulário de acompanhamento dos Projetos aprovados no CEP, disponível em nossa home Page.