



Universidade de Brasília – UnB  
Faculdade de Medicina  
Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa em  
Doença de Chagas

**Adriana de Jesus Benevides de Almeida Guimarães**

**ASSOCIAÇÃO DE LOCUS DAS MUTAÇÕES DE KDNA DE  
TRYPANOSOMA CRUZI NO GENOMA COM  
MANIFESTAÇÃO CLÍNICA DA DOENÇA DE CHAGAS.**

Brasília – DF

2014

**Adriana de Jesus Benevides de Almeida Guimarães**

**ASSOCIAÇÃO DE LOCUS DAS MUTAÇÕES DE KDNA DE  
TRYPANOSOMA CRUZI NO GENOMA COM  
MANIFESTAÇÃO CLÍNICA DA DOENÇA DE CHAGAS.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do Título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Teixeira

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Nadjar Nitz

Brasília – DF

2014

**Adriana de Jesus Benevides de Almeida Guimarães**  
**ASSOCIAÇÃO DE LOCUS DAS MUTAÇÕES DE KDNA DE**  
**TRYPANOSOMA CRUZI NO GENOMA COM**  
**MANIFESTAÇÃO CLÍNICA DA DOENÇA DE CHAGAS.**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Cleudson Nery de Castro  
*Universidade de Brasília*

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carla Nunes de Araújo  
*Universidade de Brasília*

---

Prof. Dr. Adriano de Almeida Lima  
*Universidade de Brasília*

---

Prof. Dr. Benhur Davi Henz  
*Mayo Clinic College of Medicine*

Trabalho produzido no Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa em Doença de Chagas, Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília.

Financiamentos: FAP/DF

Recursos próprios

FHCGV/PA

Clínica Biocórdios

Brasília – DF

2014

“O saber a gente aprende com os mestres e os livros. A sabedoria se aprende é com a vida e com os humildes”.

**Cora Coralina**

“O rio atinge seus objetivos porque aprendeu a contornar os obstáculos”.

**Lao Tsé**

“É que tem mais chão nos meus olhos do que cansaço nas minhas pernas, mais esperança nos meus olhos do que tristeza nos meus ombros, mais estrada no meu coração do que medo na minha cabeça.”

**Cora Coralina**

## DEDICATÓRIA

Aos meus estimados pacientes do Estado do Pará, sempre fonte de inspiração, motivação e amor ao meu semelhante, vocês são a razão desta Tese!

Ao meu esposo Márcio Guimarães, pelo apoio, paciência e companheirismo, nos momentos mais difíceis, alegria e entusiasmo nas vitórias para novas conquistas.

Aos meus queridos e amados pais, Arlindo Barreto e Eliete Benevides, pelo amor incondicional e eterno apoio em todas as decisões de minha vida.

À minha inesquecível avó Olívia Barreto, sempre presente em meus pensamentos, nos momentos de aflição e alegria, meu eterno anjo da guarda!

Aos meus queridos irmãos, Andréa, Lívia e Alexandre e cunhados Tiago Coelho e Paulo Mendes, que posso chamar de irmãos também, pelos momentos compartilhados de união e de boas lembranças.

Aos meus sobrinhos Paulo Vinícius, Letícia, Lucas e André Vítor, meus queridos anjinhos por preencherem minha vida de ternura, alegria e vitalidade.

Aos meus sogros, Nilson Guimarães, Ireni Peixoto e cunhada Márcia Guimarães, pela acolhida em Brasília, amizade e companhia nos momentos de dificuldades e na partilha das alegrias.

À minha querida prima Kátia Malena que no início de minha estada em Brasília me acolheu com carinho, dando-me o apoio precioso e necessário ao meu bem estar.

À minha grande e estimada amiga Mariane Leal, sem palavras suficientes para descrever o apoio incondicional de todas as horas. Seu esposo e amigo Fabrício Leal, seus pais e sua irmã Roberta, vocês são a extensão de minha família, além de alegria, fortalecem meus dias na capital do país.

## AGRADECIMENTOS

Ao querido paciente portador da infecção por *T. cruzi*, pelo qual tenho e sempre terei profundo carinho e respeito, seja qual for sua condição, pois foi o alicerce de todas minhas inspirações, ações e dedicação.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Antonio Teixeira, pelos exemplos de dedicação e inteligência, que me impulsionaram como estímulo valioso, além de todo apoio e orientação indispensáveis à realização deste trabalho.

À Léia Santana, mãe de quatro crianças infectadas, pessoa valiosa, de grande estima, que me encantou com sua inteligência, dedicação e compreensão em todas as etapas da pesquisa em Belém e em Barcarena-PA, sem a qual teria sido quase impossível a participação dos componentes de sua família.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nadjar Nitz, pela amizade, orientação e estímulo fundamentais para o amadurecimento desta pesquisa.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Dilma Moraes de Souza pela preciosa contribuição nos exames de holter e ecodopplercardiograma nos pacientes do Pará, sem a qual teria sido impossível realizar os exames em tempo hábil, além da parceria amiga nos desbraves da pesquisa.

À amiga Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Perla Fabíola, companhia agradável nas horas no laboratório, fundamental nos momentos difíceis e de extrema importância na realização da etapa laboratorial deste trabalho, pois foi responsável pela elaboração das sorologias, exames moleculares e hemocultura dos pacientes da amostragem do Pará.

Ao Prof. Dr. Tiago Araújo Coelho de Souza, o qual contribuiu de forma decisiva para a orientação do Banco de Dados, além das análises estatísticas e epidemiológicas imprescindíveis para os resultados finais desta Tese.

Ao Prof. Dr. Adriano Lima, que em um momento difícil dos resultados, aceitou, de prontidão e com empenho, o desafio de realizar as análises estatísticas desta Tese.

Aos amigos do coração, funcionários do Hospital das Clínicas Gaspar Vianna, em Belém-Pará, pelos momentos de apoio indispensáveis para a realização dos exames clínicos nos pacientes. Além da amizade e colaboração, preencheram meus dias de alegria e sorrisos nos momentos mais difíceis. Especial menção a duas inestimáveis pessoas, de valor incalculável, Cristina e Nilma, muito obrigada por tudo e por todas as vezes que vocês se prontificaram, sem hesitar, nas inúmeras coletas de urgência!

Ao Dr. Geniberto Paiva, Dr. Wladimir, Sr. Alcides e colegas da clínica Biocárdios os quais foram fundamentais à realização dos exames cardiológicos em 190 voluntários saudáveis do Distrito Federal. Sem o apoio deles, teria sido impossível concluir a segunda etapa clínica da pesquisa, meu eterno e estimável agradecimento. Especial admiração aos colegas que realizaram o ecodopplercardiograma com todo cuidado que a pesquisa merece, passo fundamental à agilização dos resultados.

Ao colega cardiologista Dr. Alexandre Amaral, não tenho palavras suficientes para agradecer a valiosa contribuição no laudo dos holters de 24h em todos os voluntários da amostragem de Brasília.

Aos queridos Doutores Aldo e Vera Valente, pesquisadores do Instituto Evandro Chagas, pela amizade de longa data, contribuição valiosa e incentivo nas pesquisas em nossa Região Amazônica.

Ao especial e grande amigo Prof. Dr. Nelson Veiga, do qual tenho imensa estima e carinho, pelo incentivo e compreensão durante as etapas difíceis deste trabalho e pela rica contribuição epidemiológica dos casos do Pará.

Ao Prof. Dr. Osório Rangel, cardiologista experiente e amigo, que, em momento de grande dificuldade técnica, disponibilizou-se generosamente em nos auxiliar na elaboração de exames em alguns voluntários de Brasília.

Aos colegas e, especialmente, aos amigos feitos na UnB: Ana de Cássia Rosa, amiga carinhosa e altruísta na realização de exames de sorologia e hemocultura, Luciana Hagstrom, responsável pela elaboração das sorologias e exames moleculares de todos os participantes do Distrito Federal, Rozeneide Magalhães, que também contribuiu na realização das hemoculturas, Mariana Hecht,



Maria Carolina, Eduardo Leonardecz, Ciro Cordeiro, Alessandro de Sousa, Fernando Pimentel, Rafael Andrade, Adriano Rios, Manuela Britto, Ester Rose, Gabriela, Camilla, Ana, Thais, Tamires Vital, Marcelle, Marcia, Eliete e o inesquecível e amigo de todos, Miguel, a todos por terem contribuído pelo aconchego e bem estar convividos no laboratório durante todos esses anos.

Aos meus queridos estagiários de PIBIC e estudantes de Medicina Fábio Reis, Gabriela Lobo e Emanuel Dantas, muito obrigada pela amizade, apoio e importante auxílio nas etapas de preenchimento do Banco de Dados desta Tese.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

## RESUMO

Morbidade e mortalidade em humanos infectados cronicamente com o *Trypanosoma cruzi* são observados em aproximadamente 30% dos infectados. Os fatores que selecionam esses chagásicos, entre todos os demais infectados, à aquisição da doença crônica são desconhecidos. Estudos de genética molecular demonstraram a transferência de sequências de minicírculos de kDNA do parasito para sítios específicos do genoma do hospedeiro. O sítio de integração identificado com maior frequência foi o retrotransposon LINE-1. Observou-se ainda que o kDNA pôde ser mobilizado para outros sítios do genoma pela atividade do LINE-1. Esses dados sugeriram a possibilidade de associação das variações clínicas da doença com as mutações no genoma. As mutações de kDNA se comportariam como força motriz da patogênese da cardiopatia chagásica. Neste estudo, foram avaliados 95 indivíduos do Pará, 36 voluntários de municípios de Minas Gerais e Goiás e 136 controles do Distrito Federal, com dados do eletrocardiograma, teste ergométrico, holter 24h e ecodopplercardiograma. Foram feitas análises estatísticas visando a associar esses dados clínicos com os achados de integração de kDNA em múltiplos *loci* na maioria dos cromossomos. Tendo a análise dos exames clínicos revelado que a maioria dos indivíduos da amostragem estava na fase indeterminada da infecção crônica pelo *T. cruzi*, sem alteração significativa nos exames, sem frequência elevada de alterações nos grupos de risco para desenvolvimento da doença, não foi possível associar qualquer mutação como valor preditivo para desenvolvimento da cardiopatia chagásica. Os resultados indicam o caráter benigno da evolução das infecções crônicas, na fase clinicamente indeterminada. Entretanto, esses achados não excluem a hipótese de associação das mutações com a patogênese da cardiopatia chagásica. Outros estudos clínico-epidemiológicos de médio e longo prazo são necessários para a identificação de fatores preditivos das manifestações cardíacas da doença de Chagas.

**Palavras-Chave:** *Trypanosoma cruzi*; Doença de Chagas; Fisiopatologia, Mutações de kDNA; Doença cardíaca.

## ABSTRACT

Morbidity and mortality in humans chronically infected with *Trypanosoma cruzi* are observed in approximately 30% among infected people. The factors of selection of chagasic, among the infected population, towards development of the chronic Chagas disease, are unknown. The studies on molecular genetics showed the transfer of the kDNA minicircle sequences from *T. cruzi* to the human host's genome. The kDNA integration *loci* were often identified in the LINE-1 retrotransposon. It was also observed that the kDNA mutations could be mobilized by the retrotransposon from the primary to a secondary site at the genome. These findings suggested the possibility of association of Chagas disease clinical manifestations with the kDNA integrations. In this regard, the kDNA mutations could be triggers of the pathogenesis of the chagasic cardiopathy. In this study, we evaluated 95 patients from the State of Para, 36 from counties of Minas Gerais and Goias, and 136 controls patients, from the Federal District, Brazil. The electrocardiogram, ergometric test, 24h recording electrocardiogram, and ecodopplercardiogram were analysed. The statistical analyses, which aimed at the association among the clinical findings with those of the integration of the kDNA at multiple sites at various chromosomes, were carried out. The evaluations of clinical parameters of the heart function showed majority all patients were in the undeterminate phase of the chronic chagasic infection, and no clinical manifestation. This observation explains why, in the absence of statistical differences among the groups of risk-patients, there was no demonstrable association. Therefore, it was not shown any particular *loci* of mutation as a predictive risk-factor for development of the Chagas cardiopathy. The result indicates the benign feature of the chronic chagasic infections, clinically undetermined. However, the findings in the undeterminate phase of the infection do not exclude the hypothesis of possible association of the kDNA mutations with the pathogenesis of the Chagas' heart disease. Long range clinic-epidemiologic studies are necessary to identifying predictive factors of the clinic manifestation of the chronic Chagas disease.

**Key words:** *Trypanosoma cruzi*; Chagas disease; Physiopathology; kDNA mutations; Heart disease.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de vida do <i>T. cruzi</i> . Fonte: Teixeira e cols, 2006.....	27
Figura 2 - Esquema geral da forma epimastigota do <i>T. cruzi</i> mostrando as principais estruturas celulares.....	28
Figura 3 - O DNA mitocondrial: (a) O kDNA é uma rede elíptica composta de maxicírculos e minicírculos (seta); (b) Minicírculos decatenados e único maxicírculo (seta).....	29
Figura 4 - Estrutura de minicírculo de kDNA com regiões conservadas, demonstradas em azul escuro, e regiões variáveis, sinalizadas em azul claro. ...	29
Figura 5 - Cardiomegalia em ave ( <i>Gallus gallus</i> ) portadora de mutação de kDNA no genoma. Note que o coração da ave kDNA-mutada, à esquerda, é 3,6 vezes maior que o coração da ave controle da mesma idade.....	38
Figura 6: Foto por satélite da região do estuário do rio Amazonas onde aparecem os municípios de Breves, no Arquipélago do Marajó, e de Barcarena, à margem direita. As letras A, B, C e D mostram a localização das famílias do estudo. ....	41
Figura 7 - Heredogramas das famílias do Pará: Família A, com 44 indivíduos, família B, com 15 componentes, família C, com 29 membros e família D, com 21 pacientes.....	43
Figura 8: Heredogramas das três famílias de Minas Gerais e Goiás: Família E, com 24 indivíduos, Família F, com 14 participantes e Família G, com 16 voluntários.....	46
Figura 9 - Coleta de sangue na residência das famílias de Barcarena/PA. Fonte: acervo do autor. ....	48
Figura 10: Coleta de sangue nas residências das famílias de Breves/PA. Fonte: acervo do autor. ....	49

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição da amostragem de acordo com a procedência dos participantes.....	58
Tabela 2 – Distribuição da população estudada pelo gênero e procedência. ....	58
Tabela 3 – Distribuição da amostragem de acordo com a localidade e a faixa etária. ....	59
Tabela 4 - Resultados dos testes sorológicos na população do estudo pela procedência.....	60
Tabela 5 - Integração de kDNA do <i>Trypanosoma cruzi</i> na amostragem do estudo, com origem em três localidades.....	60
Tabela 6 - Resultado dos testes de PCR para nDNA de <i>Trypanosoma cruzi</i> nos indivíduos da amostra, conforme a Localidade. ....	61
Tabela 7 – Resumo dos resultados sorológicos, kDNA e nDNA, de acordo com a localidade. ....	62
Tabela 8 - Distribuição dos indivíduos da amostragem nos grupos de acordo com a localidade de origem. ....	63
Tabela 9 - Frequência do Laudo do Eletrocardiograma por Grupo de Risco. ....	63
Tabela 10 - <i>Odds Ratio</i> do Laudo do Eletrocardiograma por Grupo de Risco. ....	64
Tabela 11 – Frequência de alterações do eletrocardiograma por grupo de risco e faixa etária.....	65
Tabela 12- Tipos de alterações do eletrocardiograma distribuídos nos Grupos G1 a G4. ....	65
Tabela 13- Correlação das alterações do eletrocardiograma com as faixas etárias. ....	66
Tabela 14 - Distribuição da frequência dos Bloqueios do Ramo Direito pelos Grupos de Risco. ....	66
Tabela 15 – <i>Odds Ratio</i> da frequência de Bloqueio completo ou incompleto do Ramo Direito distribuída pelos Grupos de Risco.....	67
Tabela 16 - Média e desvio padrão da frequência cardíaca nos Grupos de Risco. ....	67
Tabela 17 - Média e Desvio Padrão do Intervalo PR nos Grupos de Risco. ....	68
Tabela 18 - Média e Desvio Padrão do intervalo QTc nos Grupos de Risco. ....	68
Tabela 19 - Distribuição da frequência do resultado do Teste Ergométrico nos Grupos de Risco. ....	69

Tabela 20 - <i>Odds Ratio</i> da frequência de alterações do Teste Ergométrico nos Grupos de Risco. ....	69
Tabela 21 – Distribuição dos laudos alterados do Teste Ergométrico de acordo com o Grupo de Risco e Faixa Etária. ....	70
Tabela 22 - Média e desvio padrão de VO2 máximo (mL/Kg/min ) nos Grupos de Risco. ....	70
Tabela 23 - Média e Desvio Padrão de MET nos Grupos de Risco. ....	71
Tabela 24 – Valores de média e desvio padrão do VO2MAX (L/min-1) de acordo com os gêneros e faixas etárias distribuídos pelos Grupos de Risco. ....	71
Tabela 25 - Frequência do laudo holter 24h por Grupo de Risco. ....	72
Tabela 26 – <i>Odds Ratio</i> do laudo holter 24h por Grupo de Risco. ....	72
Tabela 27 - Frequência do resultado do Holter por Grupo de Risco e Faixa Etária. ....	73
Tabela 28 – Frequência das alterações observadas no holter 24h. ....	73
Tabela 29 - Média e Desvio Padrão da Densidade das Extrassístoles Supraventriculares Isoladas por Grupo de Risco. ....	74
Tabela 30 - Média e Desvio Padrão da Densidade das Extrassístoles Ventriculares Isoladas por Grupo de Risco. ....	74
Tabela 31 - Média e Desvio Padrão da Densidade das Taquicardias Supraventriculares por Grupo de Risco. ....	75
Tabela 32 - Frequência do resultado do ecodopplercardiograma por Grupo de Risco. ....	75
Tabela 33 – <i>Odds Ratio</i> do ecodopplercardiograma por Grupo de Risco. ....	75
Tabela 34 – Frequência do resultado do Ecodopplercardiograma por Grupo de Risco e por Faixa Etária. ....	76
Tabela 35 - Principais anormalidades encontradas nos laudos do ecodopplercardiograma de acordo com o Grupo de Risco. ....	77
Tabela 36 - Principais anormalidades encontradas nos laudos do ecodopplercardiograma de acordo com a faixa etária. ....	77
Tabela 37 - Média e Desvio Padrão de DDVE por Grupo de Risco. ....	78
Tabela 38 - Média e Desvio Padrão de FEVE por Grupo de Risco. ....	78
Tabela 39 - Associação das mutações de minicírculos de kDNA no eletrocardiograma com Bloqueio do Ramo Direito dos participantes do Pará, Minas Gerais e Goiás. ....	79

Tabela 40 - Associação das mutações de minicírculos de kDNA com outras alterações descritas no Eletrocardiograma dos participantes do Pará, Minas Gerais e Goiás. ....	80
Tabela 41 - Associação das mutações de kDNA com as alterações descritas no Teste Ergométrico das populações do PA e MG/GO.....	80
Tabela 42 - Associação das mutações de minicírculos de kDNA com alterações descritas no Ecodopplercardiograma dos participantes do Pará, Minas Gerais e Goiás.....	81

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADRVE	Alteração Difusa da Repolarização Ventricular Esquerda
AHA	Associação Americana de Cardiologia
AVC	Acidente Vasculares Cerebral
BAV	Bloqueio Átrio Ventricular
BDASE	Bloqueio Divisional Ântero-Superior Esquerdo
BRD	Bloqueio do Ramo Direito
BS	Bradicardia Sinusal
CCC	Cardiopatia Chagásica Crônica
DDVE	Diâmetro Diastólico do Ventrículo esquerdo
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ECGAR	Eletrocardiograma de Alta Resolução
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
ESV	Extrassístole Supraventricular
EV	Extrassístole Ventricular
FA	Fibrilação Atrial
FC	Frequência Cardíaca
FEVE	Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo
FHCGV	Fundação Hospital de Clínicas Gaspar Vianna
GT Chagas	Grupo de Trabalho em Doença de Chagas
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IEC	Instituto Evandro Chagas
IFI	Imunofluorescência Indireta
MET	Equivalente Metabólico
NYHA	Associação de Cardiologia de Nova York
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PECdCh	Programa Estadual de Controle da doença de Chagas
PR	Intervalo PR
QTc	Intervalo QT corrigido
RNA	Ácido Ribonucleico
RP	Repolarização Precoce
rRNAs	Ácido Ribonucleico Ribossomal



SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
SBP	Sociedade Brasileira de Pediatria
SESPA	Secretaria de Estado de Saúde Pública do Pará
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TE	Teste Ergométrico
TGL	Transferência Gênica Lateral
TGV	Transferência Gênica Vertical
TS	Taquicardia Sinusal
TSVS	Taquicardia Supraventricular Sustentada
TV	Taquicardia Ventricular
TVNS	Taquicardia Ventricular Não Sustentada
TVS	Taquicardia Ventricular Sustentada
VO2m	Consumo máximo de oxigênio durante o exercício dinâmico
WPW	Síndrome Wolf Parkinson White

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	21
1.1 Conceito .....	21
1.2 Histórico .....	21
1.3 Epidemiologia.....	21
1.3.1 Distribuição demográfica.....	21
1.3.2 Vias de Transmissão.....	23
1.4 Agente etiológico.....	26
1.4.1 Ciclo de vida do <i>T. cruzi</i> .....	26
1.4.2 Organização gênica do <i>T. cruzi</i> .....	27
1.5 Apresentação Clínica .....	29
1.6 Mortalidade .....	32
1.7 Patogenia e Anatomia Patológica .....	32
1.8 Diagnóstico .....	34
1.9 Tratamento.....	36
1.10 JUSTIFICATIVA .....	36
2 OBJETIVOS .....	39
2.1 Objetivo geral .....	39
2.2 Objetivos específicos .....	39
3 CASUÍSTICA E MÉTODOS .....	40
3.1 Tipo de Estudo .....	40
3.2 População: tamanho e composição da amostra .....	40
3.3 Locais do estudo .....	47
3.4 Definição dos grupos de estudo: Critérios de Inclusão e Critérios de Exclusão .....	49
3.4.1- Critérios de Inclusão .....	49
3.4.2 - Critérios de Exclusão .....	50
3.5 Coleta e manipulação de sangue e de esperma humano .....	51
3.6 Exames laboratoriais.....	51
3.7 Variáveis clínicas estudadas .....	54
3.7.1- Anamnese e exame físico.....	54
3.7.2- Exames complementares cardiológicos.....	54

3.7.2.1-Eletrocardiograma de repouso (ECG).....	54
3.7.2.2- Eletrocardiograma dinâmico de 24 horas (holter) .....	54
3.7.2.3- Eletrocardiograma de esforço em esteira (Teste ergométrico) .....	55
3.7.2.4- Ecodopplercardiograma .....	56
3.7.2.5- Radiografia de tórax.....	57
3.8 Análise Estatística .....	57
4 RESULTADOS.....	58
6 DISCUSSÃO .....	83
7 CONCLUSÃO .....	102
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	103
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Famílias Pará)..	118
APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do DF. ....	119
APÊNDICE C – Questionário clínico-epidemiológico.....	120
APÊNDICE D – Legendas de exames cardiovasculares. ....	125
APÊNDICE E - Associação das mutações de kDNA de <i>T. cruzi</i> ao BRD. ....	126
APÊNDICE F - Associação das mutações de kDNA de <i>T. cruzi</i> a alterações do Eletrocardiograma na amostragem PA. ....	127
APÊNDICE G - Associação das mutações de kDNA às alterações observadas no ECG da amostragem MG/GO. ....	128
APÊNDICE H - Associação das mutações de kDNA às alterações encontradas no Teste Ergométrico (TE) das amostragens do PA e MG/GO. ....	129
APÊNDICE I - Associação das mutações de kDNA às alterações encontradas no Ecodopplercardiograma da amostragem PA. ....	130
APÊNDICE J - Associação das mutações de kDNA às alterações encontradas no ecodopplercardiograma da amostragem MG/GO. ....	132
APÊNDICE K – Relação entre as arritmias encontradas nos laudos do holter 24h com os Grupos de Risco da amostragem PA e MG/GO.....	133
APÊNDICE L – Associação das mutações de kDNA com as alterações descritas nos laudos do Eletrocardiograma e com os Grupos de Risco nas populações do PA e MG/GO.....	136
APÊNDICE M - Associação das mutações de kDNA com as alterações descritas no Teste Ergométrico das populações do PA e MG/GO e relacionadas aos Grupos de Risco. ....	137

APÊNDICE N - Associação das mutações de kDNA com as alterações descritas no Ecodopplercardiograma das populações do PA e MG/GO e relacionadas aos Grupos de Risco. ....	138
ANEXO A – Folha de aprovação do Comitê de Ética do HCGV. ....	139
ANEXO B – Folha de Rosto da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. ....	140
ANEXO C - SINAN.....	141

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Conceito

A Tripanossomíase Americana é a antropozoonose resultante da infecção de animais silvestres de várias classes de mamíferos pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*. A infecção é transmitida aos hospedeiros mamíferos pelos triatomíneos hematófagos conhecidos como “barbeiro, fincão, chupança e bicudo”, conforme a localização geográfica (Rassi, 2010).

## 1.2 Histórico

A Tripanossomíase Americana foi identificada em 1909 pelo médico brasileiro e sanitarista, Dr. Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas, o qual descreveu o agente etiológico (*Schizotrypanum cruzi*), o vetor (*Panstrongylus megistus*) e a infecção aguda em humanos (Chagas, 1909). Em seguida, Dr. Carlos Chagas descreveu casos da doença crônica e sua epidemiologia e por sugestão de Miguel Couto, a nova entidade ficou conhecida como doença de Chagas, em homenagem ao grande cientista brasileiro (Rocha, 2009).

## 1.3 Epidemiologia

### 1.3.1 Distribuição demográfica

Estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) sugerem que existam cerca de 12 a 14 milhões de pessoas infectadas pelo *T. cruzi* e 70 milhões de indivíduos sob a ameaça de contraírem a infecção (Salvatella, 2007). Porém, a mesma OMS publicou estimativa de 18 milhões de chagásicos na América Latina e cerca de 300 milhões expostos à aquisição da infecção (WHO, 2002). As diferenças encontradas na literatura seriam explicadas pela inexistência de inquéritos sorológicos amplos visando determinar a prevalência da Tripanossomíase Americana na maioria dos países da região. Talvez, as diferenças metodológicas empregadas nos inquéritos expliquem as estimativas díspares sobre a abrangência dessa grande endemia. Ademais, se considerarmos que a população da América Latina duplicou nos últimos trinta anos, as estimativas recentes já não representariam a realidade de hoje, visto que apenas uma espécie (*Triatoma*

*infestans*) transmissora do *T. cruzi* teria sido desalojada dos domicílios humanos, nos ecossistemas secos Caatinga e Cerrado, no Brasil (Teixeira e cols, 2009).

A distribuição geográfica clássica da Tripanossomíase Americana está concentrada principalmente nos países do Cone Sul da América Latina, ou seja, Brasil, Uruguai, Paraguai, Argentina e Chile, mas se estende inclusive a outros países da América do Sul, como Venezuela, Colômbia e Peru, além dos Estados Unidos da América, onde alguns casos autóctones da infecção já foram detectados (Bern e cols, 2007). Nas últimas décadas, as migrações de Latino-Americanos para os países dos cinco continentes fizeram-nas presentes também na Europa, Oceania e na Ásia (Navarro e cols, 2012; Angheben e cols, 2011). Ainda que não haja dados de inquérito epidemiológico com metodologia reconhecida de diagnóstico das infecções pelo *T. cruzi*, estima-se que existam no Brasil cerca de dois a três milhões de infectados crônicos (Moncayo & Silveira, 2009; WHO, 2010; Coura & Viñas, 2010; Silveira & Dias, 2011).

Outrora, a Amazônia era considerada região não endêmica, de acordo com os achados do primeiro Inquérito Sorológico Chagásico Nacional, em 1978, cuja prevalência de infecção pelo *T. cruzi* era de 5% (Camargo e cols, 1984). Entretanto, a partir dos primeiros casos clínicos descritos por Shaw e cols, em 1969, muitos outros casos agudos foram diagnosticados, geralmente em caráter de microepidemias familiares e/ou vicinais, com riqueza de sintomas característicos da fase aguda, os quais foram acompanhados desde então pelos pesquisadores da Seção de Parasitologia do Instituto Evandro Chagas (IEC), em Belém, Pará (Valente e cols, 1992, 1999; Pinto e cols, 2001, 2004).

Em virtude do crescente aumento de casos agudos diagnosticados no Pará, a Secretaria de Estado de Saúde Pública do Pará (SESPA) instituiu em abril de 2006 o Programa Estadual de Controle da doença de Chagas (PECdCh), gerenciado pelo Grupo de Trabalho em doença de Chagas (GT-Chagas), membro da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). Em 2007, o Estado do Pará e o Ministério da Saúde definiram o Plano de Intensificação das ações de Controle da doença de Chagas, com a Fundação Hospital de Clínicas Gaspar Vianna (FHCGV) fazendo parte da equipe de elaboração do Plano.

Com o recurso de captação de dados clínico-epidemiológicos por meio da utilização do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), legislado pela portaria de notificação compulsória e imediata do Ministério da Saúde (BRASIL, 2004) desde a instituição do Programa até o momento houve registro de 1.046 casos agudos notificados, com média de 130 casos ao ano (SESPA, 2013).

### 1.3.2 Vias de Transmissão

A doença de Chagas pode ser adquirida por via vetorial, pela via congênita da mãe para o feto ou durante o parto natural, pela transfusão de sangue e/ou transplante de órgãos, por contato com material orgânico contaminado e, acidentalmente, em hospitais e laboratórios de pesquisa.

A transmissão vetorial é feita por insetos da ordem Hemiptera, subordem Heteroptera, família Reduviidae, subfamília Triatominae. Os triatomíneos têm hábitos noturnos e se alimentam exclusivamente de sangue durante todos os estádios evolutivos – ninfas I, II, III, IV, V e adultos fêmea e macho (Argolo e cols, 2008). A ação predatória antrópica, que produz degradação do meio ambiente, dizima mamíferos silvestres, aves e faz com que os triatomíneos busquem o repasto de sangue no interior das casas, onde a oferta de alimento é abundante. Em ecossistemas degradados, algumas espécies de triatomíneos formam colônias no intradomicílio. Nessas condições, colônias formadas por vários estágios de ninfas e insetos adultos são encontrados sob os colchões das camas, nas frestas das paredes das casas de “pau a pique”, geralmente em refúgios escuros que ofereçam proteção durante o dia (Dias, 2000).

Com a intensificação das ações do governo ao combate vetorial a partir da década de sessenta, por meio de rociamento com inseticidas, nos arredores e interiores das residências, foi possível desalojar o *Triatoma infestans* das choupanas de moradores nos ecossistemas secos, Cerrado e Caatinga. A transmissão vetorial nesses ecossistemas foi reduzida espetacularmente (Luquetti, 2011). Devido a esta ação de combate ao principal vetor domiciliado do *T. cruzi*, em 2006, o Ministério da Saúde e a OMS passaram a emitir o certificado internacional de erradicação vetorial do principal triatomíneo disseminador da doença, o *T. infestans* (Ferreira & Silva, 2006).

Não obstante a emissão de certificados, ainda existe cerca de quarenta espécies de triatomíneos reconhecidamente vetores potenciais do *T. cruzi*. Ademais, são descritas regiões onde o *T. infestans* também continua colonizando domicílios, conforme notícia série de reportagens de jornalismo investigativo qualificado (Sassine, 2012).

Na Amazônia, embora haja grande diversidade de espécies de insetos vetores e hospedeiros silvestres permissivos ao *T. cruzi*, as observações a respeito dos hábitos de triatomíneos nos domicílios da região mostram que ainda não há registros de colonização das residências por triatomíneos. Geralmente, as espécies de vetores encontrados no interior das habitações humanas são adultos machos e fêmeas que voltam aos seus habitats naturais depois da obtenção do repasto de sangue humano (Valente e cols, 1999).

Por outro lado, a possibilidade de domiciliação de triatomíneos nas habitações humanas na Amazônia não pode ser descartada, pois já foram encontradas colônias de *P. geniculatus* no peridomicílio, em chiqueiros, de casas da cidade de Muaná – PA (Valente e cols, 1999). Relatos explicam porque as espécies de triatomíneos na Amazônia não domiciliam com a presteza do *T. infestans*. Em Acuquaiá, município de Barcelos, *Rhodnius brethesi* ataca colhedores de piaçava (*Leopoldinia piaçaba*) sob a luz do sol a pino. A voracidade dessas espécies explicaria seus hábitos exclusivamente silvestres, ainda que a transmissão da infecção possa ser potenciada pelo desequilíbrio ecológico (Coura e cols, 1994).

Segundo Miles (1976) as principais espécies de triatomíneos encontradas na Amazônia são *R. pictipes*, *R. robustus*, *P. geniculatus*, *P. lignarius*, *P. rufotuberculatus*, *Eratyrus mucronatus*, *M. trinidadensis*, *Belminus herreri*, e a espécie *Rhodnius paraensis*, a qual foi descrita por Sherlock e cols (1977). Jansen e cols (1999) identificaram 16 espécies de triatomíneos da Amazônia infectados pelo *T. cruzi* e Noireau e cols (2002) sugeriram que pelo menos 11 dessas espécies dos gêneros *Triatoma*, *Rhodnius* e *Panstrongylus* teriam importância epidemiológica no ciclo da doença, cujo habitat preferencial são as palmeiras.

A transmissão do *T. cruzi* por via oral resulta da ingestão acidental de alimentos contaminados com excreta de triatomíneos, sangue e secreções de animais infectados, mas não se descarta a possibilidade de trituração de



triatomíneos contaminados durante o preparo de alimentos (Valente e cols, 1999). A abordagem puramente epidemiológica sugere que transmissão oral de *T. cruzi* explicaria as epidemias da doença, quando dois ou mais indivíduos adoecem simultaneamente no mesmo local, na mesma família (BRASIL, 2005a, 2007).

No Brasil, já foram descritos vários surtos epidêmicos, com manifestação da fase aguda da doença por contaminação de diferentes fontes alimentares (Shaw e cols, 1969; Silva e cols, 1968; Shikanay-Yasuda, 1987; Valente e cols, 1999; SVS, 2007; SESPA, 2013). A possibilidade de transmissão oral do *T. cruzi* pelo aleitamento materno de mães com a infecção chagásica aguda pode ocorrer, embora tenha que ser descartada a transmissão congênita do recém-nascido (Pinto e cols, 2011).

Apesar da barreira placentária, a transmissão congênita do *T. cruzi* pode ocorrer em qualquer período da gestação, independente da fase da doença, ou seja, em até 71% na infecção aguda e 1,6% na fase crônica (Torrico e cols, 2005). Em geral, o conceito adquire a infecção entre a vigésima segunda e a trigésima sétima semanas da gestação (Moretti e cols, 2005). O recém-nascido, quando infectado, pode adquirir formas graves com envolvimento cerebral (Pinto e cols, 2011).

No Brasil, em 1950, a prevalência média de sorologia positiva para *T. cruzi* entre os doadores de sangue era de 8,3%. Porém, nas décadas de sessenta e setenta, a referida soroprevalência nos hemocentros caiu para 6,9% e no final de 1980 atingiu 3,2% dos doadores de homoderivados (Dias, 2006). Registros da OMS de 2006 demonstram queda de 78% nos índices de infecção, ou seja, frequência de 1,3% de infecção por hemotransfusão em toda América Latina (Moraes-Souza & Silva-Ferreira, 2011).

Por outro lado, os métodos imunológicos utilizados para a triagem em bancos de sangue e de transplantes de órgãos, apesar de sensibilidade em torno de 96%, não alcançam todos os casos positivos para *T. cruzi* que podem ser revelados pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), cuja sensibilidade é próxima a 100% (BRASIL, 2005b).

Outras formas acidentais de transmissão ocorrem em manipuladores de material orgânico ou fômites contaminados, como trabalhadores de laboratórios,

hospitais, centros cirúrgicos e no preparo de alimentos como carne de animais silvestres (BRASIL, 2005a, 2007).

#### **1.4 Agente etiológico**

O agente etiológico da doença de Chagas é um protozoário flagelado pertencente ao sub-reino Protozoa, filo Sarcomastigophora, subfilo Mastigophora, classe Zoomastigophora, ordem Kinetoplastida, subordem Tripanosomatina, família Trypanosomatidae, gênero *Trypanosoma*, espécie *Trypanosoma cruzi* (Souza, 2000). É considerada uma espécie digenética por apresentar desenvolvimento biológico em dois tipos de hospedeiros diferentes, um vertebrado e outro invertebrado. Os hospedeiros vertebrados são os mamíferos, incluindo o homem, e os invertebrados são os triatomíneos, que são insetos hematófagos. Cada ciclo de vida possui características peculiares relacionadas à melhor adaptação do parasito ao meio, de forma a assegurar sua sobrevivência (Lana & Tafuri, 2000).

##### **1.4.1 Ciclo de vida do *T. cruzi***

O ciclo de vida no triatomíneo inicia-se quando o mesmo ingere formas tripomastigotas presentes na circulação sanguínea dos hospedeiros vertebrados. Essas formas se diferenciam em epimastigotas, que são replicativas, e ficam situadas no intestino médio do vetor. Ao alcançarem o intestino terminal do inseto, diferenciam-se em tripomastigotas metacíclicos, que são formas infectivas, e são eliminadas juntamente com as fezes do inseto no momento do repasto sanguíneo (Souza, 2009).

Após a penetração da forma tripomastigota metacíclica, eliminada na pele ou mucosa do hospedeiro juntamente com as fezes do triatomíneo, inicia-se o ciclo no mamífero (Kollien & Schaud, 2000). O hematofagismo realizado pelo vetor provoca reação inflamatória que evoca coceira. O protozoário eliminado na excreta do inseto contamina a abrasão infligida na pele, e os flagelados invadem as células fagocíticas no tecido subcutâneo. Alguns dos flagelados invasores podem ser destruídos, porém muitos conseguem escapar da fagocitose e se multiplicar no citoplasma da célula hospedeira. Outros conseguem alcançar os capilares sanguíneos e se disseminar por todo o organismo, provocando reação inflamatória associada com a produção de interleucinas, citocinas e imunoglobulinas (Teixeira, 2006).

O *T. cruzi* invade tecidos do sistema fagocítico mononuclear, hematopoiético, conjuntivo, muscular, nervoso e reprodutivo. Ao invadir células diferenciam-se em formas arredondadas denominadas amastigotas. As amastigotas intracelulares multiplicam-se e formam ninhos. Quando os ninhos rompem a membrana celular, ocorre reação inflamatória no tecido e as formas amastigotas transformam-se em tripomastigotas que, com flagelo diferenciado, alcançam a corrente sanguínea, reiniciando o parasitismo em regiões distantes do corpo. O inseto vetor, no momento de um novo repasto sanguíneo, adquire as formas circulantes e o ciclo de vida do *T. cruzi* no triatomíneo é reiniciado (Tyler & Engman, 2001).

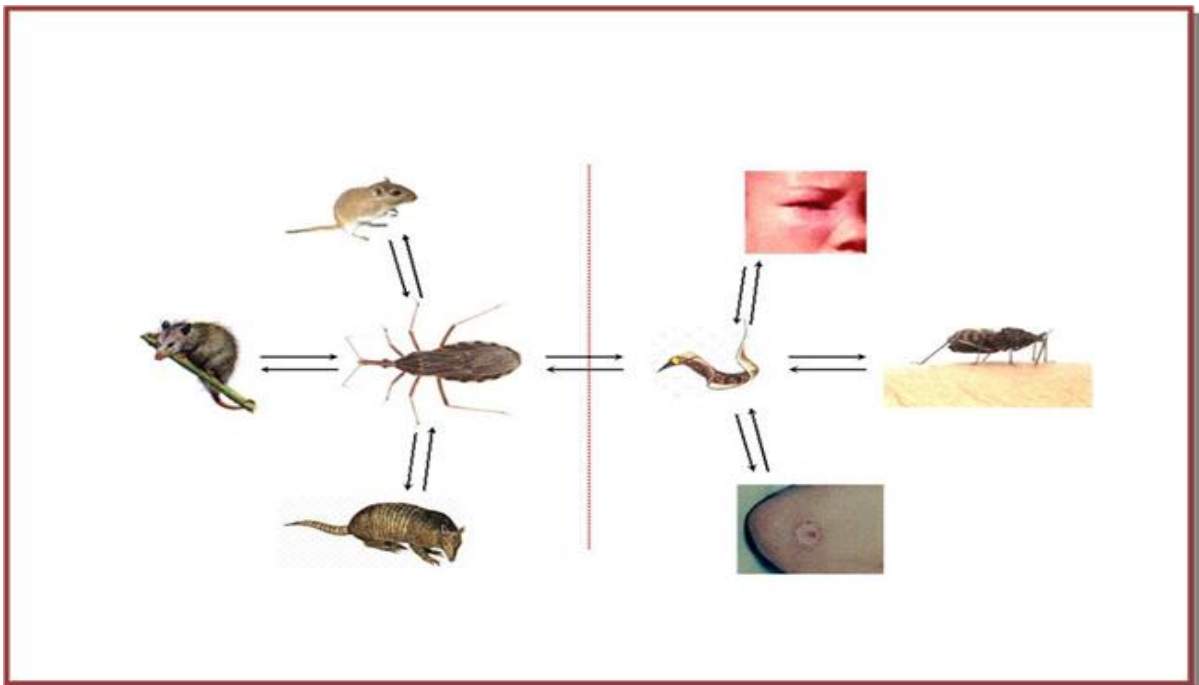


Figura 1 - Ciclo de vida do *T. cruzi*. Fonte: Teixeira e cols, 2006.

#### 1.4.2 Organização gênica do *T. cruzi*

Ultraestruturalmente, o *T. cruzi* possui duas organelas contendo o ácido desoxirribonucleico (DNA): o DNA próprio da célula eucarionte, denominado DNA nuclear (nDNA) e o DNA mitocondrial ou do cinetoplasto denominado kDNA e característico de tripanossomatídeos da ordem kinetoplastida. O kDNA é o material genético encontrado na mitocôndria do parasito, posicionada adjacente ao corpo basal do flagelo (Figura 2). O cinetoplasto é constituído por uma dúzia de maxicírculos (20 a 40 kb) e por milhares de minicírculos (1.4 kb) catenados em uma

rede complexa (figura 3), totalizando 10 a 15% do DNA total da célula e tem sido usado para identificação de subgrupos de populações de *T. cruzi* (Sturm & Teixeira, 2007).

Os maxicírculos são funcionalmente análogos ao DNA mitocondrial em eucariontes que codificam ácidos ribonucleicos ribossomais (rRNAs) e subunidades de ácido ribonucleico (RNA) e genes envolvidos com a fosforilação oxidativa (Souza, 2009). No *T. cruzi*, observa-se a presença de quatro regiões conservadas (120-160 pb) intercaladas por quatro regiões variáveis (240 pb). Os minicírculos codificam RNAs guias que auxiliam na editoração dos RNAs mensageiros (figura 4) dos maxicírculos mitocondriais (Junqueira e cols, 2005).

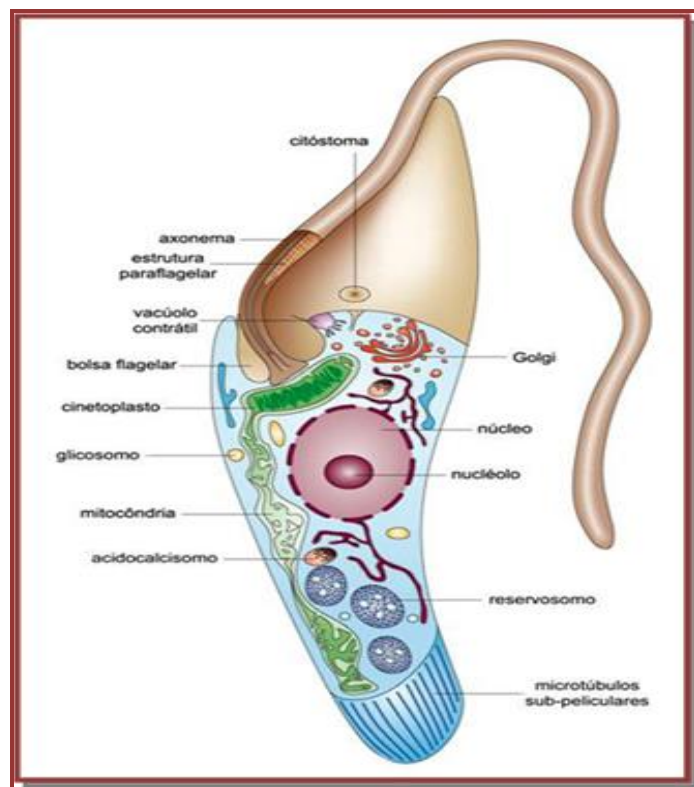


Figura 2 - Esquema geral da forma epimastigota do *T. cruzi* mostrando as principais estruturas celulares. Fonte: Docampo e cols, 2005.

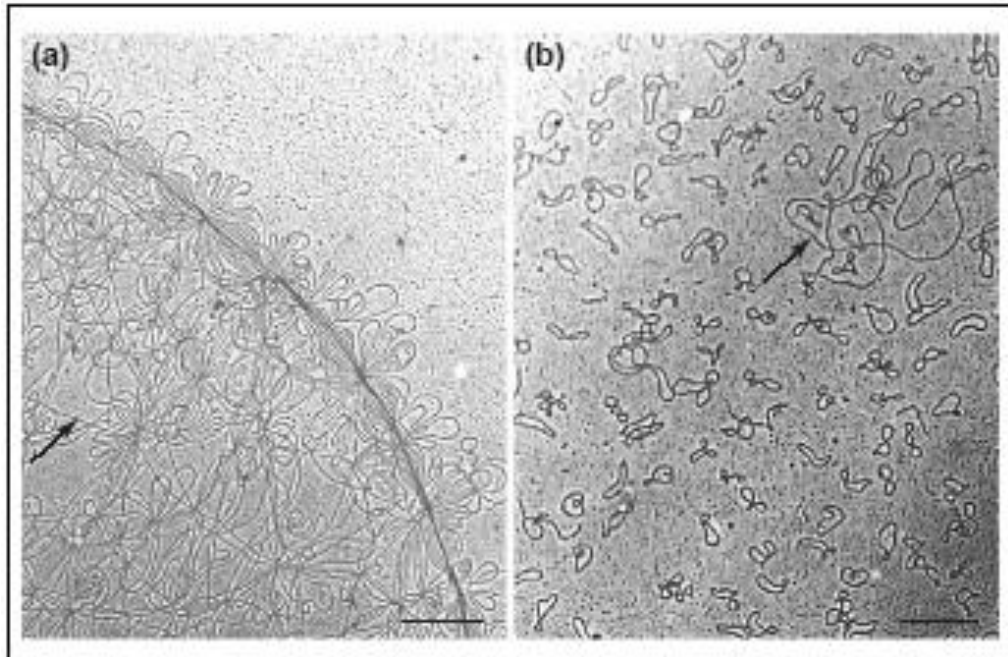


Figura 3 - O DNA mitocondrial: (a) O kDNA é uma rede elíptica composta de maxicírculos e minicírculos (seta); (b) Minicírculos decatenados e único maxicírculo (seta). Fonte: Liu e cols, 2005.

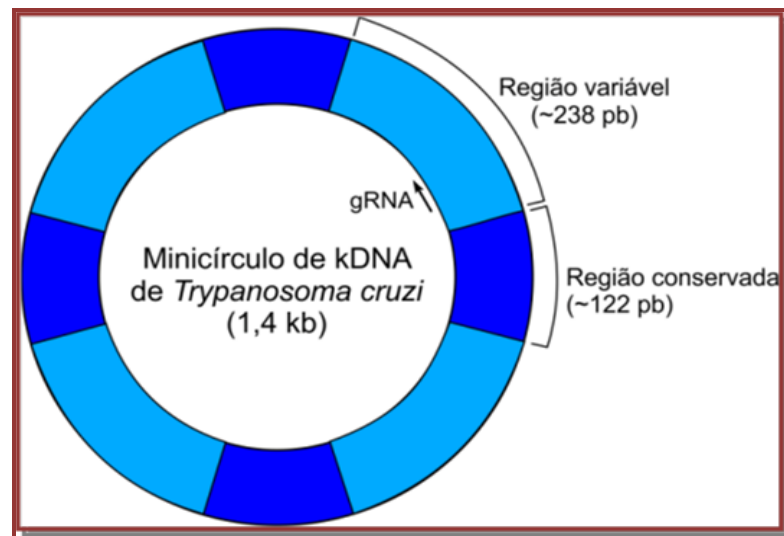


Figura 4 - Estrutura de minicírculo de kDNA com regiões conservadas, demonstradas em azul escuro, e regiões variáveis, sinalizadas em azul claro. Fonte: Junqueira e cols, 2005.

### 1.5 Apresentação Clínica

A infecção chagásica manifesta-se clinicamente em duas fases distintas: aguda e crônica. A fase aguda, cuja duração é de aproximadamente 120 dias, é caracterizada pela elevada carga parasitária e descrita pela maioria dos autores como silenciosa ou oligossintomática, com sintomatologia expressa em torno de 5% dos casos (Rassi Jr e cols, 2010).

Na fase aguda, observam-se sinais de porta de entrada do parasito, dependendo da localização, ou seja, na pele o denominado chagoma de inoculação e na mucosa conjuntival, o sinal de Romaña. O chagoma é caracterizado por lesão endurecida resultante de reação de hipersensibilidade tardia aos antígenos do *T. cruzi*, com hiperpigmentação, descamação da queratina e ingurgitamento ganglionar satélite. Por outro lado, o sinal de Romaña é descrito como edema bipalpebral unilateral, resultante de reação inflamatória local com adenopatia adjacente (Teixeira e cols, 1995). Nesta fase são encontrados tripomastigotas circulando no sangue, linfa e líquido, e as formas amastigotas agrupadas em ninhos no interior das fibras musculares lisas, estriadas e/ou cardíacas. Os parasitos podem ser encontrados em qualquer tecido, inclusive no interior de gonioblastos em tubos seminíferos e em células da teca dos ovários (Teixeira e cols, 1970).

Na Amazônia tem sido descritos casos agudos com sinais e sintomas clínicos exuberantes. Na maioria das vezes não se encontra sinal de porta de entrada do parasito e cursa com sintomatologia de síndrome febril, com febre prolongada, em torno de 20 a 30 dias de duração (Coura e cols., 2002; Dias e cols., 2002). Alguns casos apresentam evolução desfavorável com miocardite grave e fatal (Albajar e cols, 2003; Borborema e cols, 2004; Pinto e cols, 2001; Pinto e cols, 2004). Também pode ocorrer meningoencefalite em imunocompetentes (Lacerda e cols, 2004) e, ocasionalmente, sintomas digestivos simulando pancreatite e hepatite com manifestação de icterícia, alteração nas transaminases, hemorragia digestiva e distensão abdominal de evolução fatal (Pinto e cols, 2004).

A fase crônica é diferenciada em forma indeterminada, cuja manifestação clínica é silenciosa, com duração em média de 20 a 30 anos e forma crônica determinada, com manifestação clínica estabelecida. Na forma indeterminada, ocorre diminuição substancial da parasitemia e da intensidade dos processos inflamatórios, que se tornam focais e esparsos, sem prejuízo aos órgãos onde o *T. cruzi* possui tropismo (Pereira & Távora, 1996). Esta fase da doença é caracterizada pela ausência de sinais e sintomas, porém com positividade ao *T. cruzi* em exames sorológicos e /ou parasitológicos. Cerca de 20% a 50% dos casos podem apresentar alguma disfunção, como presença discreta de arritmias e insuficiência cardíaca incipiente (Ianni e cols, 2001; Rassi Jr. e cols, 2010). Esses pacientes podem evoluir

em até 30% a 40% para manifestação de disfunção cardíaca, entretanto, os demais, em geral, vivem sem restrições físicas (Marin-Neto e cols, 2002).

A doença de Chagas crônica determinada manifesta-se clinicamente entre os 30 a 45 anos de idade, e a cardiopatia ocorre em até 94,5% dos casos. Megaesôfago e megacólon são observados em 5% a 10% dos chagásicos crônicos (Rezende & Moreira, 2000; Prata, 2001).

A miocardiopatia chagásica crônica pode se agravar em três situações clínicas: insuficiência cardíaca, arritmias cardíacas e fenômenos tromboembólicos. A insuficiência cardíaca é manifestada por sintomas de intolerância aos esforços, como dispnéia, sudorese fria, edema, tontura e palidez de mucosas, que refletem a ineficiência muscular cardíaca em proporcionar débito cardíaco suficiente para a irrigação sanguínea aos órgãos e tecidos. O coração pode adquirir grandes dimensões e a cardiomegalia propicia o acúmulo de sangue no interior de aurículas e ventrículos com a tendência à formação de coágulos e trombos (Almeida e cols, 2004; Viotti e cols, 2005). O deslocamento desses trombos e coágulos para a circulação sistêmica caracteriza a doença tromboembólica, com subsequente interrupção do fluxo sanguíneo e isquemia seguida de necrose, clinicamente reconhecidas principalmente como acidentes vasculares encefálicos, doença arterial periférica aguda e isquemia mesentérica (Rassi Jr. e cols, 2010).

As arritmias caracterizam-se pelas anormalidades no ritmo cardíaco desde simples batimentos ectópicos ventriculares até taquiarritmias fatais, como taquicardia paroxística e fibrilação ventriculares, produzindo elevada taxa de morte súbita na doença de Chagas (Rassi Jr. e cols, 2001). O diagnóstico de doença arritmogênica na cardiopatia chagásica piora o prognóstico, haja vista que a ocorrência de arritmias graves pode acometer corações de tamanho normal e em pessoas previamente assintomáticas, sob o aspecto cardiovascular (Rassi Jr. e cols, 2001).

Os órgãos digestivos mais atingidos na fase crônica da doença são o esôfago e o cólon. Na doença esofágica, a maioria está concentrada em pessoas na faixa etária de 30 a 40 anos, embora presente também em jovens e em idosos. O órgão torna-se dilatado, com segmentos estreitados, com prejuízo aos movimentos peristálticos, gerando queixas de disfagia, odinofagia, epigastralgia, regurgitações, soluços e sialorréia, devido ao aumento no volume das glândulas salivares. Com a

evolução do agravo, as pessoas podem se tornar desnutridas e caquéticas (Bittencourt e cols, 1984; Rezende & Moreira, 2000). O megacólon geralmente acomete indivíduos mais idosos. O diâmetro do órgão aumenta gradativamente, acompanhado de hipertrofia das paredes, usualmente do cólon sigmoide e do reto. A ampola fecal torna-se dilatada e semi-obstruída ou obstruída pelas fezes ressecadas. O indivíduo sofre de desconforto com dores abdominais e desnutrição, podendo falecer devido à ruptura, ulceração ou torção da víscera (Pinheiro e cols, 2003).

### **1.6 Mortalidade**

Caracterizada como a enfermidade infecciosa endêmica mais letal do mundo ocidental, a doença de Chagas possui elevada mortalidade (Cubillos-Garzon e cols., 2004). Na fase aguda da doença, em geral, a causa de óbito é relacionada à insuficiência cardíaca e meningoencefalite ou broncopneumonia nos infectados imunodeprimidos (Teixeira e cols, 1978. Teixeira e cols, 2007). Entretanto, na Amazônia tem-se observado muitos casos graves com evolução fatal na fase aguda, em imunocompetentes (Albajar e cols, 2003; Borborema e cols, 2004; Lacerda e cols, 2004), sugerindo que existam muitos casos agudos, além dos descritos, sem sintomatologia clínica.

Em estudo clínico epidemiológico de chagásicos crônicos, 58% das mortes foram atribuídas à insuficiência cardíaca e 37,5% à morte súbita (Prata, 2000). As principais causas de óbito neste grupo de pacientes foram morte súbita, decorrente de taquiarritmias ventriculares e bloqueios átrios-ventriculares avançados, falência terminal do miocárdio, acidentes tromboembólicos e por septicemia, conseqüente à ruptura ou torção de megacólon (Rassi Jr e cols, 2001; 2006; 2007).

### **1.7 Patogenia e Anatomia Patológica**

Desafios cada vez mais instigantes a respeito de elucidações sobre a patogenia da doença de Chagas vêm despertando interesses variados e em especial na área da genética. As primeiras teorias a respeito dos mecanismos patogênicos datam de 1911, quando os cortes histológicos de indivíduos da fase aguda exibiam ninhos de amastigotas nos tecidos. Estabeleceu-se assim a teoria da persistência do parasito (Vianna, 1911), produzindo ação mecânica e ruptura da célula hospedeira, onde a inflamação tinha o papel de remoção dos detritos.



Entretanto, essa teoria não foi capaz de explicar as lesões sem parasitismo observadas usualmente na doença crônica. Postulou-se, então, a teoria da autoimunidade baseada na destruição acelerada de células cardíacas alogênicas não parasitadas de embrião de coelho pelos linfócitos do sistema imune do animal chagásico (Santos-Buch & Teixeira, 1974). Vários outros autores demonstraram o agravamento autoimune do coração pelos linfócitos citotóxicos do sistema imune do chagásico (Kierszenbaum, 1999; Cunha-Neto e cols, 1995; Gironès e cols, 2001).

Na histopatologia do indivíduo portador da infecção chagásica, os danos teciduais não têm relação direta com os ninhos do parasita, cuja destruição celular é resultante da ação das células do sistema de defesa. Em todos os casos de cardiopatia chagásica, o achado principal é a “unidade mínima de rejeição”, ou seja, rejeição da célula cardíaca não-parasitada pelos linfócitos citotóxicos que lisam células alvo nas lesões em chagásicos (Teixeira e cols, 2011).

Na forma indeterminada, a quantidade de parasitas circulantes diminui drasticamente, as lesões teciduais são raras, e a infecção crônica cursa na ausência de sintomas. No tubo digestivo, podem ser encontradas lesões nos gânglios parassimpáticos dos plexos de Auerbach e de Meissner (Pinheiro, 2003). Embora não sejam encontradas lesões macroscópicas, a biopsia do ventrículo direito mostra processos patológicos focais aleatórios no miocárdio (Mady, 1982).

Na forma crônica cardíaca, o coração pode atingir grandes dimensões, com peso em torno de  $540 \pm 90$  gramas, decorrente da dilatação das câmaras, hipertrofia, fibrose e edema. A miocardite crônica é o resultado da confluência de várias “unidades mínimas de rejeição”, embora entremeadas de áreas livres da inflamação. Células inflamatórias também podem infiltrar miofibrilas especializadas na condução elétrica cardíaca. As fibras miocárdicas destruídas são substituídas por tecido fibroso, inerte e ineficiente e a presença de dilatação e afinamento da ponta do ventrículo esquerdo é frequente e característica da doença de Chagas, embora não seja patognomônica (Teixeira e cols, 2007).

A destruição neuronal em gânglios simpáticos e parassimpáticos pode ser observada no coração e parassimpáticos nos órgãos digestivos, provocando desnervação autonômica progressiva e prejuízo na cinesia desses órgãos, tornando-os dilatados, com áreas de hipertrofia e acalásia (Adad e cols, 1991).

## 1.8 Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial da infecção chagásica é feito pelos métodos parasitológicos, imunológicos e moleculares. Segundo orientação do último Consenso Brasileiro de doença de Chagas, a confirmação sorológica deve ser obtida pelo resultado positivo de pelo menos dois métodos sorológicos com princípios diferentes. É recomendada a combinação de um teste de elevada sensibilidade, ou seja, *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) com antígeno total ou Imunofluorescência Indireta (IFI) combinados com exames de elevada especificidade (Brasil, 2005b).

Na fase aguda, quando a carga parasitária é elevada e podem ser observadas formas tripomastigotas no sangue, os exames parasitológicos são os preferidos, especialmente os feitos a fresco e os métodos de hemoconcentração, os quais exibem elevada especificidade. Entretanto, na fase crônica da doença, a parasitemia diminui consideravelmente, sendo necessária a utilização de técnicas de hemocultura e xenodiagnóstico para visualizar formas epimastigotas, com sensibilidade diagnóstica variada, dependendo da metodologia empregada (Pineda e cols, 1998).

A PCR, com sensibilidade de 98% ou mais na maioria dos estudos, ainda está restrita a laboratórios de pesquisa devido ao seu custo elevado, entretanto é indicada quando testes imunológicos obtêm resultados duvidosos, assim como para o controle de cura após tratamento específico e no diagnóstico da infecção por *T. cruzi* em áreas onde coexista o *T. rangeli* (Brasil, 2005b).

A avaliação cardiovascular é essencial à classificação clínica e definição do prognóstico do portador da infecção por *T. cruzi*. Exames como o eletrocardiograma e a radiografia torácica são mais acessíveis, entretanto são necessárias investigações minuciosas com o ecodopplercardiograma, eletrocardiograma dinâmico de 24 h (holter 24 h) e teste ergométrico para o diagnóstico de lesões despercebidas em todas as fases da doença (Andrade & Andrade, 1994; Ianni e cols, 2001; Acquatella, 2007).

Na fase aguda, mesmo na ausência de sintomas, sinais sugestivos de miocardite podem ser percebidos no eletrocardiograma, tais como taquicardia sinusal e alteração difusa da repolarização ventricular. No agravamento da infecção, a

radiografia de tórax revela grande cardiomegalia que pode estar acompanhada de congestão pulmonar e derrame pleural (Albajar e cols, 2003; Pinto e cols, 2001). Quando a investigação é complementada com os achados do ecodopplercardiograma e do holter 24 h, podem ser observadas arritmias como fibrilação atrial e efusões pericárdicas com maior precisão (Pinto e cols, 2009).

Na cardiopatia chagásica crônica são encontrados no eletrocardiograma achados típicos desta fase da doença. A presença de distúrbios na condução do impulso elétrico cardíaco, exemplificado especialmente pelo bloqueio divisional anterior esquerdo, bloqueio do ramo direito, e a presença de arritmias como batimentos ventriculares ectópicos ou extrassístoles e bradicardia são os achados mais frequentes. Nas fases mais avançadas da doença, bloqueios complexos e taquiarritmias, geralmente acompanhados de sintomas, são também documentados (Ianni e cols, 2001).

No ecodopplercardiograma da doença crônica, a presença de alteração segmentar na cinesia das paredes miocárdicas, dilatação das câmaras cardíacas, presença de aneurisma de ponta e diminuição da fração de ejeção do ventrículo esquerdo são frequentes e característicos (Acquatella, 2007).

O uso do holter 24h na doença de Chagas é muito útil para a avaliação prognóstica do indivíduo. A presença de arritmias ventriculares complexas está associada ao risco aumentado de morte súbita e complicações tromboembólicas (Pedrosa & Campos, 2004). O diagnóstico de bloqueios atrioventriculares de alto grau, detectados por meio do holter, são indicativos do uso de marca-passo, sendo este recurso propedêutico primordial nos sintomas de palpitação e episódios sincopais, assim como o estudo eletrofisiológico para a pesquisa de fontes de arritmias ventriculares fatais (Henz, 2009).

O teste ergométrico tem sido utilizado não só para determinar a capacidade funcional de portadores da infecção chagásica, bem como para classificá-lo quanto ao prognóstico, de acordo com o número de arritmias desencadeadas pelo esforço. A presença de taquicardia ventricular sustentada e bloqueios avançados durante o esforço são preditores de mortalidade aumentada nesta população (Viotti e cols, 2005).

A complementação dos dados precisos da ergoespirometria confere maior sensibilidade ao diagnóstico da função cardiopulmonar, sendo especialmente recomendado em treinamentos de reabilitação cardíaca e à triagem de candidatos ao transplante cardíaco (Andrade e cols, 2002).

O diagnóstico e prognóstico das lesões digestivas são elucidados por meio da radiografia contrastada com bário. Os Raios X de esôfago classificam o paciente em quatro categorias: a) diâmetro normal, mas dificuldade de esvaziamento do contraste ingerido; b) dilatação moderada do diâmetro e retenção do contraste; c) grande dilatação, hipotonia e contratilidade mínima; d) imensa dilatação e alongamento caindo sobre o diafragma (Rezende & n Moreira, 2000).

A classificação evolutiva do megacólon pode ser visualizada pelos Raios X contrastados no exame Clister Opaco: I) eliminação espontânea do bolo fecal; II) ausência de eliminação espontânea do bolo fecal; III) obstrução completa e impossibilidade de eliminação do bolo fecal após estímulo medicamentoso (Prata, 1994).

## **1.9 Tratamento**

O tratamento da infecção é preconizado pelo Ministério da Saúde durante a fase aguda, em crianças ou até 12 anos do início da infecção (Brasil, 2005b). Pacientes com elevada carga parasitária, como na fase aguda sintomática e nas recidivas em portadores crônicos na vigência de imunodepressão, têm benefícios imediatos com a utilização da droga, na dose de 5 a 10mg/Kg/peso ao dia durante 60 dias, pois os efeitos da liberação de citocinas e imunomediadores são suprimidos consideravelmente. Entretanto o único medicamento utilizado no Brasil, o Benzonidazol, contempla efeitos colaterais importantes e não elimina o parasita completamente, conforme estudos revelados por diversos pesquisadores (Teixeira e cols, 1994, 2011b; Braga e cols, 2000; Cançado, 2002).

## **1.10 JUSTIFICATIVA**

Estudos de genética molecular demonstraram a transferência de sequências de minicírculos de kDNA do parasito para sítios do genoma do hospedeiro. O sítio de integração identificado com maior frequência foi o retrotransposon LINE-1. Observou-se ainda que o kDNA pôde ser mobilizado para outros sítios do genoma

pela atividade do LINE-1. Assim surgiu a possibilidade de explicação entre as variações clínicas da doença e as mutações no genoma, cujas integrações de kDNA se comportariam como agente indutor das lesões na doença de Chagas (Teixeira e cols, 1991; Nitz, 2004).

Em outro experimento realizado pela mesma equipe de pesquisadores, foi observado que além da mutação de kDNA no genoma de pessoas de cinco famílias, cujos parentais da primeira geração (G0) tinham a doença de Chagas crônica, houve também a transferência da mutação de kDNA para as progênes seguintes, ou seja, G1 e G2 (Hecht e cols, 2010).

A hipótese de que as mutações de kDNA poderiam estar na origem da autoimunidade descrita por Santos-Buch & Teixeira (1974), originou outro estudo em aves, naturalmente refratárias à infecção, considerado um modelo experimental essencial para descartar a possibilidade de infecção residual observada em mamíferos. Ovos embrionados de galinha foram inoculados com 100ul de tripomastigotas. Após uma semana de incubação, as infecções foram erradicadas pela imunidade inata (bioquímica) do embrião, e os pintos nasceram sem a infecção, mas o kDNA do parasito permaneceu retido nos genomas.

As galinhas que tinham apenas as mutações de kDNA desenvolveram doença cardíaca franca, com limitação funcional, dispnéia, cianose e insuficiência cardíaca. À necropsia, revelou-se cardiomegalia importante (figura 5), com trombos e lesões microscópicas semelhantes às encontradas em humanos, com infiltrado de linfócitos CD45+, CD8+ $\gamma\delta$ + e CD8 $\alpha$ +. Na análise molecular, essas galinhas tiveram mutações no gene da distrofina e em outros genes que regulam as vias metabólicas associadas com crescimento e diferenciação celulares e com as respostas imunes (Teixeira e cols, 2011).



Figura 5 - Cardiomegalia em ave (*Gallus gallus*) portadora de mutação de kDNA no genoma. Note que o coração da ave kDNA-mutada, à esquerda, é 3,6 vezes maior que o coração da ave controle da mesma idade. Fonte: Teixeira e cols, 2011b.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Investigar possíveis associações entre os achados clínicos da infecção por *T. cruzi* e mutações de kDNA no genoma de portadores da infecção e seus familiares e descendentes.

### 2.2 Objetivos específicos

2.2.1 Descrever a apresentação clínica dos portadores da infecção por *T. cruzi* e seus familiares provenientes de Barcarena e Breves, municípios do Estado do Pará/Brasil;

2.2.2 Descrever e comparar a apresentação clínica do grupo de indivíduos residentes no Distrito Federal, sem exposição ao *T. cruzi* e com exames sorológicos negativos para a infecção chagásica, com os infectados pelo parasito;

2.2.3 Descrever a apresentação clínica dos portadores da infecção por *T. cruzi* e seus familiares provenientes de municípios dos Estados de Goiás e Minas Gerais;

2.2.4 Associar os achados clínicos com as mutações isoladas de kDNA, ou seja, as mutações herdadas, sem a presença do parasito;

2.2.5 Associar os achados clínicos com as mutações de kDNA, em presença de nDNA, em portadores da infecção por *T. cruzi*;

Os objetivos 2.2.4 e 2.2.5 foram conduzidos comparando dados clínicos com os achados de mutações de kDNA que estão descritos nas Teses de Doutorado de Mariana Machado Hecht, 2008 e de Perla Fabíola Araujo, 2012, ambas da Universidade de Brasília.

### **3 CASUÍSTICA E MÉTODOS**

#### **3.1 Tipo de Estudo**

A metodologia utilizada envolveu um desenho transversal contendo abordagens de pesquisa descritiva e explanatória. A análise descritiva foi operacionalizada através de um estudo de base populacional observacional, onde a coleta de dados se deu por meio de fonte primária de dados oriunda de consultas médicas, questionários sócio-demográficos e registros de exames clínicos e laboratoriais obtidos diretamente pelos pesquisadores. A fase explanatória da pesquisa foi conduzida através do teste de hipóteses questionando potenciais diferenças em marcadores do estado de saúde entre os grupos kDNA positivo, kDNA negativo, nDNA positivo e nDNA negativo.

Os sujeitos do estudo aderiram à pesquisa voluntariamente de acordo com as normas do Comitê de Ética da Pesquisa em Seres Humanos, com aprovação firmada por assinatura em Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), demonstrado no Apêndice A, para as famílias e Apêndice B para os indivíduos controles.

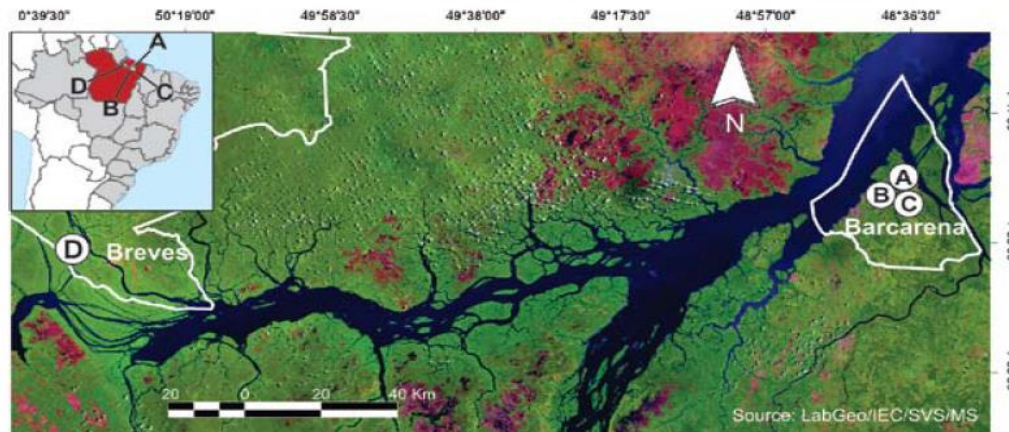
O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Fundação Hospital de Clínicas Gaspar Vianna - CONEP/FHCGV, sob o registro nº 054/2009 aprovado em 21 de maio de 2009 (Anexo A) e Folha de Rosto da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa nº 262390 (Anexo B).

O projeto nas famílias de Minas Gerais e Goiás, que serviu de modelo para o estudo no Pará, teve aprovação prévia no Conselho de Ética da Faculdade de Medicina/UnB e CONEP/MS (Registro do Processo no CONEP: 11163 e Registro no documento nº 2525000.167567/2004-28).

#### **3.2 População: tamanho e composição da amostra**

Foram investigados pacientes autóctones do Estado do Pará, provindos dos municípios de Barcarena, localizado a 150 km de Belém, capital do Estado, com 80.288 habitantes e de Breves, principal município do Arquipélago do Marajó/PA, com 99.223 habitantes (IBGE, 2010) e distante a 12 horas de viagem fluvial da capital (figura 6).





**Figura 6 - Foto por satélite da região do estuário do rio Amazonas onde aparecem os municípios de Breves, no Arquipélago do Marajó, e de Barcarena, à margem direita. As letras A, B, C e D mostram a localização das famílias do estudo. Fonte: Cortesia do Laboratório de Geociências do Instituto Evandro Chagas/PA.**

A seleção dos candidatos foi aleatória e a amostragem por conveniência, baseadas nos casos notificados como agudos pelas secretarias de ambos os municípios e supervisionadas pela GT-Chagas/SESPA, por meio do instrumento SINAN (Anexo C).

Após a aprovação pelo CONEP/FHCGV, iniciaram-se os contatos a partir de consultas aos SINANs, os quais continham registros de casos agudos da doença de Chagas no Pará ocorridos entre o período de 2006 a 2007. Na ocasião eu trabalhava como cardiologista na FHCGV e no PECdCh/SESPA durante o período de 2007 a 2010 e pude selecionar e recrutar, por meio do SINAN, algumas pessoas que tiveram doença de Chagas aguda (DCA) nas famílias de Barcarena. Assim, foram selecionadas 13 pessoas que tiveram a doença na fase aguda durante o período de 2006 a 2007 no município de Barcarena/PA a partir de três famílias denominadas A, B e C. A família B teve sua infecção documentada em 3 pessoas em 2006 e as famílias A e C, as quais moram em casas vizinhas, tiveram simultaneamente a fase aguda em 2007, com 8 e 2 casos respectivamente. Na ocasião eu pude acompanhar alguns componentes das últimas famílias na fase febril.

A seleção dos casos agudos de Breves ocorreu durante importante epidemia no Estado, com 239 notificações oriundas de diferentes municípios do Pará, durante os meses de julho a dezembro de 2009. Dentre esses casos, durante o atendimento na fase aguda, pude selecionar os 10 pacientes sintomáticos da mesma família para comporem a família D, precedente de Breves.

Os casos de DCA foram acompanhados por mim conforme orientações do Protocolo de Acompanhamento de pacientes com doença de Chagas Aguda do Programa Nacional de Controle da doença de Chagas/ Secretaria de Vigilância e Ministério da Saúde, o qual orienta o atendimento e seguimento dos casos agudos com a realização de exames laboratoriais e eletrocardiograma quinzenalmente durante os sessenta dias de tratamento com o Benzonidazol. Além do eletrocardiograma, os pacientes foram submetidos ao ecodopplercardiograma e radiografia torácica mensalmente a fim de detectar o risco de arritmias e/ou formação de trombos intraventriculares, assim como instituir sua profilaxia e tratamento até o final do tratamento.

Todos os casos de DCA apresentavam-se sintomáticos, com elevada ocorrência de febre alta, em torno de 38 a 40°C e duração média de 40 dias, sem remissão ao uso de antitérmicos e piora no período vespertino. A febre era acompanhada de mialgias, cefaleia intensa, astenia e prostração e em alguns casos houve a ocorrência de edema de tornozelos e petéquias. Com a instituição do tratamento com Benzonidazol, em torno de 24h houve a remissão da maioria dos sintomas, especialmente da febre, entretanto os efeitos colaterais da droga também surgiram como epigastralgia, queda de cabelos e anorexia. Três pessoas da mesma família de Barcarena não puderam continuar o tratamento por terem desenvolvido reação alérgica importante sem remissão ao uso de anti-histamínicos e uma paciente grávida na família de Breves não recebeu o tratamento.

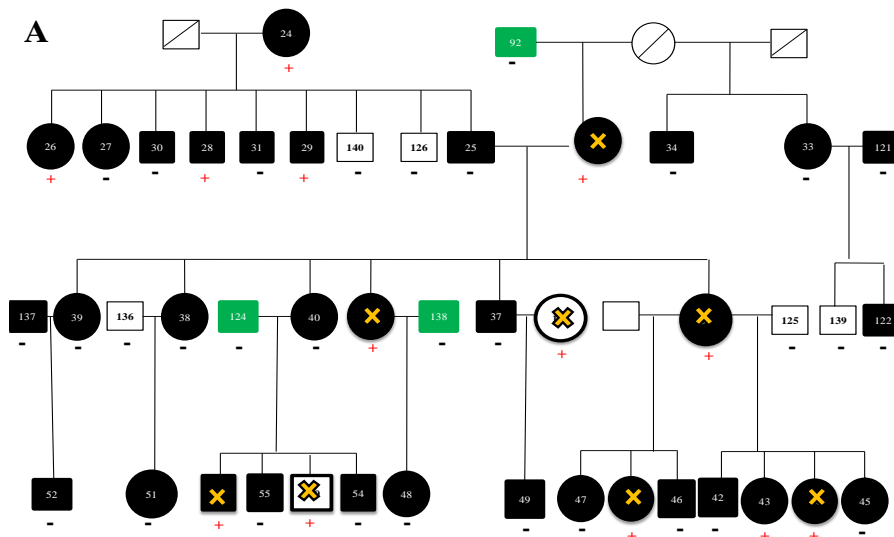
O diagnóstico de DCA foi confirmado pelo Chagas/GT-Chagas/SESPA a partir da ocorrência de um caso com sintomas condizentes com a fase aguda da doença, denominado caso índice, na família ou comunidade e, a partir deste, a procura de outras pessoas com as mesmas características clínico-epidemiológicas. Após a suspeita epidemiológica, a constatação de parasitologia positiva e/ ou a presença de imunoglobulinas IgM e/ou a soro conversão da imunoglobulina IgG em títulos de 2 a 4 vezes o valor inicial era confirmada a etiologia chagásica na fase aguda (SESPA, 2009).

Para o estudo genético populacional, além dos casos agudos referidos acima, foram incluídos também familiares, mesmo saudáveis, para compormos os heredogramas, totalizando 109 pessoas distribuídas entre as quatro famílias, ou seja, 44, 15, 29 e 21 nas famílias A, B, C e D, respectivamente (figura 7).

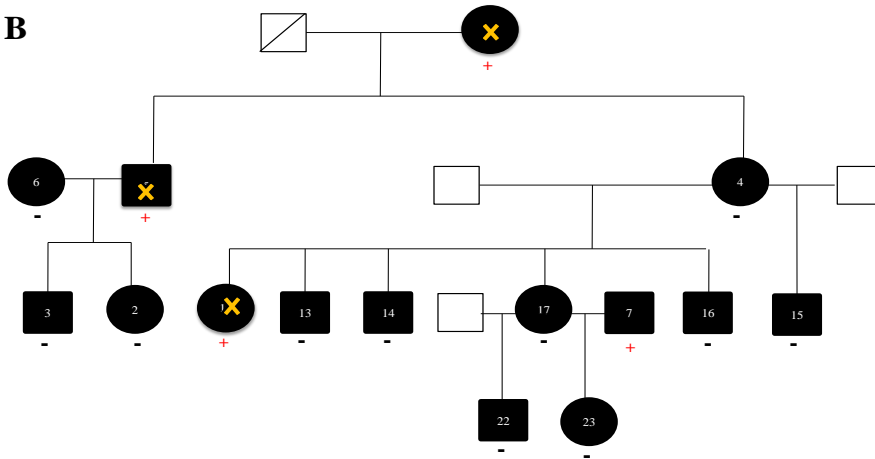
Os heredogramas são constituídos por gerações, cuja primeira é chamada G0, ou seja, os patriarcas da família, as gerações seguintes denominadas de G1, G2 e sucessivamente. Os indivíduos em forma de círculo são os representantes do gênero feminino e, aqueles em forma de quadrado, do gênero masculino; os marcados com um traço diagonal significam óbito e os que estão em branco com um X e não contêm numeração de protocolo são os que não doaram material orgânico e não participaram do estudo.

Os resultados laboratoriais (PCR, sorologia e parasitológicos) obtidos nas famílias foram representados nos heredogramas com as seguintes colorações: branco: nDNA e kDNA negativos, preto: nDNA e kDNA positivos e verde, somente o kDNA positivo. Os sinais + e – representam os resultados dos exames sorológicos. Os sinalados com x amarelo são os casos agudos com apresentação clínica, parasitológica (Figura 7).

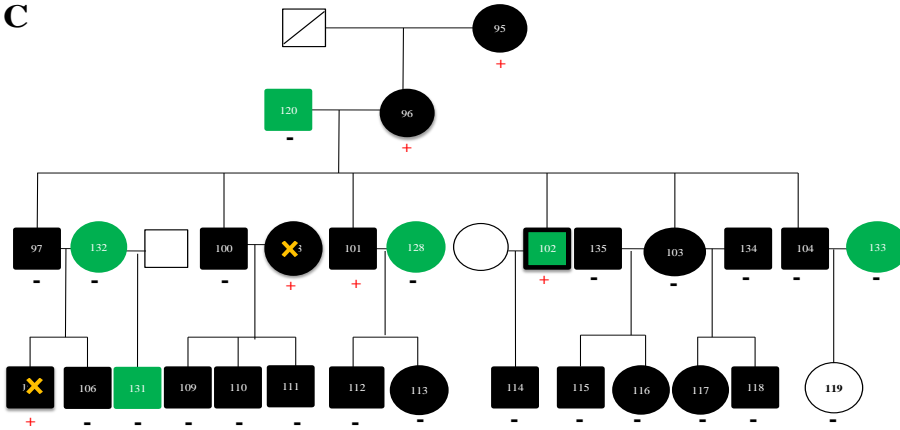
**Figura 7 - Heredogramas das famílias do Pará: Família A, com 44 indivíduos, família B, com 15 componentes, família C, com 29 membros e família D, com 21 pacientes. Fonte: LMPDC/UnB.**

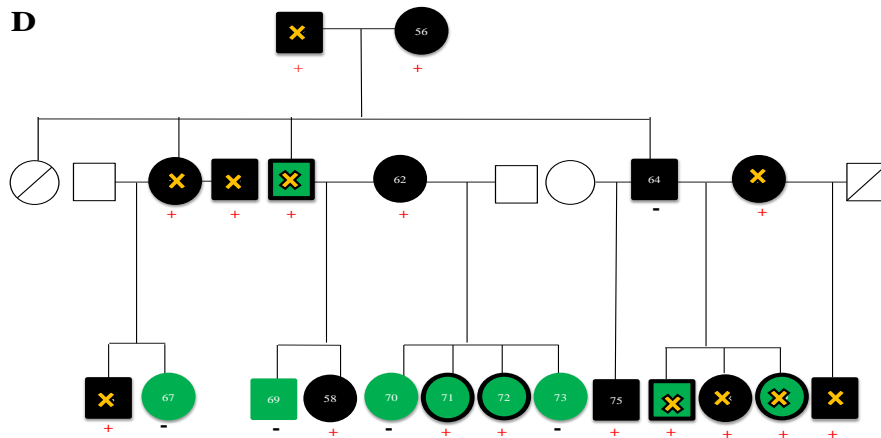


B



C

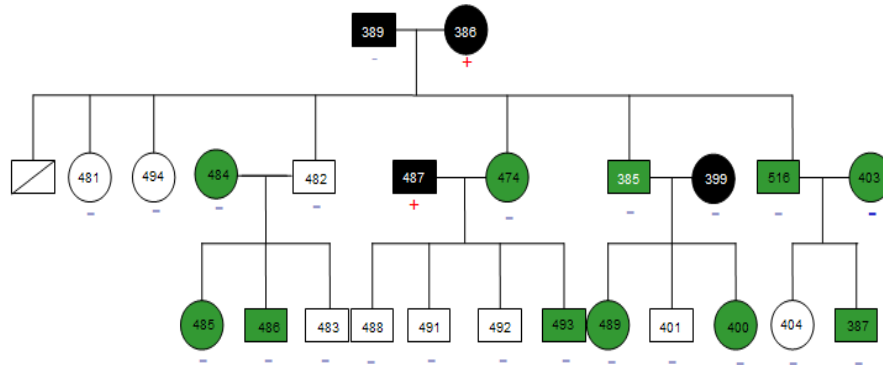




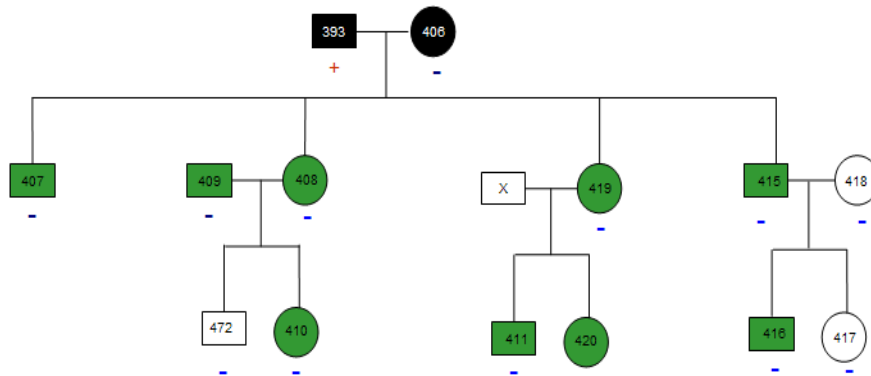
O estudo em famílias foi complementado com a análise retrospectiva de dados obtidos por pesquisadores do Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa em doença de Chagas (LMPDC), da Universidade de Brasília, em outras três famílias, cujos parentais fundadores, ou seja, G0 nasceram em áreas rurais de municípios dos Estados de Minas Gerais e Goiás e moraram em casas infestadas com o inseto vetor do *T. cruzi*. Essas famílias foram designadas como Família E, com 24 componentes, Família F, com 14 indivíduos e Família G, com 16 pessoas. Seus descendentes, a partir de G1 não tiveram contato com triatomíneos, já que passaram a residir em cidades isentas da transmissão vetorial da infecção chagásica (Figura 8).

O critério de seleção dessas famílias foi o conhecimento de infecção crônica por *T. cruzi* nos membros G0 comprovada por sorologia e PCR. Os membros dessas famílias estão indicados nos heredogramas da figura 8, cuja metodologia serviu de modelo para o estudo no Pará. Os dados clínicos para análise foram anotados a partir de exames realizados durante os anos de 2003 a 2005 na clínica Biocórdios® e os exames laboratoriais foram processados no LMPDC e obtidos a partir da publicação da Tese de Doutorado de Mariana Hecht (2008).

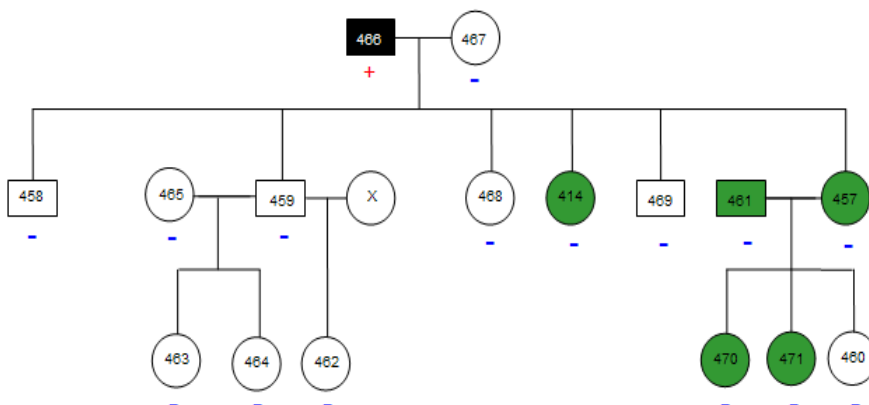
Figura 8 - Heredogramas das três famílias de Minas Gerais e Goiás: Família E, com 24 indivíduos, Família F, com 14 participantes e Família G, com 16 voluntários. Fonte: Hecht e cols, 2010.



#### FAMÍLIA E



#### FAMÍLIA F



#### FAMÍLIA G

Para compor o grupo controle, foram selecionados aleatoriamente 150 indivíduos saudáveis, com testes sorológicos negativos para *T. cruzi*, sem história de contato com triatomíneos, durante consultas médicas realizadas por mim na clínica Biocárdios®, em Brasília.

Portanto, a amostragem do estudo foi estimada inicialmente em 313 indivíduos distribuídos de acordo com critérios definidos: a) 109 indivíduos de quatro famílias dos municípios de Barcarena e Breves, no Estado do Pará, selecionadas a partir de casos clínicos agudos; b) 54 pessoas de famílias de Minas Gerais e Goiás, escolhidas a partir da identificação da cardiopatia chagásica crônica nos parentais; c) 150 voluntários do Distrito Federal, escolhidos a partir do critério de ter exame sorológico negativo para infecção pelo *T. cruzi* e residir em região sem exposição a contato com triatomíneos. Entretanto após a aplicação dos critérios de exclusão (vide item 3.4.2), a amostragem final resultou em 265 indivíduos distribuídos em 95 provenientes do Pará, 36 voluntários de Minas Gerais e Goiás e 134 pessoas saudáveis do Distrito Federal.

### **3.3 Locais do estudo**

A primeira fase do estudo clínico foi conduzida com as quatro famílias do Pará, durante o período de maio de 2009 a maio de 2010. A coleta de material biológico foi realizada em campo, nas residências das pessoas (Figuras 9 e 10). Os indivíduos foram transportados à Fundação Hospital de Clínicas Gaspar Vianna (FHCGV), em Belém, via terrestre ou barco quando procediam de Barcarena ou via navio, quando o trajeto era de Breves à capital do Estado, para a realização dos exames clínicos e entrevista. Na FHCGV, os indivíduos foram submetidos aos exames cardiológicos, com minha participação direta na logística dos mesmos, mas com a realização dos exames por outros cardiologistas que não conheciam o estado de saúde dos pacientes.

O material biológico coletado foi transportado por avião, devidamente acondicionado, para o LMPDC, na UnB, com a finalidade de realizar os exames laboratoriais por outros pesquisadores.

A segunda fase do estudo abrangeu a seleção das pessoas saudáveis para comporem o Grupo Controle, em Brasília-DF, na clínica Biocárdios®. Estes indivíduos foram submetidos às consultas médicas por mim, com a utilização de

questionários (Apêndice C), exames cardiológicos e coleta de sangue. Nesses voluntários não foram procedidos coleta de esperma, radiografia de tórax, enema baritado e exames parasitológicos.

A terceira fase da pesquisa foi retrospectiva, a partir da análise dos prontuários e resultados de exames das famílias com histórico de contato com triatomíneos em regiões endêmicas dos Estados de Minas Gerais e Goiás, cujos dados laboratoriais haviam sido processados por Hecht, MM (2008), Tese, Universidade de Brasília.



**Figura 9 - Coleta de sangue na residência das famílias de Barcarena/PA. Fonte: acervo do autor.**





Figura 10 - Coleta de sangue nas residências das famílias de Breves/PA. Fonte: acervo do autor.

### 3.4 Definição dos grupos de estudo: Critérios de Inclusão e Critérios de Exclusão

#### 3.4.1- Critérios de Inclusão

Para a população do Pará, foram definidos como grupo de estudo pessoas com o diagnóstico de doença de Chagas confirmado, a princípio, por exames parasitológicos e/ou sorológicos a partir dos casos notificados como agudos pela SESPA, durante os anos de 2006, 2007 e 2009 (SESPA, 2009). A partir desses casos foram delineados núcleos familiares apresentados em heredogramas descritos anteriormente, independente de diagnóstico prévio sobre a infecção chagásica.

Aos indivíduos provenientes dos estados de Minas Gerais e Goiás, o critério de inclusão foi o conhecimento de pelo menos um dos parentais nas três famílias ter o diagnóstico sorológico da infecção crônica pelo *T. cruzi* e contato com triatomíneos em suas residências. Os demais membros dessas famílias foram agregados pelos mesmos critérios descritos nas famílias do Pará (Hecht, 2008).

Como critérios de inclusão ao grupo controle, foram selecionadas, aleatoriamente, pessoas com sorologia negativa para doença de Chagas e sem

doença(s) cardiovascular (es) concomitante(s), tais como insuficiência cardíaca, doença coronariana, patologias orovalvares, doenças congênitas ou síndromes genéticas, assim como situações e doenças que pudessem contribuir à degeneração cardiovascular, ou seja, tabagismo, hipertensão arterial, diabetes, dislipidemia, doenças pulmonares, reumatológicas e autoimunes.

Após a definição do diagnóstico molecular, elaborado pela equipe do LMPDC, todos os indivíduos (famílias e controles) foram agrupados de acordo com o estado da infecção pelo *T. cruzi*, ou seja, por meio dos resultados de PCR (kDNA e nDNA) e sorologia (IF e Elisa).

Os grupos foram classificados como:

**G1:** nDNA positivo (+), kDNA positivo (+) e sorologia positiva (+)

**G2:** nDNA positivo (+), kDNA positivo (+) e sorologia negativa (-)

**G3:** nDNA negativo (-), kDNA positivo (+) e sorologia negativa (-)

**G4:** nDNA negativo (-), kDNA negativo (-) e sorologia negativa (-)

Os grupos G1 e G2, os quais contêm o nDNA, representam o grupo com a infecção ativa pelo *T. cruzi*. O grupo G3, ou seja, kDNA positivo, tem somente a integração de minicírculo de kDNA no genoma, o qual é transferido às progênes pela reprodução sexuada, na ausência de infecção ativa (nDNA negativo) (Hecth, 2008; Araújo, 2012)

#### **3.4.2 - Critérios de Exclusão**

Foram excluídos da amostragem inicial os casos que não fizeram pelo menos um exame clínico. Também foram excluídos aqueles nDNA negativos (-) mas com sorologia positiva para *T. cruzi*, devido os mesmos terem sorologia e PCR positivos para *Leishmania sp*, configurando reação imunológica cruzada. Ou seja, prevaleceu nesse estudo o critério do teste nDNA como padrão ouro. Também foram excluídos do grupo controle os indivíduos que não fizeram pelo menos um exame clínico e os portadores de nDNA e sorologia positiva para *T. cruzi*. Todos os voluntários do estudo assinaram o TCLE de participação na pesquisa.

### 3.5 Coleta e manipulação de sangue e de esperma humano

O material orgânico foi coletado de todos os componentes das Famílias e dos Controles que aceitaram participar do estudo e processados por outros pesquisadores no LMPDC/UnB. Dos 20 ml de sangue, quatro mililitros foram separados para os testes sorológicos de detecção de anticorpos específicos e, do restante, foi extraído o DNA das células nucleadas para as análises moleculares e biotecnológicas (Lauria Pires e cols. 2000; Hecht e cols, 2010). Foi solicitada a cada chagásico adulto das famílias do Pará uma amostra de seu sêmen, cujos espermatozoides livres foram colhidos e submetidos à extração de DNA (Sambrook & Russel, 2001).

### 3.6 Exames laboratoriais

Os exames parasitológicos foram realizados em duas fases: a primeira durante os sintomas da fase aguda dos casos suspeitos de DCA nos anos de 2006, 2007 e 2009 pela equipe dos pesquisadores Aldo e Vera Valente, da Seção de Parasitologia do IEC/PA, cujos resultados foram cedidos para as análises desta Tese e a segunda fase por pesquisadores do LMPDC/UnB em duas coletas durante os anos 2009 e 2012.

A equipe do IEC utilizou a pesquisa direta do parasito por meio do teste da gota espessa, cujo esfregaço de sangue foi feito sob lâmina corada pelo Giemsa seguido de exame ao microscópio óptico com objetiva 40x e o teste QBC (*Quantitative Buff Coat*), com o manuseio de quatro capilares por paciente seguidos os procedimentos apresentados pelo fabricante (Siste) na faixa de leitura recomendada. Nos testes do sangue a fresco um mínimo de 500 campos microscópicos foi varrido por três examinadores. Os exames hemocultura e o xenodiagnóstico artificial foram realizados a partir do isolamento de *T. cruzi* obtido após coleta de sangue por punção venosa, seguindo os procedimentos adotados por Miles (1993). O sangue foi diluído em solução salina fisiológica estéril e examinado ao microscópio para detecção do Tripanosoma. O volume de 1ml foi semeado nos meios citados em cada capela de fluxo laminar e a cultura foi examinada após três semanas. Os meios utilizados no IEC foram: 1) Bifásico de Hoff's(4 tubos por paciente) com semeio de 500ul de sangue por tubo. Após duas semanas, alíquotas do material semeado, tendo parasitos em crescimento, foram transferidos para o

meio líquido RPMI 1640 e/ou meio LIT (*Liver infusion Tryptose*) para crescimento exponencial. O exame do material semeado foi realizado três semanas depois e os tubos negativos examinados aos noventa dias e descartados. Para o preparo do xenodiagnóstico artificial foram utilizados 10 a 15 ml de sangue com heparina sódica distribuídos em cilindros de vidro revestidos com membrana de borracha permeável ao probóscide e permitida a alimentação de linfas de triatomíneos. O cilindro foi aquecido em banho-maria à temperatura entre 37 a 39 °C para estimular a alimentação dos insetos. Em cada paciente foram usadas vinte ninfas do quinto estágio das espécies *Rhodnius prolixus*, *Triatoma infestans* e *Panstrongylus megistus* com jejum de sessenta dias. As espécies foram mantidas no insetário do IEC e o conteúdo intestinal dos triatomíneos foi examinado aos 30 e 60 dias após a alimentação (Araújo, 2012).

No LMPDC/UnB, dos exames parasitológicos, foram realizadas somente hemoculturas em todos os 109 indivíduos do Pará. Nos casos notificados como agudos em 2006 e 2007 as sementeiras foram realizadas na fase crônica em duas ocasiões, ou seja, em 2009 e 2012, e na quarta família (família D) a coleta ocorreu na fase aguda, em 2009, e na fase crônica, em 2012. Nos participantes do Distrito Federal e de Minas Gerais e Goiás, não foram realizados hemocultura e outros exames parasitológicos.

A primeira coleta de sangue para as hemoculturas nas famílias do Pará foi realizada nas casas dos participantes (figuras 9 e 10), cujo material foi colhido de uma veia do antebraço de cada um dos 109 indivíduos. Tubos de 15 x 12 cm contendo agar sangue receberam 4ml de sangue e permaneceram a temperatura ambiente (28 a 32° C). Uma semana após a sementeira, adicionou-se 3 mL de LIT em cada tubo e antibióticos, no LMPDC/UnB. As culturas foram examinadas 30, 60, 90 e 120 dias depois da sementeira por profissionais experientes (Araujo, 2012).

Em 2012, foi realizada nova coleta de hemocultura nas famílias do Pará em 76 dos 109 indivíduos, com a obtenção de 10ml de sangue venoso da veia cubital, com técnica adaptada de Siriano e cols, 2011. Os tubos foram examinados nos períodos pós-sementeira indicados para a primeira coleta, em 2009. Nos experimentos controle do laboratório, tubos com agar sangue foram inoculados com 10<sup>4</sup> tripomastigotas de sangue de camundongos previamente infectados com *T. cruzi* ou com igual número de epimastigotas crescidos em LIT (Araújo, 2012).

Foram solicitados, em campo, aos participantes do Pará amostras de sêmen colhidas em frascos esterilizados para a realização de cultura e PCR. Uma parte do material foi semeado em meio de cultura com agar sangue e LIT, acrescido com antibióticos e antifúngicos. O restante seguiu protocolo desenvolvido por Carter e cols (2000), cujo conteúdo foi centrifugado a 13000xg e ao sedimento foi adicionado 3ml de Tampão de Extração (10 mM Tris, 10 mM NaCL, 20 mM EDTA, 1% SDS, 0.04% proteinase K, 1% DTT), incubado a 55°C durante 2h ou *overnight* a 37°C. O protocolo para a extração do DNA das amostras foi realizado de acordo com Sambrook e Russel (2001) com descrição detalhada nas Teses de Mestrado de Araújo (2008) e Pimentel (2012).

Cada tubo de cultura foi examinado bimestralmente ao longo de seis meses por profissional experiente. A extração de DNA e pesquisa de PCR dos espermatozoides das famílias do Pará estão detalhados na Tese de Pimentel, 2012, cujos resultados foram importantes para observar a possibilidade da detecção do parasito no material biológico e constatar a mutação de minicírculos de kDNA nas células germinativas, cuja demonstração é importante para a discussão do fenômeno de Transferência Gênica Vertical.

Os testes sorológicos empregados foram ELISA e IFI para a detecção de anticorpos das classes de Imunoglobulinas IgM e IgG contra *T. cruzi*. As famílias foram submetidas também à sorologia para o diagnóstico da infecção por *L. braziliensis* e *L. donovani*, com o objetivo de descartar infecções mistas pelos protozoários dos gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania* (Tinoco e cols, 1996). Cada teste positivo foi convalidado em ensaios paralelos em um painel de soros de pacientes com comprovação parasitológica da infecção, arquivados no banco de soros do LMPDC (Lauria Pires e cols, 2000).

Os resultados de testes de PCR, clonagem e sequenciamento das famílias de Minas Gerais e Goiás foram extraídos da Tese de Doutorado de Hecht, 2008 e das famílias do Pará da Tese de Doutorado de Araújo, 2012. Os resultados de PCR dos participantes do Distrito Federal foram realizados por outros pesquisadores do LMPDC/UnB. As sequências aneladoras (*primers*) específicas foram empregadas para definir os casos infectados (Moser e cols, 1989; Sturm e cols., 1989). Pelo uso combinado de *primers* de kDNA e de nDNA foram amplificadas em reações de *tpTAIL*-PCR das mutações de kDNA (Hecht e cols, 2010). Os clones para

sequenciamentos foram selecionados pela hibridização com sonda radio marcada de minicírculo de kDNA. A demonstração de sequências quimeras identificou os minicírculos do kDNA do parasito integrado no genoma humano.

### **3.7 Variáveis clínicas estudadas.**

#### **3.7.1- Anamnese e exame físico.**

A entrevista com os dados clínico-epidemiológicos, assim como o exame físico foram realizados por mim mediante consultas na FHCGV, na clínica Biocórdios e domicílios dos participantes.

#### **3.7.2- Exames complementares cardiológicos.**

##### **3.7.2.1-Eletrocardiograma de repouso (ECG).**

Os registros eletrocardiográficos foram obtidos por eletrocardiógrafo digital da marca TEB-APEX, modelo Wincardio com traçado de doze derivações simultâneas: Periféricas D1, D2, D3, AVR, AVL, AVF e precordiais V1, V2, V3, V4, V5 e V6, cujos parâmetros de normalidade foram baseados nos critérios da Sociedade Brasileira de Cardiologia (Pastore e cols, 2009).

As primeiras anormalidades observadas na cardiopatia chagásica frequentemente são detectadas no eletrocardiograma, inclusive na fase aguda da doença, como o surgimento de taquiarritmias e distúrbios da repolarização ventricular (Pinto e cols 2008; 2013). Entretanto, é na cardiopatia chagásica crônica (CCC) que as alterações são clássicas, caracterizadas por retardos transitórios ou fixos da condução atrioventricular, da condução no ramo direito, alterações da repolarização ventricular e ectopias ventriculares, com marcante presença de bloqueio completo do ramo Direito associado ao hemibloqueio anterior esquerdo (Andrade e cols, 2011).

##### **3.7.2.2- Eletrocardiograma dinâmico de 24 horas (holter).**

Com o objetivo de detectar arritmias potencialmente ameaçadoras à vida e obter o perfil arritmogênico da amostragem, optou-se pelo sistema holter, ou registro eletrocardiográfico contínuo, com três canais ligados ininterruptamente durante 24 horas com taxa de 200 amostragens por segundo e resolução de 8 *bits* da marca CardioSistema® (Lorga-Filho e cols, 2013).

Os eletrodos da unidade gravadora da marca CardioSistemas Coml. Indl. Ltda (Sistemas Avançados de Avaliação Cardiológica) Cardios Flash, Versão 4.1.381.25/2004 foram instalados para a gravação do ritmo cardíaco. A interpretação dos traçados e confecção dos laudos foi realizada por dois médicos cardiologistas que desconheciam os resultados dos exames sorológicos do paciente.

O sistema Holter de gravação eletrocardiográfica tem importante indicação na avaliação do paciente chagásico, haja vista a elevada incidência de bradiarritmias e taquiarritmias nesta população, sendo consideradas preditoras de mortalidade (Rassi Jr e cols, 2007). Foram avaliados a presença e o número de extrassístoles ou ectopias ventriculares (EV) e supraventriculares (ESV) nas 24h de gravação, sendo considerado laudo normal até dez ocorrências de EV por hora, ou 240 nas 24h. A presença de taquicardia ventricular sustentada (TVS), ou seja, três ou mais ectopias ventriculares sucessivas com duração igual ou superior a 30 segundos e a não sustentada (TVNS), com duração menor que trinta segundos, foram considerados para a análise (Fagundes & Boghossian, 2001).

### **3.7.2.3- Eletrocardiograma de esforço em esteira (Teste ergométrico).**

A necessidade da utilização do teste de esforço ou teste ergométrico nos pacientes do estudo baseia-se na ocorrência de arritmias desencadeadas pelo exercício, além da possibilidade de obter o perfil da aptidão cardiovascular e afastar indícios de doença coronariana nos pacientes chagásicos (Andrade e cols, 2002).

Os testes ergométricos realizados na FHCGV foram todos aplicados por mim durante o período de 2009 a 2010. Foi utilizado nos pacientes o *software* de ergometria modelo Ergo PC 13 (Micromed), e esteira ergométrica modelo 10200 de fabricação Imbramed, eletrodos da marca Medtrace -Kendall.

No decorrer de 2011, os indivíduos controles foram submetidos ao teste ergométrico na clínica Biocárdios®, em Brasília, cujos alguns exames foram aplicados por mim, assim como por outros cardiologistas da clínica que desconheciam o estado de saúde da amostragem e contribuíram com a pesquisa.

Os protocolos de ergometria foram selecionados de acordo com as características dos participantes. Em relação às famílias do Pará, o protocolo Ellestad foi aplicado nos indivíduos ativos fisicamente e sem queixas limitantes ao exercício. Por outro lado, o protocolo Bruce modificado foi o escolhido para os

idosos e crianças. Quanto ao grupo controle, por motivos operacionais de rotina da clínica, o protocolo de Rampa, foi o utilizado em todos os participantes (Andrade e cols, 2002).

#### **3.7.2.4- Ecodopplercardiograma.**

A função ventricular e possíveis alterações cardíacas estruturais dos pacientes foram avaliadas por meio do exame ecodopplercardiograma Em Visor (modelo S 4-2 *Philips Electronics North American Corporation*, com transdutor serial) de acordo com as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia.

No módulo M ou unidimensional foram avaliados aspectos da dinâmica cardíaca, entre os quais os diâmetros e volumes das câmaras esquerdas, o desempenho contrátil ventricular, o percentual de encurtamento sistólico do ventrículo esquerdo, a fração de ejeção e a velocidade de encurtamento circunferencial da fibra cardíaca. A fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) foi avaliada pelo método biplano de discos de Simpson, com valor normal igual ou maior que 50% (Douglas e cols, 2009).

Pelo modo bidimensional foram complementadas informações obtidas pela análise em movimento, tendo sido visualizadas as estruturas cardíacas em imagens semelhantes aos cortes anatômicos. Os registros foram gravados em CDs (*compacted disc*) e/ou impressos em papel filme termossensível da marca Sony. Os exames foram considerados positivos ao demonstrarem: *i*) hipocinesia ou acinesia de dois ou mais segmentos contíguos, *ii*) mobilidade anormal da parede, e *iii*) hipocinesia global e disfunção sistólica (Bestetti e cols, 1994; Kontos e cols, 1998).

Disfunção ventricular foi considerada na presença de disfunção sistólica e/ou diastólica do ventrículo esquerdo. Disfunção ventricular sistólica foi definida na presença de disfunção ventricular global e/ou regional. Disfunção ventricular sistólica global foi definida na presença de FEVE menor do que 50%. Disfunção ventricular diastólica foi definida na presença de  $E'/A' < 1$  (Douglas e cols, 2009).

As avaliações indicativas de parâmetros patofisiológicos de funções cardíacas foram interpretadas por especialistas experientes em ecocardiografia que não tinham conhecimento do estado clínico e laboratorial do paciente ou de sua história epidemiológica.



### 3.7.2.5- Radiografia de tórax.

Foram realizadas radiografias de tórax a uma distância de 1,5 metros (m) a 2 m com a incidência pósterio-anterior (PA) e perfil (P). O aparelho radiógrafo utilizado foi da marca *Siemens* modelo HELIOPHOS com o objetivo de avaliar o tamanho da área cardíaca pela análise do índice cardiotorácico e os sinais de comprometimento do ventrículo direito, assim como insuficiência tricúspide, frequentes na fase avançada da cardiopatia chagásica crônica (Andrade e cols, 2002). Devido à ocorrência de dificuldades operacionais e recusa da maioria dos participantes à realização do exame, a análise dos resultados ficou reduzida a 34 (31,2%) indivíduos dos 109 participantes do Pará.

A radiografia de tórax não foi aplicada nos indivíduos controle pela dificuldade em aceitar a realização do exame sem a necessidade patológica e ao serem esclarecidos do risco de exposição à radiação ionizante, mesmo de pequena monta. Do mesmo modo, os indivíduos dos estados de Minas Gerais e Goiás não tiveram o exame realizado no momento da coleta de dados, ou seja, entre 2003 e 2005.

### 3.8 Análise Estatística

A investigação utilizou para as variáveis nominais as razões das chances (*Odds Ratio*). Para as variáveis numéricas contínuas calcularam-se médias e desvio padrão e as médias foram comparadas por Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey, quando as amostras eram homocedásticas (variâncias iguais) ou Teste não paramétrico de Kruskal Wallis, quando as amostras eram heterocedásticas, todos ao nível de significância de 0,5.

As análises de estatísticas genéticas foram realizadas de acordo com a definição do mapeamento pelos marcadores genéticos, em cada paciente. A estratégia para detecção e localização de eventos de integração do kDNA influenciando o curso da doença de Chagas foi analisada com a incorporação de estatística genética quantitativa. A abordagem permitiu a quantificação da variação genética em pacientes kDNA-positivos e, portanto, mutados e associados com fatores de risco. Em adição às análises de ligação, foram realizados testes para associação entre cada marcador genético e a manifestação de doença, particularmente naqueles casos com acúmulo de mutações no genoma, identificados na Tese de Doutorado de Araujo (2012), Universidade de Brasília.

#### 4 RESULTADOS

A amostragem inicial do estudo era composta por 313 indivíduos distribuídos entre 109 participantes do Pará (Figura 7), 54 das famílias de Minas Gerais e Goiás (Figura 8) e 150 indivíduos controles do Distrito Federal. Entretanto, com os resultados de exames laboratoriais e as análises dos exames clínicos, seguindo os critérios de exclusão, a amostragem final ficou reduzida a 265 indivíduos: a) 95 (35,8%) pessoas do Estado do Pará (PA), b) 36 (13,6%) participantes de Minas Gerais e Goiás (MG/GO) e 134 (50,6%) voluntários de Brasília, Distrito Federal (DF) (Tabela 1).

**Tabela 1 – Distribuição da amostragem de acordo com a procedência dos participantes.**

Localidade	n	%
PA	95	35,8
MG/GO	36	13,6
DF	134	50,6
<b>Total</b>	<b>265</b>	<b>100,0</b>

Do total de 265 participantes, 135 (50,9%) pertenceram ao gênero feminino e 130 (49,1%) ao masculino. Das quatro famílias estudadas no Pará, 53 (20,0 %) indivíduos foram do sexo masculino e 42 (15,8%) do sexo feminino. Quanto aos núcleos familiares de Minas Gerais e Goiás, 19 (7,2%) pessoas foram do gênero masculino e 17 (6,4%) pessoas do gênero feminino. Em relação ao Grupo Controle (DF), o número de indivíduos do gênero masculino foi 58 (21,9 %) e 76 (28,7 %) pessoas pertenceram ao gênero feminino (Tabela 2).

**Tabela 2 – Distribuição da população estudada pelo gênero e procedência.**

Localidade	Feminino		Masculino		Total	
	n	%	n	%	n	%
PA	42	15,8	53	20,0	95	35,8
MG/GO	17	6,4	19	7,2	36	13,6
DF	76	28,7	58	21,9	134	50,6
<b>Total</b>	<b>135</b>	<b>50,9</b>	<b>130</b>	<b>49,1</b>	<b>265</b>	<b>100,0</b>

A população do estudo foi agrupada em faixas etárias de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE/2010). A faixa etária jovem abrangeu a idade de zero a dezenove anos, os adultos tinham de vinte a cinquenta e

nove anos de idade, e os idosos tinham sessenta anos de idade ou mais. Como o intervalo da população jovem é amplo, para conduzir as análises clínicas foi necessário subdividir a faixa etária dos jovens em crianças de zero a 12 anos e em adolescentes de 13 a 19 anos de idade.

Conforme observado na Tabela 3, a maior parte da população do estudo está composta de 166 adultos (62,6%) e os idosos, minoria, representados por 20 (7,5%) pessoas. Essa distribuição também foi observada em cada uma das amostragens, ou seja, PA e MG/GO tiveram, respectivamente, 47 (17,7 %), e 21 (7,9%) adultos. Entre os 134 voluntários do DF, 98 (37,0%) pertenceram à faixa de 20 a 59 anos de idade. A amostragem do Pará concentrou a maioria das crianças com 28 (10,6%) indivíduos. As idades de MG/GO e do DF foram equivalentes em relação às crianças e adolescentes, ou seja, ambos com menos jovens até 19 anos. Os idosos foram minoria nas três amostragens selecionadas com critérios específicos.

**Tabela 3 – Distribuição da amostragem de acordo com a localidade e a faixa etária.**

Faixa Etária \ Localidade	0 – 12		13 - 19		20 - 59		≥60		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Pará</b>	28	10,6	12	4,5	47	17,7	8	3,0	95	35,8
<b>MG/GO</b>	7	2,6	5	1,9	21	7,9	3	1,1	36	13,6
<b>Distrito Federal</b>	14	5,3	13	4,9	98	37,0	9	3,4	134	50,6
<b>Total</b>	<b>49</b>	<b>18,5</b>	<b>30</b>	<b>11,3</b>	<b>166</b>	<b>62,6</b>	<b>20</b>	<b>7,5</b>	<b>265</b>	<b>100,0</b>

Os resultados dos exames sorológicos e de DNA foram obtidos na população dos 265 indivíduos. Na Tabela 4, observa-se que a maioria das sorologias (234 exames, 88,3%) foi negativa, enquanto que as positivas abrangeram somente 31 (11,7%) indivíduos. Em relação às 95 pessoas das famílias do Pará, 66 (24,9%) tiveram exames sorológicos (IFI e ELISA) negativos, e apenas 29 (10,9%) foram positivos. Do mesmo modo, nas famílias de MG/GO, os indivíduos apresentaram 34 (12,8 %) exames negativos e apenas 2 (0,8%) exames positivos. A amostragem (134 pessoas) do DF teve como critério de seleção o resultado negativo no teste sorológico para infecção pelo *T. cruzi*, portanto sem resultados positivos.

**Tabela 4 - Resultados dos testes sorológicos na população do estudo pela procedência.**

Localidade	Resultado	Negativo		Positivo		Total	
		n	%	n	%	n	%
PA		66	24,9	29	10,9	95	35,8
MG/GO		34	12,8	2	0,8	36	13,6
DF		134	50,6	0	0,0	134	50,6
<b>Total</b>		<b>234</b>	<b>88,3</b>	<b>31</b>	<b>11,7</b>	<b>265</b>	<b>100,0</b>

Os resultados do teste PCR com iniciadores específicos para o kDNA do *T. cruzi* revelou a presença de integração de minicírculos de kDNA na maioria dos indivíduos. Ou seja, foram 237 (89,4%) positivos dentre os 265 testados. Esse dado foi distribuído para os grupos PA, MG/GO e DF. Noventa (34,0%) indivíduos nas famílias PA foram kDNA positivos (kDNA+), e nas famílias MG/GO, verificou-se que 9,4% apresentavam integração de kDNA no genoma em relação ao total de 265 indivíduos e de interesse, 122 residentes no DF (46,0%) foram kDNA+ (Tabela 5).

**Tabela 5 - Integração de kDNA do *Trypanosoma cruzi* na amostragem do estudo, com origem em três localidades.**

Localidade	Resultado	Negativo		Positivo		Total	
		n	%	n	%	n	%
PA		5	1,9	90	34,0	95	35,8
M/G		11	4,2	25	9,4	36	13,6
DF		12	4,5	122	46,0	134	50,6
<b>Total</b>		<b>28</b>	<b>10,6</b>	<b>237</b>	<b>89,4</b>	<b>265</b>	<b>100,0</b>

A tabela 6 mostra os resultados de PCR com iniciadores do DNA nuclear (nDNA) do *T. cruzi*. Observa-se que 86 (32,5%) dos 265 indivíduos da amostra tiveram os testes nDNA positivos (nDNA+). Nas quatro famílias do PA, 81 casos representaram 30,6% dos 265 participantes e 94,2% dentre os testes nDNA+. Dentre as famílias de Minas Gerais e Goiás, apenas 5 pessoas apresentaram o material nuclear do *T. cruzi*, representando 1,9% da amostra total e 5,8 % dentre os positivos para nDNA. Conforme o critério de seleção do grupo controle do DF, todos os indivíduos tiveram o teste PCR com iniciadores de nDNA negativos (nDNA-). Ou seja, no grupo do DF permaneceram os indivíduos nDNA(-) com testes sorológicos negativos.

**Tabela 6 - Resultado dos testes de PCR para nDNA de *Trypanosoma cruzi* nos indivíduos da amostra, conforme a Localidade.**

Localidade	Negativo		Positivo		Total	
	n	%	n	%	n	%
PA	14	5,3	81	30,6	95	35,8
MG/GO	31	11,7	5	1,9	36	13,6
DF	134	50,6	0	0,0	134	50,6
<b>Total</b>	<b>179</b>	<b>67,5</b>	<b>86</b>	<b>32,5</b>	<b>265</b>	<b>100,0</b>

Os resultados dos testes sorológicos e de PCR foram analisados de acordo com a procedência dos indivíduos da amostra. Como visualizado na tabela 7, o grupo controle, residente no DF, conforme o critério de seleção, teve todos os 134 indivíduos com testes sorológicos e de nDNA negativos, representando respectivamente 57,3% e 74,9% do total de 265 participantes. A maioria dos resultados sorológicos positivos foi do Pará, com 29 (93,5%) indivíduos do total da amostragem. Observa-se que dos 237 exames positivos para kDNA, apenas 86 tinham o nDNA do parasito, e esses casos pertenceram principalmente à população do PA, com 81 (94,2%) testes nDNA+. Entretanto, desses 81 exames nDNA+, apenas 29 (93,5%) tinham nos soros os anticorpos específicos, indicativos da infecção pelo *T. cruzi* e apenas 5, dentre os 95 indivíduos da amostra PA, não tiveram os testes positivos para kDNA e nDNA.

Em relação aos indivíduos da amostragem MG/GO, diferentemente da população do Pará, o número de pessoas com DNA nuclear foi a minoria com 5 indivíduos (5,8%), mantendo o baixo número de sorologia positiva, ou seja, 2 (6,5%) exames, embora a presença de kDNA tenha sido expressiva, com 25 indivíduos dentre os 36 daquela população e representando 10,5% do total. A maioria dos voluntários do DF apresentou a mutação de kDNA no genoma, com 122 exames positivos dos 134 participantes, correspondendo a 51,5% dos 265 indivíduos (Tabela 7).

**Tabela 7 – Resumo dos resultados sorológicos, kDNA e nDNA, de acordo com a localidade.**

Resultado	Sorologia				kDNA				nDNA			
	Negativo		Positivo		Negativo		Positivo		Negativo		Positivo	
Local	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
PA	66	28,2	29	93,5	5	17,9	90	38,0	14	7,8	81	94,2
MG/GO	34	14,5	2	6,5	11	39,3	25	10,5	31	17,3	5	5,8
DF	134	57,3	0	0,0	12	42,9	122	51,5	134	74,9	0	0,0
<b>Total</b>	<b>234</b>	<b>100</b>	<b>31</b>	<b>100</b>	<b>28</b>	<b>100</b>	<b>237</b>	<b>100</b>	<b>179</b>	<b>100</b>	<b>86</b>	<b>100</b>

Em relação aos exames parasitológicos realizados no LMPDC, os resultados de hemocultura e de cultura do espermatozóide, examinados em microscópio óptico mensalmente pelo período de seis meses, foram todos negativos na população do Pará. Nas populações de Minas Gerais, Goiás e do Distrito Federal os exames não foram realizados. Os resultados parasitológicos (QBC, hemocultura e xenodiagnóstico), processados nos indivíduos com quadro de doença de Chagas aguda pela equipe do IEC, estão sinalizados na figura 7.

Com o objetivo de correlacionar as mutações de kDNA com os exames clínicos, bem como observar as manifestações da doença nos portadores da infecção pelo *T. cruzi*, a amostragem foi dividida em grupos, independentes das origens, de acordo com a positividade dos exames de nDNA, kDNA (ambos, ou apenas kDNA) e dos testes sorológicos.

Esses foram considerados como Grupos de Risco com possibilidade de associar alterações nos exames que avaliam a função cardíaca. O grupo G1 possui todos os exames positivos, ou seja, positividade para nDNA (infecção ativa pelo *T. cruzi*), para kDNA (mutação no genoma) e presença de anticorpos específicos para o *T. cruzi*; o grupo G2 difere do G1 apenas pelo resultado negativo de sorologia; o grupo G3 composto de indivíduos que têm apenas a mutação de kDNA; e o grupo G4 com todos os exames negativos.

Na tabela 8, a população da amostragem foi distribuída nos grupos G1 a G4, de acordo com a localidade de origem. Como estabelecido pelo critério de seleção da amostra, o DF não teve representantes dos grupos G1 e G2. Porém, dos 134 participantes, 122 foram incluídos no grupo G3, representando 46,0% do total e apenas 12 (4,5%) indivíduos do DF foram incluídos no grupo G4. Em contraste, os

indivíduos das famílias PA foram incluídos nos grupos G1e G2, respectivamente, com 29 e 52 casos, representando a maioria da amostragem. Finalmente, dos participantes de MG/GO, a maior parte foi representada pelo grupo G3, com 20 (7,5%) indivíduos, seguidos de 11(4,2%) pessoas do grupo G4 .

**Tabela 8 - Distribuição dos indivíduos da amostragem nos Grupos de Risco de acordo com a localidade de origem.**

GR	Localidade		PA		MG/GO		DF		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>G1</b>	29	10,9	2	0,8	0	0,0	31	11,7		
<b>G2</b>	52	19,6	3	1,1	0	0,0	55	20,8		
<b>G3</b>	9	3,4	20	7,5	122	46,0	151	57,0		
<b>G4</b>	5	1,9	11	4,2	12	4,5	28	10,6		
<b>Total</b>	<b>95</b>	<b>35,8</b>	<b>36</b>	<b>13,6</b>	<b>134</b>	<b>50,6</b>	<b>265</b>	<b>100,0</b>		

GR: Grupos de Risco;

Tendo subdividido a população da amostragem em grupos de acordo com gênero, idade, localidade de origem e positividade ou não aos testes de PCR e sorologias, foi feita a tentativa de estabelecer correlação desses achados com os resultados dos exames clínicos. Para isto, foi realizada comparação dos laudos dos exames clínicos com os resultados de sorologia e PCR, com distribuição das avaliações dos exames clínicos pelos grupos formados de acordo com os exames sorológicos e de DNA.

Foram realizados 238 eletrocardiogramas, cujos laudos normais corresponderam a 181 (76,1%) exames e 57 (23,9%) alterados. O grupo G3 apresentou a maioria dos exames normais, com 116 (48,7%) exames. Os grupos com resultado nDNA positivo, com e sem sorologia, ou seja, o G1 e G2, apesar de terem apresentado mais exames normais, representaram a maioria dentre os alterados com 29 exames (Tabela 9).

**Tabela 9 - Frequência do Laudo do Eletrocardiograma por Grupo de Risco.**

GR	ECG	Normal		Alterado		Total	%
		n	%	n	%		
<b>G1</b>		21	8,8%	8	3,4%	29	12,2%
<b>G2</b>		26	10,9%	21	8,8%	47	19,7%
<b>G3</b>		116	48,7%	24	10,1%	140	58,8%
<b>G4</b>		18	7,6%	4	1,7%	22	9,2%
<b>Total</b>		<b>181</b>	<b>76,1%</b>	<b>57</b>	<b>23,9%</b>	<b>238</b>	<b>100,0%</b>

GR: Grupos de Risco; ECG: resultado do eletrocardiograma.

**Tabela 10 - Odds Ratio do Laudo do Eletrocardiograma por Grupo de Risco.**

Cruzamentos	Odds Ratio	Intervalo de Confiança de 95%		P (valor)
		Limite Inferior	Limite Superior	
<b>G1 x G2</b>	0,4717	0,1741	1,2781	0,2117
<b>G1 x G3</b>	1,8413	0,7298	4,6452	0,2965
<b>G1 X G4</b>	1,7143	0,4420	6,6482	0,6547
<b>G2 X G3</b>	3,9038	1,8930	8,0506	0,0003
<b>G2 X G4</b>	3,6346	1,0660	12,3925	0,0621
<b>G3 X G4</b>	0,9310	0,2892	2,9974	0,8544

Na Tabela 10, são visualizados cálculos estatísticos de associação entre os Grupos de Risco para avaliar a probabilidade que um determinado grupo tem em apresentar o laudo eletrocardiográfico alterado. Neste contexto, observa-se que o grupo G2 apresenta 3,9 vezes mais chances do que o grupo G3 de apresentar alteração no laudo do eletrocardiograma, com significância estatística ( $p=0,0003$ ).

Como observado na distribuição dos resultados do eletrocardiograma de acordo com a faixa etária, na tabela 11, os laudos normais são a maioria em todas as idades, mesmo nos idosos. Dentre os 43 exames realizados nas crianças (0 a 12 anos), somente 10 apresentaram alterações, sendo 6 (2,5%) no grupo G2 e 4 (1,7%) no grupo G3 representantes desta faixa etária. Em relação aos adolescentes (13 a 19 anos), todos os grupos apresentaram anormalidades no laudo, embora a maior concentração esteja nos grupos G2, com 3 indivíduos (1,3%) e G3, com 5 adolescentes (2,1%). Os adultos concentraram a maior parte dos exames, tanto os laudos normais, quanto os alterados, com prevalência aos primeiros. Os laudos alterados nesta faixa etária estiveram presentes em todos os grupos, especialmente no G2, com 10 exames (4,2%) e no G3, com 11 indivíduos (4,6%). Quanto aos idosos, a diferença entre os eletrocardiogramas normais, ou seja, 10 (4,2%) e alterados, com 7 (2,9%) exames, foi pequena.



**Tabela 11 – Frequência de alterações do eletrocardiograma por grupo de risco e faixa etária.**

Faixa Etária	0 a 12				13 a 19				20 a 59				60 ou +					
	Resultado		Normal		Alterado		Normal		Alterado		Normal		Alterado		Normal		Alterado	
Grupo	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>G1</b>	6	2,5	0	0,0	3	1,3	1	0,4	7	2,9	6	2,5	5	2,1	1	0,4		
<b>G2</b>	9	3,8	6	2,5	3	1,3	3	1,3	13	5,5	10	4,2	1	0,4	2	0,8		
<b>G3</b>	16	6,7	4	1,7	13	5,5	5	2,1	83	34,9	11	4,6	4	1,7	4	1,7		
<b>G4</b>	2	0,8	0	0,0	1	0,4	1	0,4	15	6,3	3	1,3	0	0,0	0	0,0		
<b>Total</b>	<b>33</b>	<b>13,9</b>	<b>10</b>	<b>4,2</b>	<b>20</b>	<b>8,4</b>	<b>10</b>	<b>4,2</b>	<b>118</b>	<b>49,6</b>	<b>30</b>	<b>12,6</b>	<b>10</b>	<b>4,2</b>	<b>7</b>	<b>2,9</b>		

A Tabela 12 descreve os laudos dos 57 eletrocardiogramas alterados nos 238 indivíduos e os correlaciona com os grupos G1 a G4. Os sinais de repolarização precoce são os mais prevalentes, com 20 exames, seguidos do bloqueio do ramo direito, com 16 exames e alteração difusa da repolarização ventricular. Em relação às alterações do ritmo cardíaco, houve apenas 7 pessoas com bradicardia sinusal e 1 com fibrilação atrial.

**Tabela 12- Tipos de alterações do eletrocardiograma distribuídos nos Grupos G1 a G4.**

Alterações	G1	G2	G3	G4	TOTAL
<b>BS</b>	0	1	5	1	<b>7</b>
<b>TS</b>	0	0	2	0	<b>2</b>
<b>BRD</b>	3	5	8	0	<b>16</b>
<b>OD</b>	0	1	0	0	<b>1</b>
<b>RP</b>	3	11	4	2	<b>20</b>
<b>ARVE</b>	1	1	5	1	<b>8</b>
<b>BDASE + EV</b>	0	1	0	0	<b>1</b>
<b>FA + ARVE</b>	1	0	0	0	<b>1</b>
<b>BRD + BDASE</b>	0	1	0	0	<b>1</b>
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>21</b>	<b>24</b>	<b>4</b>	<b>57</b>

**BS:** bradicardia sinusal, **TS:** taquicardia sinusal, **BRD:** bloqueio do ramo direito, **OD:** onda delta, **RP:** repolarização precoce, **ARVE:** alteração da repolarização do ventrículo esquerdo, **BDASE:** bloqueio divisional ântero-superior esquerdo, **EV:** extrassístoles ventriculares, **FA:** fibrilação atrial.

As alterações no eletrocardiograma descritas acima foram distribuídas pelas faixas etárias. Observa-se que os sinais de repolarização precoce foram a principal ocorrência nas crianças e nos adolescentes. O bloqueio do ramo direito (BRD)

ocorreu na maioria entre os adultos, assim como o único caso de onda delta. Os idosos tiveram relativamente a maioria dos laudos de alteração da repolarização e a totalidade do bloqueio divisional ântero-superior esquerdo, assim como o único caso de fibrilação atrial (Tabela 13).

**Tabela 13- Correlação das alterações do eletrocardiograma com as faixas etárias.**

Alterações no eletrocardiograma	0 a 12	13 a 19	20 a 59	60 ou +	TOTAL
<b>BS</b>	0	2	4	1	<b>7</b>
<b>TS</b>	1	1	0	0	<b>2</b>
<b>BRD</b>	2	1	12	1	<b>16</b>
<b>OD</b>	0	0	1	0	<b>1</b>
<b>RP</b>	7	6	7	0	<b>20</b>
<b>ADRVE</b>	0	0	5	3	<b>8</b>
<b>BDASE + ESV</b>	0	0	0	1	<b>1</b>
<b>FA + ARVE</b>	0	0	0	1	<b>1</b>
<b>BRD + BDASE</b>	0	0	0	1	<b>1</b>
<b>Total</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>29</b>	<b>8</b>	<b>57</b>

**BS:** bradicardia sinusal, **TS:** taquicardia sinusal, **BRD:** bloqueio do ramo direito, **OD:** onda delta, **RP:** repolarização precoce, **ARVE:** alteração da repolarização do ventrículo esquerdo, **BDASE:** bloqueio divisional ântero-superior esquerdo, **ESV:** extrassístoles ventriculares, **FA:** fibrilação atrial.

Na tabela 14, observam-se a frequência e o percentual das alterações de BRD em relação aos normais, excluídas as demais alterações eletrocardiográficas. Dentre os grupos de risco, o G3 apresentou o maior número de BRD, com 7 (3,6%) exames, seguido pelo grupo G2, com 5 (2,6%) e G1, com 3 (1,5%) do total dos 196 exames. Os indivíduos no grupo G4 não tiveram alterações de BRD. Quando aplicado o teste estatístico não houve diferença significativa entre os grupos analisados (Tabela 15).

**Tabela 14 - Distribuição da frequência dos Bloqueios do Ramo Direito pelos Grupos de Risco.**

GR	ECG		Normal		BRD		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>G1</b>	21	10,7	3	1,5	24	12,2		
<b>G2</b>	26	13,3	5	2,6	31	15,8		
<b>G3</b>	116	59,2	7	3,6	123	62,8		
<b>G4</b>	18	9,2	0	0,0	18	9,2		
<b>Total</b>	<b>181</b>	<b>92,3</b>	<b>15</b>	<b>7,7</b>	<b>196</b>	<b>100,0</b>		

**BRD:** bloqueio do ramo direito; **ECG:** laudos do eletrocardiograma; **GR:** Grupos de Risco.

**Tabela 15 – Odds Ratio da frequência de Bloqueios do Ramo Direito distribuído pelos Grupos de Risco.**

Cruzamentos	Odds Ratio	Intervalo de Confiança de 95%		
		Limite Inferior	Limite Superior	P (valor)
<b>G1 x G2</b>	0,7429	0,1588	3,4741	0,9944
<b>G1 x G3</b>	2,3673	0,5664	9,8941	0,4421
<b>G2 X G3</b>	3,1868	0,9372	10,8368	0,1181

A frequência cardíaca (FC), espaço PR (PR) e intervalo QT corrigido (QTc) foram as principais variáveis estudadas e expostas em médias e desvio padrão nos 238 eletrocardiogramas e avaliadas em cada grupo de risco (G1 a G4).

A média da frequência cardíaca em todos os grupos foi de 74,16 batimentos por minuto (bpm), com desvio padrão de  $\pm 15,65$ . A maior média da frequência cardíaca ficou no grupo G2, com 80,62 bpm, e a menor, no G4, com 67,73 bpm. Na avaliação estatística, o grupo G2 apresentou diferença estatisticamente significativa em relação aos grupos G3 e G4 (Tabela 16).

**Tabela 16 - Média e desvio padrão da frequência cardíaca nos Grupos de Risco.**

Grupo de Risco	Média	DP		n
<b>G1</b>	77,41	$\pm$ 22,40	a b	29
<b>G2</b>	80,62	$\pm$ 17,93	b	47
<b>G3</b>	72,41	$\pm$ 13,01	a	140
<b>G4</b>	67,73	$\pm$ 10,16	a	22
<b>Total</b>	<b>74,16</b>	<b><math>\pm</math> 15,65</b>		<b>238</b>

Letra minúscula diferente na coluna representa diferença estatística ao nível de 0,05. ANOVA e Tukey.

A média do intervalo PR também foi avaliada segundo os Grupos de Risco, cujo valor com desvio padrão de toda amostragem foi de  $0,136s \pm 0,028$ . Quando aplicados testes estatísticos, houve diferença significativa somente entre os grupos G2 e G3 (Tabela 17).

**Tabela 17 - Média e Desvio Padrão do Intervalo PR nos Grupos de Risco.**

Grupo de Risco	Média		DP		n
<b>G1</b>	0,139	±	0,031	a b	29
<b>G2</b>	0,124	±	0,025	a	47
<b>G3</b>	0,140	±	0,026	b	140
<b>G4</b>	0,131	±	0,028	a b	22
<b>Total</b>	<b>0,136</b>	<b>±</b>	<b>0,028</b>		<b>238</b>

Letra minúscula diferente na coluna representa diferença estatística ao nível de 0,05. ANOVA e Tukey.

A média do intervalo QTc em toda população foi 0,313s, com desvio padrão de  $\pm 0,03$ . Como observado, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Tabela 18).

**Tabela 18 - Média e Desvio Padrão do intervalo QTc nos Grupos de Risco.**

Grupo de Risco	Média		DP		n
<b>G1</b>	0,315	±	0,033	a	29
<b>G2</b>	0,319	±	0,023	a	47
<b>G3</b>	0,311	±	0,032	a	140
<b>G4</b>	0,311	±	0,030	a	22
<b>Total</b>	<b>0,313</b>	<b>±</b>	<b>0,030</b>		<b>238</b>

Letra minúscula diferente na coluna representa diferença estatística ao nível de 0,05. ANOVA e Tukey.

Foram realizados 222 testes ergométricos (TE) e associados aos grupos de risco G1 a G4. Como observado na tabela 19, a maioria dos laudos foi normal, com 206 (92,8%) exames, distribuídos dessa maneira em todos os grupos do estudo. O grupo que apresentou maior número de exames normal foi o G3, com 118 (53,2%) participantes, assim como dentre os alterados, com 8 (3,6%) exames. Quando aplicado o teste estatístico, não houve diferença significativa nos grupos analisados (Tabela 20).

**Tabela 19 - Distribuição da frequência do resultado do Teste Ergométrico nos Grupos de Risco.**

GR	TE	Normal		Alterado		Total	%
		n	%	n	%		
G1		26	11,7	1	0,5	27	12,2
G2		44	19,8	5	2,3	49	22,1
G3		118	53,2	8	3,6	126	56,8
G4		18	8,1	2	0,9	20	9,0
Total		206	92,8	16	7,2	222	100,0

TE: teste ergométrico; GR: Grupos de Risco.

**Tabela 20 - Odds Ratio da frequência de alterações do Teste Ergométrico nos Grupos de Risco.**

Cruzamentos	Odds Ratio	Intervalo de Confiança de 95%		P (valor)
		Limite Inferior	Limite Superior	
G1 x G2	0,3385	0,0375	3,0581	0,5746
G1 x G3	0,5673	0,0680	4,7349	0,9366
G1 X G4	0,3462	0,0291	4,1112	0,7875
G2 X G3	1,6761	0,5203	5,3993	0,5809
G2 X G4	1,0227	0,1815	5,7638	0,6789
G3 X G4	0,6102	0,1199	3,1048	0,9013

Na tabela 21, os laudos alterados do teste ergométrico foram confrontados com as faixas etárias da população e distribuídos entre os Grupos de Risco. As alterações foram observadas somente nas faixas dos adultos e dos idosos, com maior número entre os adultos, com 12 (75,0%) exames. Dentre os Grupos de Risco, o G3 apresentou mais exames alterados, com prevalência à faixa de 20 a 59 anos de idade, com 7 (43,8%) exames. Entre os grupos com infecção por *T. cruzi*, o G1 teve somente um exame alterado, nos idosos e o G2 em ambas as faixas etárias, com ligeira predileção nos adultos, com 3 (18,8%) exames dos 12 nesta faixa etária. Não houve diferença estatística entre os grupos analisados.

**Tabela 21 – Distribuição dos laudos alterados do Teste Ergométrico de acordo com o Grupo de Risco e Faixa Etária.**

GR	Faixa etária	20 a 59		60 ou +		Total	
		n	%	n	%	n	%
	<b>G1</b>	0	0,0	1	6,3	1	6,3
	<b>G2</b>	3	18,8	2	12,5	5	31,3
	<b>G3</b>	7	43,8	1	6,3	8	50,0
	<b>G4</b>	2	12,5	0	0,0	2	12,5
	<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>75,0</b>	<b>4</b>	<b>25,0</b>	<b>16</b>	<b>100,0</b>

GR: Grupo de Risco.

As principais variáveis do teste ergométrico utilizadas neste estudo foram o VO<sub>2</sub> Máximo, que representa a maior quantidade de consumo de oxigênio durante o exercício dinâmico, e o equivalente metabólico (MET) que significa a unidade de captação de oxigênio durante o esforço físico, sobre os quais é possível estimar a capacidade física cardiovascular do indivíduo. Foram avaliadas as médias, com desvio padrão correspondentes a cada Grupo de Risco, e aplicada análise de variância entre os dados.

A média total do VO<sub>2</sub> Máximo foi 38,03 mL/Kg/min, com desvio padrão de  $\pm$  13,28. O grupo G4 apresentou a maior média de VO<sub>2</sub> Máximo com 46,13 $\pm$ 12,57 mL/Kg/min e os grupos G1 e G2 tiveram resultados semelhantes. O grupo de menor valor foi o G3, com 33,96  $\pm$  9,13 mL/Kg/min, cujo resultado apresentou diferença estatística significativa em relação aos demais grupos (Tabela 22).

**Tabela 22 - Média e desvio padrão de VO<sub>2</sub> máximo (mL/Kg/min ) nos Grupos de Risco.**

Grupo de Risco	Média		DP		n
<b>G1</b>	42,33	$\pm$	16,70	a	27
<b>G2</b>	42,95	$\pm$	16,70	a	49
<b>G3</b>	33,96	$\pm$	9,13	b	128
<b>G4</b>	46,13	$\pm$	12,57	a	20
<b>Total</b>	<b>38,03</b>	$\pm$	<b>13,28</b>		<b>224</b>

Letra minúscula diferente na coluna representa diferença estatística ao nível de 0,05. ANOVA e Tukey.

A média geral de MET entre os Grupos de Risco foi 10,85  $\pm$  3,77. Do mesmo modo que o VO<sub>2</sub> Máximo, os grupos G1 e G2 tiveram resultados semelhantes e o grupo G4 apresentou o melhor resultado, com média de 13,14 e desvio padrão de  $\pm$

3,61. O grupo G3 foi o que apresentou menor valor ( $9,70 \pm 2,61$ ), estatisticamente significativa (Tabela 23).

**Tabela 23 - Média e Desvio Padrão de MET nos Grupos de Risco.**

Grupo de risco	Média		DP		n
G1	12,09	±	4,76	a	27
G2	12,31	±	4,72	a	48
G3	9,70	±	2,61	b	128
G4	13,14	±	3,61	a	20
<b>Total</b>	<b>10,85</b>	<b>±</b>	<b>3,77</b>		<b>223</b>

Letra minúscula diferente na coluna representa diferença estatística ao nível de 0,05. ANOVA e Tukey.

Com o intuito de avaliar a capacidade funcional dos participantes, segundo as recomendações da *American Heart Association* (AHA), foi necessário analisar a medida do  $VO_2$  máximo de acordo com o gênero e a idade, haja vista esses fatores terem influência nos referidos exames. Os resultados foram comparados entre os Grupos de Risco conforme demonstração a seguir na tabela 24. Como essa avaliação é recomendada a partir dos vinte anos de idade, as populações de crianças e adolescentes foram excluídas desta classificação.

Como observado na tabela 24, o gênero feminino teve média geral de  $VO_2$  máximo de  $33,93 \pm 8,16$  mL/Kg/min na faixa etária de 20 a 59 anos e de  $23,38 \pm 5,27$  nas idosas. Quanto ao gênero masculino, a faixa dos adultos teve resultado de  $VO_2$  máximo calculado de  $42,93 \pm 11,14$  mL/Kg/min e nos idosos média de  $30,94 \pm 12$  mL/Kg/min. Não houve diferença estatística entre os Grupos de Risco avaliados.

**Tabela 24 – Valores de média e desvio padrão do  $VO_2$ MAX (L/min-1) de acordo com os gêneros e faixas etárias distribuídos pelos Grupos de Risco.**

Idade	20 a 59						60 ou +					
	Feminino			Masculino			Feminino			Masculino		
GR	M	DP	n	M	DP	n	M	DP	n	M	DP	n
G1	40,00	± 7,56	a; A 7	47,76	± 15,70	a; A 5	18,83	± 5,47	a; A 4	41,76	±	a; A 1
G2	35,20	± 12,93	a; A 10	48,74	± 11,86	a; A 15	26,97	± 1,32	a; A 2	25,06	±	a; A 1
G3	32,80	± 6,98	a; A 56	38,06	± 7,03	a; A 36	26,13	± 2,56	a; A 4	29,29	± 14,79	a; A 3
G4	36,05	± 7,47	a; A 4	47,51	± 12,75	a; A 14						
<b>Total</b>	<b>33,93</b>	<b>± 8,16</b>	<b>77</b>	<b>42,93</b>	<b>± 11,14</b>	<b>70</b>	<b>23,38</b>	<b>± 5,27</b>	<b>10</b>	<b>30,94</b>	<b>± 12,22</b>	<b>5</b>

GR: Grupos de Risco; M: Média; DP: Desvio Padrão; n: número absoluto.

Ao analisarmos os resultados do eletrocardiograma dinâmico de 24h (holter 24h), obtivemos laudos normais em 42 (20,1%) e laudos alterados em 167 (79,9%) dos 209 exames. O maior número de alterações foi observado no grupo G3, com 93 (44,5%) exames, cujo número de participantes foi maior, seguidos pelo grupo G2, com 40 exames alterados, representando 19,1% do total (Tabela 25).

**Tabela 25 - Frequência do laudo holter 24h por Grupo de Risco.**

GR	Resultado	Normal		Alterado		Total	%
		n	%	n	%		
	<b>G1</b>	5	2,4	20	9,6	25	12,0
	<b>G2</b>	11	5,3	40	19,1	51	24,4
	<b>G3</b>	24	11,5	93	44,5	117	56,0
	<b>G4</b>	2	1,0	14	6,7	16	7,7
	<b>Total</b>	<b>42</b>	<b>20,1</b>	<b>167</b>	<b>79,9</b>	<b>209</b>	<b>100,0</b>

GR: Grupo de Risco.

Quando aplicado o teste estatístico (*Odds Ratio*) entre os Grupos de Risco, não houve diferença estatisticamente significativa em relação à probabilidade do holter ser alterado em determinado grupo (Tabela 26).

**Tabela 26 – Odds Ratio do laudo holter 24h por Grupo de Risco.**

Cruzamentos	OddsRatio	Intervalo de Confiança de 95%		P (valor)
		Limite Inferior	Limite Superior	
<b>G1 x G2</b>	1,1	0,3361	3,6	0,8875
<b>G1 x G3</b>	1,323	0,3513	3,0332	0,8231
<b>G1 X G4</b>	0,5714	0,0967	3,3763	0,8437
<b>G2 X G3</b>	0,9384	0,4199	2,0972	1,0000
<b>G2 X G4</b>	0,5195	0,1023	2,638	0,6614
<b>G3 X G4</b>	0,5536	0,0118	2,6032	0,6730

Na tabela 27, as faixas etárias foram também associadas aos Grupos de Risco e às alterações encontradas no holter 24h. Apesar de não ter havido diferença estatisticamente significativa entre os grupos, observa-se que a frequência dos holters alterados foi maior nos adultos (20 a 59 anos), com 100 (47,8 %) exames, desses a maioria concentrada no grupo G3 com 62 (29,7%) exames. Não houve representante do grupo G4 nas faixas etárias das crianças, adolescentes e idosos. Na população das crianças (0 a 12 anos) todos os exames foram alterados nos



grupos G1, e nos grupos G2 e G3 a maior proporção foi de alterados, com 15 (7,2%) e 9 (4,3%) exames respectivamente. Os adolescentes também manifestaram proporção semelhante, embora com exatos 2 componentes alterados e normais no grupo G1 (1,0%). Os idosos apresentaram o holter alterado em todos os Grupos de Risco, com ligeira predileção ao G3, com 7 (3,3 %) exames.

**Tabela 27 - Frequência do resultado do Holter por Grupo de Risco e Faixa Etária.**

Faixa Etária	0 a 12				13 a 19				20 a 59				60 ou +					
	Resultado		N		A		N		A		N		A		N		A	
Grupo	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>G1</b>	0	0,0	4	1,9	2	1,0	2	1,0	3	1,4	8	3,8	0	0,0	6	2,9		
<b>G2</b>	2	1,0	15	7,2	1	0,5	5	2,4	8	3,8	16	7,7	0	0,0	4	1,9		
<b>G3</b>	3	1,4	9	4,3	1	0,5	15	7,2	20	9,6	62	29,7	0	0,0	7	3,3		
<b>G4</b>	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	1,0	14	6,7	0	0,0	0	0,0		
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>2,4</b>	<b>28</b>	<b>13,4</b>	<b>4</b>	<b>1,9</b>	<b>22</b>	<b>10,5</b>	<b>33</b>	<b>15,8</b>	<b>100</b>	<b>47,8</b>	<b>0</b>	<b>0,0</b>	<b>17</b>	<b>8,1</b>		

GR: Grupos de Risco.

Dentre as 167 (79,9%) anormalidades observadas no laudo do holter, destaca-se a presença de arritmias. As arritmias mais frequentes foram as supraventriculares, com 97 (58,1%) exames, seguidas pelo conjunto de ventriculares e supraventriculares, com 48 (28,7%) exames e por fim pelas ventriculares, com 18 (10,8%) exames. Houve somente uma ocorrência de pausa atrioventricular combinada com a presença de extrassístole ventricular (Tabela 28). As arritmias supraventriculares foram representadas na maioria por extrassístoles supraventriculares (ESV) e raras taquicardias, em geral atriais e não sustentadas. Em relação às arritmias ventriculares, as mais frequentes foram as extrassístoles ventriculares (EV) classificadas como monomórficas e isoladas. Não houve registro de taquicardia ventricular dentre os avaliados.

**Tabela 28 – Frequência das alterações observadas no holter 24h.**

Laudo Holter 24h	n	%
<b>Presença de arritmia ventricular</b>	18	10,8
<b>Presença de arritmia supraventricular</b>	97	58,1
<b>Presença de arritmia ventricular e supraventricular</b>	48	28,7
<b>Ineficaz</b>	3	1,8
<b>Arritmia ventricular e pausa atrioventricular</b>	1	0,6

<b>Total</b>	<b>167</b>	<b>100,0</b>
--------------	------------	--------------

A densidade das ESV e EV por hora detectada no holter 24h foi avaliada segundo os Grupos de Risco. Na tabela 29, observa-se em relação às ESV isoladas por Grupo de Risco que a média em todos os grupos foi 11,39/h com desvio padrão de  $\pm 34,80$ . A maioria das ESV ficou concentrada nos grupos G1 e G2, com diferença estatística entre os grupos.

**Tabela 29 - Média e Desvio Padrão da Densidade das Extrassístoles Supraventriculares Isoladas por Grupo de Risco.**

GR	Média		DP		n
<b>G1</b>	12,66	±	25,93	a, b	18
<b>G2</b>	25,65	±	60,63	b	35
<b>G3</b>	6,21	±	17,81	a	80
<b>G4</b>	0,64	±	0,96	a, b	10
<b>Total</b>	<b>11,39</b>	<b>±</b>	<b>34,80</b>		<b>143</b>

Letra minúscula diferente na coluna representa diferença estatística ao nível de 0,05. ANOVA e Tukey. **GR**: Grupo de Risco.

A densidade das Extrassístoles Ventriculares (EV) isoladas por hora no holter 24h foram analisadas segundo os Grupos de Risco. A média e desvio padrão de todos os grupos foi  $4,26 \pm 10,81$  por hora. Nesta análise não houve diferença estatística entre os grupos.

**Tabela 30 - Média e Desvio Padrão da Densidade das Extrassístoles Ventriculares Isoladas por Grupo de Risco.**

GR	Média		DP		n
<b>G1</b>	2,95	±	3,60	a	10
<b>G2</b>	1,33	±	2,11	a	12
<b>G3</b>	5,94	±	14,59	a	32
<b>G4</b>	3,55	±	4,64	a	8
<b>Total</b>	<b>4,26</b>	<b>±</b>	<b>10,81</b>		<b>62</b>

Letra minúscula diferente na coluna representa diferença estatística ao nível de 0,05. ANOVA e Tukey; **GR**: Grupo de Risco.

Quanto à densidade das taquicardias supraventriculares avaliadas quanto aos Grupos de Risco, a média total ficou em 1,82 ocorrências por hora, sem diferença significativa entre os grupos (Tabela 31). Neste cálculo o grupo G4 não foi incluído devido ter apenas dois componentes.

**Tabela 31 - Média e Desvio Padrão da Densidade das Taquicardias Supraventriculares por Grupo de Risco.**

GR	Média		DP		n
G1	2,10	±	3,50	a	11
G2	2,03	±	3,32	a	29
G3	1,31	±	3,00	a	15
G4*	0,04	±		a	1
<b>Total</b>	<b>1,82</b>	<b>±</b>	<b>3,21</b>		<b>56</b>

Letra minúscula diferente na coluna representa diferença estatística ao nível de 0,05. ANOVA e Tukey; **GR**: Grupo de Risco; \* O G4 não foi utilizado na comparação por ter menos de 2 casos na amostragem.

A tabela 32 demonstra os laudos do ecodopplercardiograma analisados e correlacionados com os Grupos de Risco. De um modo geral, os exames alterados corresponderam a 64 (29,6 %) dos 216 exames. Desses, os mais prevalentes pertenceram ao grupo G3, com 41 exames e 19,0% dos casos. Os demais, por ordem decrescente, foram o grupo G1, com 9 (4,2%), G4, com 8 (3,7%) e G2 com 6 (2,8%) exames. Apesar das diferenças na frequência, não houve resultado estatisticamente significativo entre os grupos (Tabela 33).

**Tabela 32 - Frequência do resultado do ecodopplercardiograma por Grupo de Risco.**

GR	Resultado	Normal		Alterado		Total	
		n	%	n	%	Total	%
G1		18	8,3%	9	4,2%	27	12,5%
G2		30	13,9%	6	2,8%	36	16,7%
G3		89	41,2%	41	19,0%	130	60,2%
G4		15	6,9%	8	3,7%	23	10,6%
<b>Total</b>		<b>152</b>	<b>70,4%</b>	<b>64</b>	<b>29,6%</b>	<b>216</b>	<b>100,0%</b>

**Tabela 33 – Odds Ratio do ecodopplercardiograma por Grupo de Risco.**

Cruzamentos	OddsRatio	Intervalo de Confiança de 95%		P (valor)
		Limite Inferior	Limite Superior	
G1 x G2	2,5000	0,7630	8,1918	0,2161
G1 x G3	1,0854	0,4495	2,6208	1,0000

<b>G1 X G4</b>	0,9375	0,2900	3,0305	0,8415
<b>G2 X G3</b>	0,4341	0,1677	1,1242	0,1229
<b>G2 X G4</b>	0,3750	0,1100	1,2786	0,2003
<b>G3 X G4</b>	0,8638	0,3393	2,1989	1,0000

Quando os laudos do ecodopplercardiograma foram confrontados entre os Grupos de Risco e as faixas etárias, os resultados alterados foram mais frequentes na população de 20 a 59 anos, com 36 (16,7%) exames, enquanto que os menos frequentes pertenceram à população de crianças, com 6 (2,8 %) e adolescentes, com 8 (3,7%) exames. O grupo G3, com maior número de exames alterados, reteve sua maioria na faixa etária dos adultos, com 23 (10,6%). O grupo G1 só não teve o exame alterado na faixa dos adolescentes e a maior incidência de anormalidades foi nas faixas dos adultos e idosos, com igualmente 4(1,9%) exames em cada faixa. O grupo G2 demonstrou resultados alterados iguais nas crianças e adolescentes, com 1 (0,5%) exame em cada, assim como entre os adultos e idosos, com 2 (0,9%) exames alterados em cada faixa. O G4 só apresentou anormalidades na faixa adulta, com 7 (3,2%) e dos idosos, com 1 (0,5%) exames (Tabela 34). Esses resultados não apresentaram diferença estatisticamente significativa.

**Tabela 34 – Frequência do resultado do Ecodopplercardiograma por Grupo de Risco e por Faixa Etária.**

Faixa Etária	0 a 12				13 a 19				20 a 59				60 ou +					
	Resultado		N		A		N		A		N		A		N		A	
Grupo	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	N	%	n	%	n	%	n	%
<b>G1</b>	6	2,8	1	0,5	4	1,9	0	0,0	6	2,8	4	1,9	2	0,9	4	1,9		
<b>G2</b>	9	4,2	1	0,5	4	1,9	1	0,5	16	7,4	2	0,9	1	0,5	2	0,9		
<b>G3</b>	13	6,0	4	1,9	10	4,6	7	3,2	65	30,1	23	10,6	1	0,5	7	3,2		
<b>G4</b>	1	0,5	0	0,0	1	0,5	0	0,0	13	6,0	7	3,2	0	0,0	1	0,5		
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>13,4</b>	<b>6</b>	<b>2,8</b>	<b>19</b>	<b>8,8</b>	<b>8</b>	<b>3,7</b>	<b>100</b>	<b>46,3</b>	<b>36</b>	<b>16,7</b>	<b>4</b>	<b>1,9</b>	<b>14</b>	<b>6,5</b>		

As alterações mais frequentes observadas nos laudos do ecodopplercardiograma pertenceram ao grupo G3, tais como as valvulopatias, que representaram a maioria, com 33 (15,3%) exames e disfunção diastólica grau I, em 4 (1,9 %) exames. Dentre as valvulopatias, a maioria foi de insuficiência discreta, em geral na válvula mitral e/ou tricúspide caracterizada como padrão fisiológico e poucas vezes com espessamento valvar (uma pessoa) ou subvalvar (duas pessoas) e outras de caráter degenerativo fisiológico em válvula aórtica com calcificação. A

presença de derrame pericárdico foi de pequeno volume e ocorreu nos grupos G1 e G3, em apenas duas pessoas, assim como a discinesia ventricular esquerda. Outros diagnósticos foram a ocorrência de um indivíduo com dilatação apical do ventrículo esquerdo, pertencente ao grupo G4, um indivíduo com ectasia da artéria aorta pertencente ao grupo G1 e, em dois participantes do grupo G3, foi descrito aneurisma do septo interatrial, sem repercussão hemodinâmica e sem significado patológico (Tabela 35).

**Tabela 35 - Principais anormalidades encontradas nos laudos do ecodoppler cardiograma de acordo com o Grupo de Risco.**

Laudo	G1		G2		G3		G4		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Normal	18	8,3	30	13,9	89	41,2	15	6,9	152	70,4
Derrame pericárdico	1	0,5	0	0,0	1	0,5	0	0,0	2	0,9
Valvulopatias	6	2,8	3	1,4	33	15,3	4	1,9	46	21,3
Disfunção diastólica	1	0,5	2	0,9	4	1,9	3	1,4	10	4,6
Discinesia ventricular	0	0,0	1	0,5	1	0,5	0	0,0	2	0,9
Outros	1	0,5	0	0,0	2	0,9	1	0,5	4	1,9
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>12,5</b>	<b>36</b>	<b>16,7</b>	<b>130</b>	<b>60,2</b>	<b>23</b>	<b>10,6</b>	<b>216</b>	<b>100,0</b>

As alterações ecodoppler cardiográficas foram avaliadas segundo as idades nas populações estudadas. Todas as alterações citadas foram descritas em todas as faixas etárias com exceção da discinesia ventricular esquerda, a qual não ocorreu nas crianças e nos adolescentes. A maior incidência das valvulopatias ocorreu na faixa etária dos adultos, com 27 (12, 5%) ocorrências (Tabela 36).

**Tabela 36 - Principais anormalidades encontradas nos laudos do ecodoppler cardiograma de acordo com a faixa etária.**

Laudo	0 a 12		13 a 19		20 a 59		60 ou +		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Normal	29	13,4	19	8,8	100	46,3	4	1,9	152	70,4
Derrame pericárdico	1	0,5	0	0,0	1	0,5	0	0,0	2	0,9
Valvulopatias	3	1,4	6	2,8	27	12,5	10	4,6	46	21,3
Disfunção diastólica	1	0,5	1	0,5	6	2,8	2	0,9	10	4,6
Discinesia ventricular	0	0,0	0	0,0	1	0,5	1	0,5	2	0,9
Outros	1	0,5	1	0,5	1	0,5	1	0,5	4	1,9
<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>16,2</b>	<b>27</b>	<b>12,5</b>	<b>136</b>	<b>63,0</b>	<b>18</b>	<b>8,3</b>	<b>216</b>	<b>100,0</b>

As principais variáveis calculadas no ecodopplercardiograma foram o Diâmetro Diastólico do Ventrículo Esquerdo (DDVE) e a Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (FEVE), aqui expressas em valores de média e desvio padrão (DP) para comparação com os Grupos de Risco. O DDVE, que representa o volume diastólico do ventrículo esquerdo durante o ciclo cardíaco, foi no geral de  $44,53 \pm 6,04$  mm sem diferença estatística entre os grupos G1 e G2. Entretanto, foi observada diferença estatística significativa entre os grupos G1 e G2 comparados aos grupos G3 e G4, com valores menores aos primeiros grupos (Tabela 37).

**Tabela 37 - Média e Desvio Padrão de DDVE por Grupo de Risco.**

Grupo de Risco	Média		DP		n
<b>G1</b>	40,38	±	6,43	a	26
<b>G2</b>	41,77	±	6,62	a	36
<b>G3</b>	45,75	±	5,48	b	128
<b>G4</b>	46,61	±	4,01	b	23
<b>Total</b>	<b>44,53</b>	<b>±</b>	<b>6,04</b>		<b>213</b>

Letra minúscula diferente na coluna representa diferença estatística ao nível de 0,05. ANOVA e Tukey.

Nas análises das FEVE, a média e desvio padrão de todos os grupos foi de  $68,77 \pm 5$  %. Não houve diferença estatística entre os grupos G1, G2 e G4, porém teve diferença do grupo G3 em relação aos grupos G1 e G2, mas não em relação ao G4, cujo número de representantes foi muito pequeno (Tabela 38).

**Tabela 38 - Média e Desvio Padrão de FEVE por Grupo de Risco.**

Grupo	Média		DP		n
<b>G1</b>	66,72	±	4,03	a	26
<b>G2</b>	65,68	±	6,29	a	36
<b>G3</b>	70,13	±	4,29	b	128
<b>G4</b>	69,26	±	4,30	a b	23
<b>Total</b>	<b>68,77</b>	<b>±</b>	<b>5,00</b>		<b>213</b>

Letra minúscula diferente na coluna representa diferença estatística ao nível de 0,05. ANOVA e Tukey.

Como o objetivo principal desta tese foi associar os achados clínicos encontrados nos exames cardiovasculares com os resultados de mutação de kDNA, foi realizada análise comparativa entre as alterações observadas no eletrocardiograma, teste ergométrico e ecodopplercardiograma com os resultados de

*tp*TAIL-PCR e sequenciamento dos clones obtidos nos estudos de Hecth (2008) com os indivíduos de Minas Gerais e Goiás e Araújo (2012) com a amostragem do Pará.

Na tabela 39 são observadas as associações entre os achados de BRD encontrados nos eletrocardiogramas com os cromossomos nas populações estudadas. O cromossomo de maior expressão foi o X, com frequência de 14 (29,2%), seguido por cromossomos indeterminados, com frequência de 7 (14,6 %) e no cromossomo 7, com 6 (12,5 %) ocorrências. Na tabela 40, estão descritas as demais alterações eletrocardiográficas e suas correlações com os achados de *tp*TAIL-PCR, com o cromossomo X na maioria das mutações de kDNA observadas, com 12 (38,7%) ocorrências, seguidos por cromossomos indeterminados.

Dentre os *loci* observados nas alterações dos exames cardiovasculares nas populações do PA e MG/GO, a maioria está associada ao retrotransposon LINE-1, sendo que no Pará cinco estão correlacionados ao gene olfatório OR 1-17 (Apêndices E- J).

**Tabela 39 - Associação das mutações de minicírculos de kDNA no eletrocardiograma com Bloqueio do Ramo Direito dos participantes do Pará, Minas Gerais e Goiás.**

Cromossomo	N	%
1	2	4,2
2	1	2,1
3	2	4,2
5	1	2,1
6	1	2,1
7	6	12,5
8	3	6,3
9	3	6,3
11	2	4,2
12	2	4,2
16	1	2,1
20	2	4,2
Indeterminado	7	14,6
X	14	29,2
Y	1	2,1
<b>Total</b>	<b>48</b>	<b>100,0</b>

**Tabela 40 - Associação das mutações de minicírculos de kDNA com outras alterações descritas no Eletrocardiograma dos participantes do Pará, Minas Gerais e Goiás.**

<b>Cromossomo</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
1	1	3,2
2	1	3,2
3	1	3,2
4	1	3,2
5	2	6,5
7	2	6,5
8	2	6,5
10	1	3,2
11	2	6,5
16	1	3,2
20	1	3,2
Indeterminado	4	12,9
X	12	38,7
<b>Total</b>	<b>31</b>	<b>100,0</b>

Conforme descrito na tabela 41, do total das alterações descritas no teste ergométrico de indivíduos do PA e MG/GO, o cromossomo X foi o mais incidente, com 7 (36,8%) ocorrências, seguidos pelos cromossomos 8 e 15, com 3 (15,8%) mutações em cada um.

**Tabela 41 - Associação das mutações de kDNA com as alterações descritas no Teste Ergométrico das populações do PA e MG/GO.**

<b>Cromossomo</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
1	2	10,5
5	1	5,3
7	1	5,3
8	3	15,8
15	3	15,8
X	7	36,8
Indeterminado	2	10,5
<b>Total</b>	<b>19</b>	<b>100,0</b>

Quanto aos laudos alterados do ecodopplercardiograma das populações das famílias (PA e MG/GO), os cromossomos X e 7 foram os que apresentaram maior



frequência de integração de kDNA, com 27 (37,5%) e 10 (13,9%), respectivamente (Tabela 42).

**Tabela 42 - Associação das mutações de minicírculos de kDNA com alterações descritas no Ecodopplercardiograma dos participantes do Pará, Minas Gerais e Goiás.**

<b>Cromossomo</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
1	1	1,4%
2	2	2,8%
3	2	2,8%
5	2	2,8%
6	4	5,6%
7	10	13,9%
8	4	5,6%
9	2	2,8%
10	1	1,4%
11	2	2,8%
12	2	2,8%
14	1	1,4%
15	5	6,9%
16	2	2,8%
X	27	37,5%
<b>Indeterminado</b>	5	6,9%
<b>Total</b>	<b>72</b>	<b>100,0%</b>

Em relação ao holter, como a densidade das arritmias foi baixa, e a distribuição entre os Grupos de Risco foi sem significância estatística, não fizemos a associação com os genes e ou cromossomos que continham sequências de kDNA integradas. Entretanto, a descrição entre os tipos de arritmia e o Grupo de Risco está detalhada no Apêndice K.

As associações entre as alterações do eletrocardiograma, teste ergométrico e Ecodopplercardiograma com as mutações de kDNA de acordo com os Grupos de Risco estão visualizadas respectivamente nos apêndices L, M e N. Conforme observado no Apêndice L, relacionado às alterações no eletrocardiograma, a maior incidência de mutações de kDNA ocorreu no cromossomo X, com o total de 22 (31,8%). Dentre estas, os Grupos de Risco G1 e G2 obtiveram respectivamente 13 mutações, sendo 5 no cromossomo X (38,46%) e 39 mutações, sendo 15 (38,46%)

no cromossomo X. O grupo G3 registrou 17 mutações, entretanto a maioria (29,41%) no cromossomo 7.

No Apêndice M são observadas as mutações de kDNA encontradas nos testes ergométricos alterados, cuja maioria foi novamente no cromossomo X, com 7 (35%) ocorrências, sendo das 4 mutações encontradas no grupo G1, 2 foram no cromossomo X e 2 em cromossomos indeterminados. No grupo G2, das 12 mutações encontradas, 3 (25%) ocorreram no cromossomo 15 e 3 (25%) no cromossomo X e no grupo G3, das 4 mutações observadas, 2 (50%) ocorreram no cromossomo X.

Os achados alterados no ecodopplercardiograma foram relacionados às mutações de kDNA descritas no apêndice N, cuja maioria acometeu o cromossomo X, com 27 (38,03%) ocorrências, sendo 7(25,93%) no Grupo de Risco G1, 10 (35,71%) no grupo G2 e 10 (62,5%) no G3.

## 6 DISCUSSÃO

Estudos populacionais com base em amostragem requerem critérios metodológicos definidos de acordo com o problema abordado. No caso da doença de Chagas, com objetivo principal de avaliação da frequência de distribuição de uma determinada manifestação clínica, tal como resposta ao tratamento, é necessária definição de critérios para análises associativas dos aspectos nosológicos que variam de acordo com a fase aguda ou crônica das infecções pelo *T. cruzi*, com formas clínicas indeterminadas ou determinadas (Pinto e cols, 2013; Lana e cols., 2009; Castro e cols, 2001).

Tendo em conta essas características, o presente estudo teve como objetivo principal associar achados clínicos com as mutações de kDNA introduzidas pelo *T. cruzi* no genoma dos pacientes. Como esta premissa inclui achados de genética molecular associados à clínica da doença de Chagas, sem antecedente de publicação prévia, a metodologia do estudo criou critérios próprios de seleção da amostragem de estudo em famílias com características epidemiológicas diferenciadas em ecossistemas distantes do território brasileiro, de forma a compor heredograma e selecionar grupo controle a partir de premissa da exclusão *a priori* de infecção pelo *T. cruzi*. Considerando que a unidade replicativa da sociedade humana é a família, o estudo conduzido em municípios do Pará incluiu quatro famílias, enquanto que os demais agrupamentos de pessoas da amostragem do estudo tiveram critérios de seleção com base de antecedentes reconhecidos de doença de Chagas nos parentais (MG/GO), ou, em condição diametralmente oposta, a ausência de infecção reconhecida por exame laboratorial (DF).

Na seleção da amostragem do PA, o conhecimento de casos autóctones com manifestação aguda da doença de Chagas na mesma família foi critério de seleção que permitiu a construção dos heredogramas. A escolha reflete a seleção por conveniência. Nas famílias, as progênes oferecem a oportunidade de análise da herança genética das características entre espécies e das transferências horizontal e vertical das mutações de kDNA do *T. cruzi* que foram introduzidas no genoma humano (Araujo, 2012; Hecht e cols, 2010).

As famílias MG/GO compunham pequenos agregados humanos, mas o critério de seleção com base em parentais chagásicos também permitiu análises

genéticas sobre os tipos de herança referidos para a população do Pará. Por outro lado, a população do Distrito Federal concentrou adultos selecionados aleatoriamente, apenas cuidando-se de excluir com teste sorológico positivo para o *T. cruzi*. A distribuição das pessoas da amostragem por faixas etárias também reflete o aspecto aleatório da escolha, visto que a maior parte das crianças e adolescentes estava concentrada na população do PA, enquanto que nas demais localidades houve predominância de adultos.

A população da amostragem revelou que a grande maioria de exames sorológicos foi negativa para a infecção pelo *T. cruzi* (234 casos negativos, 88,3%) nas pessoas das três localidades. Há de se considerar que este resultado está influenciado pelo critério de escolha da população do DF, ou seja, informação prévia de teste sorológico negativo. Porém, aquele número também foi influenciado pelos testes negativos dos pacientes MG/GO, ainda que o critério de seleção fosse baseado na identificação de parentais chagásicos. Contudo, há de se considerar que a amostragem MG/GO era pequena (36 casos, 13,6%). Este fato é revelador de algo que precisa ser explicado convenientemente, visto que as progênes nasceram em região livre de infestação por triatomíneos.

A amostragem do PA está influenciada pelo critério de seleção com base em casos agudos com diagnóstico clínico e laboratorial. Por isso mesmo, a prevalência da infecção aguda nesse grupo está muito acima dos 5% citados na literatura (Rassi e cols. 2001). Na Amazônia são registrados microepidemias de doença de Chagas aguda (DCA) (Souza-Lima e cols., 2013; Magalhães e cols., 2013) com ocorrência sazonal (Valente e cols, 1999).

Segundo o Boletim Epidemiológico de 2013, fornecido pela GT-Chagas/SESPA, os municípios de Barcarena e Breves ocupam o terceiro lugar em números de infecção, com 10 casos agudos registrados em cada município. Desde a implantação do PECdCh, em 2006, Barcarena até o momento registra 68 notificações de DCA, tendo havido 11 casos em 2006 e 15 casos em 2007, dos quais 13 fazem parte da amostragem deste estudo. Breves já acumula 88 casos agudos, dos quais 30 foram diagnosticados na epidemia de 2009, cujos 10 membros que tiveram a fase aguda sintomática foram selecionados para nossa análise (SESPA, 2013).

Neste estudo, todos os 265 participantes foram submetidos aos testes PCR para identificação de nDNA e kDNA do *T. cruzi*. Diante da demonstração prévia de Transferência Gênica Lateral (TGL) de minicírculos de kDNA para o genoma humano (Hecht e cols., 2010), os testes para kDNA também evidenciaram mutações de minicírculos nos parentais e nas progênes das famílias da amostragem. Isto explica porque os testes PCR para kDNA foram positivos na maioria da população estudada (237, 89,4%). Curiosamente, a amostragem do DF contribuiu com 122 (91%) exames positivos para kDNA dentre os 134 participantes, representando 46% do total, número significativo diante do critério de seleção da amostra com as características epidemiológicas de não exposição a triatomíneos, ausência de transfusão de sangue ou ingestão de alimento contaminado.

Diferentemente, o teste PCR positivo para nDNA nas famílias do Pará superou o conhecimento antes restrito aos casos agudos, pois, 81 (85,3%) pessoas dentre os 95 participantes tinham o nDNA marcador da infecção ativa pelo *T. cruzi*. Este dado torna-se ainda mais relevante quando revelamos que apenas 30,5% das 95 pessoas nas quatro famílias PA tiveram sorologia positiva. Em acentuado contraste, na amostragem das famílias MG/GO havia apenas 5 casos (13,9%) com teste PCR positivo para nDNA, representando 1,9% dos 265 estudados.

O confronto de resultados de sorologia e PCR mostrou importantes diferenças entre as populações PA e MG/GO. Em vários estudos populacionais, o exame sorológico tem sido o único indicador usado como evidência indireta de infecção pelo *T. cruzi*. Ainda que se considere que os testes ELISA e IF tenham sensibilidade e especificidade elevadas (Borges e cols, 2006), fica ainda muito mais difícil explicar as diferenças absolutas que refletem nos percentuais díspares registrados neste estudo e na Tese de Doutorado de Perla F. Araújo (Universidade de Brasília, 2012). Para esclarecer a dúvida crucial que pode ter significado epidemiológico com importância para a Saúde Pública, nós providenciamos exames sorológicos e de DNA em amostras de sangue colhidas dos pacientes PA em três ocasiões, em intervalos variando de 1 a 5 anos após a fase aguda da infecção pelo *T. cruzi*. Os resultados dos exames sorológicos e de PCR, consistentemente, confirmaram os resultados que já haviam sido obtidos na primeira oportunidade que se colheu sangue dos pacientes. É necessário que se tenha o cuidado de valorizar o resultado da pesquisa científica que é reproduzível em diversos momentos, com exames

laboratoriais universalmente empregados para diagnosticar a infecção pelo *T. cruzi* (Brasil, 2005b). A esse respeito não há o que tergiversar sobre o significado da pesquisa científica relatada nesta Tese e na Tese de Araujo, Universidade de Brasília, 2012.

A população do estudo foi estratificada em quatro grupos de acordo com os resultados de sorologia e PCR com a finalidade de agrupar todos os representantes das localidades estudadas. Assim, foi possível associar os laudos dos exames clínicos ao diagnóstico laboratorial, principalmente aos achados de mutação de kDNA. Entre os 265 indivíduos da amostragem, os grupos G1 e G2 acumularam, respectivamente, 31 e 55 pacientes com a infecção ativa porque tinham teste positivo para o nDNA do *T. cruzi*, ainda que o grupo G2 tivesse os testes sorológicos negativos. No grupo G3 foram concentrados os 151 indivíduos com mutação de kDNA e demais testes negativos (nDNA e sorologias). É absolutamente esclarecedor o fato de que apenas 28 pessoas tinham todos os testes negativos. Ou seja, na população brasileira representada na amostragem deste estudo, apenas 10,6% não tinha história pregressa de ancestral com a marca genética de infecção pelo *T. cruzi* num passado não determinado.

É a primeira vez que se relata esta informação absolutamente original, mesmo em trabalhos anteriores do LMPDC/UnB, que descrevem o panorama geral da nossa história contada pelas pégadas de um protozoário e da doença de Chagas na vida dos brasileiros, em muitas gerações. O que isto significa de passado de sofrimento e dificuldade jamais será contabilizado, mas, seguramente, isto significa como este povo foi capaz de criar um país e uma perspectiva de nação com traços culturais tão fortes. Mais significativo ainda poderá vir ser a contribuição do fenômeno de Transferência Gênica Lateral (TGL) e Transferência Gênica Vertical (TGV) descrita no LMPDC, Universidade de Brasília, a partir de 1991 (Teixeira e cols, 1991; Teixeira e cols, 1994; Nitz e cols, 2004; Simões Barbosa e cols, 2006; Hecht e cols, 2010, Teixeira e cols, 2011a; Teixeira e cols, 2011b). Pois, os fenômenos TGL e TGV, que caracterizam a transferência de DNA entre espécies filogeneticamente distantes, na circunstância de baixa morbidade na amostragem estudada, significa que o que vimos e descrevemos aqui contribui significativamente para o fenômeno monumental da evolução da espécie humana, haja vista o crescimento do genoma pela aquisição do DNA exógeno.

Nas famílias do estudo, os resultados parasitológicos, imunológicos, clínicos e genéticos contribuem para a compreensão dos fatos expostos acima. As características clínico-epidemiológicas das infecções pelo *T. cruzi* têm nuances diferentes nos ecossistemas do estudo. Por exemplo, a prevalência dessas infecções nas famílias estudadas nos municípios de Breves e de Barcarena mostra o caráter de hiperinfecção revelada neste estudo graças a convalidação dos resultados de provas parasitológicas diretas do agente infeccioso com os resultados dos testes de nDNA, aqui definido também como prova de infecção ativa pelo *T. cruzi*. A partir desta definição do significado verdadeiro de um teste de nDNA positivo, é possível afirmar que a parcela de casos que antes eram reconhecidos como doença de Chagas representava apenas uma ponta menor do imenso *iceberg* epidemiológico reconhecido como a endemia do século XX (Chagas, 1909). Este é o novo panorama da doença de Chagas, para o qual não há informação preliminar de qualquer natureza. Daí a importância da originalidade desta Tese com informação cujo valor para a Saúde Pública ainda está longe de ser completamente compreendido dentro e fora da Academia.

As novas características epidemiológicas aqui relatadas precisam ser examinadas *vis à vis* das vias reconhecidas de transmissão das infecções pelo *T. cruzi* ao homem. A principal via de transmissão vetorial tem sido considerada até então como a mais importante epidemiologicamente. Por último também se tem apresentado a via oral de contaminação alimentar como um reforço epidemiológico no panorama da grande endemia chagásica. A transmissão iatrogênica pela transfusão de sangue não tem limite conhecido, mas se supõe que está contida dentro de uma fração do número total de transfusões de sangue que se administram anualmente no Brasil e em todo o mundo, haja vista o cenário da expansão da doença de Chagas nos cinco continentes (Salvatella, 2007).

Aqui, não se poderia deixar de discutir a questão apresentada pelos novos dados epidemiológicos a partir da alta frequência de casos identificados pelo nDNA do *T. cruzi* e que jamais seriam detectados pelos testes sorológicos convencionais. De que maneira a informação científica que nós entendemos ser sólida e socialmente responsável, na forma descrita aqui, vai beneficiar as campanhas de prevenção e controle da doença de Chagas, particularmente nos países da América Latina? É um assunto aberto para a discussão no amplo espectro da sociedade. A

esse respeito, a pesquisa conduzida no LMPDC, na Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, tem encaminhado novas propostas de trabalho científico com base em postulados paradigmáticos, visando ir ao fundo desta questão envolvendo claramente a tese já exposta em outra ocasião, e nesta oportunidade, também, no que concerne a prevenção de doença sexualmente transmissível (Araujo, 2012, Pimentel, 2012, Rios, 2013). A questão da ciência paradigmática, que se reveste de responsabilidade social e de cidadania, não pode deixar de lado o aspecto verdadeiramente valioso do conjunto da investigação sobre a possibilidade de transmissão sexual da infecção pelo *T. cruzi*. Mesmo porque é fundamental que fique registrado aqui o fato de que a descoberta científica original foi possível graças ao estudo iniciado há seis anos nas famílias dos municípios de Breves e Barcarena no Estado do Pará. A esse respeito, existem os registros dos casos agudos no Hospital de Clínicas Gaspar Vianna e nos assentamentos do PECdCh/SESPA/2007.

Ao analisarmos os exames cardiológicos aplicados no estudo, destacamos o eletrocardiograma, que é o exame mais amplamente utilizado na prática clínica e nos estudos populacionais, em decorrência de sua praticidade, baixo custo e inestimável valor no diagnóstico de grande variedade de condições cardíacas. É considerado o método mais direto para avaliar os distúrbios de condução e arritmias cardíacas. Quando associado a outros métodos diagnósticos, sua acurácia aumenta e revela lesões clinicamente despercebidas (Valério e cols, 2011). Nos grupos estudados, foram realizados 238 eletrocardiogramas e encontrados 57 laudos alterados, dentre estes poucos característicos da doença de Chagas.

Como observado, a maioria dos laudos eletrocardiográficos foi normal, mesmo nos grupos de indivíduos infectados, ou seja, G1 e G2. Isso denota que a maioria da população dos chagásicos avaliados ainda está provavelmente na fase indeterminada da doença. A fase indeterminada conceitua-se pela positividade de exames sorológicos e/ou parasitológicos para *T. cruzi*, ausência de sinais e sintomas da doença, eletrocardiograma e exames radiológicos (coração, esôfago e cólons) normais (Ribeiro & Rocha, 1998). Em estudos longitudinais a prevalência de pessoas na fase indeterminada alcança 52,5 % (Macêdo, 1999). Em nosso estudo, entre os 265 indivíduos o diagnóstico sorológico foi positivo em 31 casos (11,7%). Porém, com os resultados dos testes de nDNA, esse percentual eleva-se para 32,5%. A diferença pode ser explicada pela escolha da amostra de acordo com a



conveniência do estudo. Este estudo revela que a maioria dos indivíduos positivos no teste nDNA não tinha alterações radiológicas ou de exames de avaliação de função cardíaca e, portanto, o significado deste achado no que concerne a morbidade ainda é desconhecido, em provável fase indeterminada. Entretanto, é importante observar que grande parte da população da pesquisa concentra-se nas faixas etárias abaixo de 35 anos de idade.

Em nossa amostragem, no grupo G3, ou seja, indivíduos sem a infecção e portadores da mutação de kDNA, 24 eletrocardiogramas estavam alterados. Quando aplicado o teste estatístico, o grupo G2 (nDNA e kDNA positivos, sorologia negativa) teve 3,9 vezes mais chances de apresentar alteração no exame do que o grupo G3. Esta observação sugere que a alteração do eletrocardiograma nesses grupos provavelmente possa estar relacionada à idade, visto que se trata de algum tipo de alteração fisiológica. Então, qualquer análise estatística tem valor capital quando precedida pelo justo critério de julgamento com base no conhecimento. Considerando que as alterações eletrocardiográficas foram encontradas no grupo G2 (com infecção ativa), o significado da presença do parasita na fisiopatologia das alterações do ECG precisam ser consideradas *vis à vis* dos demais Grupos de Risco. Por exemplo, não foi encontrada diferença estatística significativa entre o grupo G1 com todos os exames positivos e o grupo G2 somente com sorologia negativa. Ou seja, os números só fazem sentido quando precedidos de julgamento correto, quando se tem uma amostragem robusta com muitos casos em todos os Grupos de Risco, com distribuição pareada pelos grupos etários.

Esses resultados são concordantes com a maioria dos estudos populacionais (Lauria-Pires e cols, 2000; Castro e cols, 2001) que mostram índices mais elevados de alterações no eletrocardiograma no grupo de infectados. No estudo caso-controle nas comunidades Wichi e Creole, na Argentina, os eletrocardiogramas alterados no grupo de infectados foram respectivamente 26,9% e 33,1% contra 17,1% e 21,6% nos controles daquelas comunidades (Moretti e cols, 2010). Entretanto, alterações eletrocardiográficas em crianças em idade escolar, sem manifestação da fase aguda, foram registradas em três municípios rurais de Goiás, quando cinco novos casos de alterações eletrocardiográficas surgiram em 36 meses de seguimento, sugerindo elevado índice de infecção naquelas comunidades (Andrade e cols, 1998).

Em geral, o início das manifestações clínicas e eletrocardiográficas ocorre por volta da terceira a quarta décadas de vida (Ianni e cols, 2001; Valerio e cols, 2011). Os dados apresentados aqui revelam que a maioria dos eletrocardiogramas alterados ocorreu nos adultos (20 aos 59 anos), mas as diferenças nos Grupos de Risco não tiveram significado estatístico. Nos idosos, a diferença entre os laudos normais e alterados foi pequena, como esperado, pelas comorbidades comuns nesta faixa etária (Lorga, 2002; Kawabata–Yoshihara e cols, 2009).

Dentre as alterações eletrocardiográficas observadas, os sinais de repolarização precoce (RP) ocuparam 35% dos laudos, com 20 exames. Apesar do número expressivo, esta alteração no eletrocardiograma não representa patologia propriamente dita, sendo considerada uma variante da normalidade e encontrada na maioria das vezes em pessoas treinadas fisicamente, em jovens e atletas (Pastore, 2009).

Em decorrência do processo inflamatório, destruição do miocárdio e reparo pela fibrose, a cardiopatia chagásica crônica (CCC) tem nos distúrbios de condução atrioventricular e intraventricular, conhecidos como bloqueios, as principais consequências da miocardiopatia (Marin-Neto e cols, 2007; Machado e cols, 2013). Nas fases iniciais da infecção, os bloqueios já podem ser detectados, mas é na fase crônica cardíaca que são reconhecidos com maior frequência na doença de Chagas. Particularmente, o bloqueio do ramo direito (BRD) e o bloqueio fascicular denominado bloqueio divisional ântero-superior esquerdo (BDASE) são mais frequentes na cardiopatia chagásica que em outras doenças do coração (Pimenta e cols, 1999).

Em nossa amostragem, os BRD foram os distúrbios mais frequentes (16 casos, 28%). Em dois casos (3,5%), os bloqueios estavam associados a extrassístole ventricular (EV) isolada e BDASE. As alterações difusas da repolarização ventricular esquerda (ADRVE) foram registradas em 8 casos (14%), como manifestações inespecíficas, mas presentes frequentemente em portadores da doença de Chagas. Esses dados estão de acordo com estudos longitudinais de cardiopatia chagásica, que mostraram alta prevalência de BRD (Lauria –Pires e cols, 2000; Castro e cols., 2001; Lana e cols., 2009). Em São Paulo, dentre os 499 candidatos à doação de sangue, com sorologia positiva para *T.cruzi*, o eletrocardiograma mostrou que BRD e BDASE foram frequentes (Ribeiro e cols,

2013). Em nosso estudo, entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa dos bloqueios entre os Grupos de Risco para doença de Chagas.

Na amostragem PA foi detectada onda delta em indivíduo de 58 anos de idade, com o diagnóstico de síndrome Wolf Parkinson White (WPW) intermitente. Até o momento não se tem conhecimento na literatura a respeito da associação entre a síndrome WPW com a doença de Chagas. É de conhecimento que esta síndrome tem caráter hereditário autossômico recessivo, observada na cardiomiopatia hipertrófica, associada a defeito genético no cromossomo 7 (Mateos & Mateos, 2004). O referido indivíduo pertence ao Grupo de Risco G2 e apresentou taquicardia supraventricular sustentada (TSVS) durante o teste ergométrico e apenas três extrassístoles no holter de 24h, entretanto não foi possível detectar em qual gene ou cromossomo a integração de kDNA estava associada por não ter sido possível realizar a clonagem e sequenciamento do material genético do paciente.

Um caso de extrassístole ventricular isolada associada ao BDASE, e um caso de fibrilação atrial (FA) associada à ADRVE, foram registrados em idosos da amostra MG/GO, dos grupos de risco G1 e G2, respectivamente, sugerindo CCC. A presença de FA na população de idosos é frequente, com idade média de 75 anos, cuja incidência dobra a cada década de vida (Lorga, 2002). Fatores de risco independentes como insuficiência cardíaca, hipertensão arterial, doença orovalvar e infarto do miocárdio precipitam o aparecimento da arritmia (Downs e cols, 1998), assim como o hipotireoidismo, muitas vezes subclínico nos idosos, o aumento do átrio esquerdo e a hipertrofia miocárdica (Shepherd e cols, 1995). Na CCC, o diagnóstico de FA piora o prognóstico, haja vista ser responsável pela precipitação de eventos tromboembólicos, causas importantes de morte súbita e acidentes vasculares cerebrais (AVC) nesta população (Rassi Jr e cols, 2001; Oliveira-Filho J e cols., 2005). Em estudo do tipo caso-controlado, com 101 pacientes admitidos em serviço de urgência com diagnóstico de AVC, após análise multivariada, história de AVC prévio, FA e sorologia positiva para *T. cruzi* mostraram-se fatores independentemente associados a eventos cardioembólicos (Paixão, 2007).

A frequência cardíaca (FC) da população do estudo foi avaliada por meio da amostragem do eletrocardiograma de repouso de doze derivações, cujo valor médio encontrado foi 74 bpm, considerado normal segundo os critérios da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) (2009). Como não fez parte de nossos objetivos

avaliar a presença de disfunção do sistema nervoso autonômico nesta população, não foram realizadas medidas de variabilidade da frequência cardíaca, dentre outros valores observados em exames mais apropriados para essa finalidade. Entretanto, é importante que seja enfatizada a importância da disautonomia na fisiopatogenia da doença de Chagas. Autores consagrados no estudo anatomopatológico e funcional do sistema nervoso autonômico demonstraram que mesmo em fases precoces da infecção já existe destruição neuronal e ganglionar, com preferência ao sistema nervoso parassimpático (Köberle, 1959; Junqueira Jr. e cols, 1985, 1990, 2002, 2006, 2012; Amorim e cols, 1982; Marin-Neto, 1998)

As taquicardias são descritas com frequência na fase aguda da doença de Chagas, em decorrência da miocardite, liberação de catecolaminas circulantes e febre, como resposta a qualquer processo infeccioso agudo (Rassi e cols, 2000). Já na fase crônica, o processo inflamatório persiste e com o conseqüente reparo do miocárdio por tecido fibroso ocorre destruição das miofibrilas e do tecido excito condutor cardíaco ocasionando distúrbios do ritmo e da condução cardíaca. Com o acréscimo da desnervação neuronal, os diagnósticos de bradicardia sinusal e bloqueios atrioventriculares (BAV) são frequentes, sendo responsabilizados por elevados índices de mortalidade nesta população (Santos, 2009). Em nossa amostragem, entretanto, a presença de taquicardia sinusal (TS) foi em pequeno número e em idades tenras, possivelmente correlacionadas à ansiedade no momento da avaliação clínica e à faixa etária mais jovem, e a bradicardia sinusal (BS) foi mais frequente nos grupos G3 e G4, portanto sem correlação com a infecção chagásica, outras patologias, uso de substâncias ou iatrogenias.

Parâmetros do Intervalo QT são potenciais marcadores de arritmogenicidade e risco de morte súbita em diferentes faixas etárias e condições clínicas, especialmente nas síndromes genéticas como a síndrome do QT longo e nas deficiências dos canais iônicos (Maia e cols, 1998; Salles e cols, 2003; Akalın e cols, 2004; Blužaitė e cols, 2006). No entanto, em nosso estudo, as medidas do intervalo QTc e do espaço PR calculadas pelo eletrocardiograma visaram avaliar a qualidade da repolarização ventricular e suposto início de disautonomia cardíaca, embora o recurso utilizado não tenha sido o mais adequado. As médias do intervalo QTc e do espaço PR foram calculadas (respectivamente  $0,313 \pm 0,03$  e  $0,136 \pm 0,028$ ), mas apenas o aumento do intervalo PR teve diferença estatística nos grupos G2 e G3,

sem significado clínico evidente até a presente avaliação. Entretanto, há a necessidade de medidas de variabilidade da frequência cardíaca no domínio de tempo, como SDNN, SDANN e no domínio de frequência, como RMSSD e pNN50, calculadas no holter 24h (Task Force, 1996) e no eletrocardiograma de alta resolução (ECGAR) que detectam diferenças de potenciais eletrofisiológicos relativos ao tônus parassimpático, bem descritos na literatura (Ribeiro e cols, 2002; Vasconcelos & Junqueira Jr., 2009; 2012).

Com o objetivo de avaliar a resposta clínica e hemodinâmica adaptativa do indivíduo ao estresse provocado por esforço físico, o teste ergométrico (TE) é o exame que possibilita esses parâmetros fisiológicos, assim como detecta distúrbios derivados de cardiopatias algumas vezes subclínicas. Segundo as III Diretrizes da SBC sobre teste ergométrico, o exame na cardiomiopatia chagásica pode ser realizado com protocolos convencionais, sendo que a presença de arritmias ventriculares no eletrocardiograma de repouso não impede a realização do exame (Meneghelo e cols, 2010).

Uma das principais justificativas para a aplicabilidade do TE na doença de Chagas é a necessidade de avaliar o prognóstico do indivíduo frente ao desencadeamento de arritmias ventriculares. A ocorrência de taquicardia ventricular esforço-induzida, caracterizada como arritmia ventricular complexa (extrassístoles ventriculares polimórficas, pareadas, ou taquicardia ventricular sustentada ou não sustentada) apresenta valor prognóstico definido em chagásicos com ou sem cardiopatia aparente (Ribeiro & Rocha, 2000). De Paola e cols. (1995) registraram aumento da incidência de morte súbita em chagásicos que apresentaram taquicardia ventricular (TV) durante a realização do teste ergométrico em comparação com pacientes que não manifestaram essa arritmia. Viotti e cols (2006) documentaram o surgimento de arritmias ventriculares complexas em fases precoces da cardiopatia chagásica, chamando a atenção para o seguimento cuidadoso desses pacientes a longo prazo.

Em nossa amostragem, a incidência de arritmias ventriculares no teste ergométrico foi muito baixa havendo apenas a ocorrência de um episódio de taquicardia ventricular sustentada em uma paciente de 83 anos de idade, do Grupo de Risco G1, residente em Barcarena/PA e portadora de outras comorbidades, como hipertensão, obesidade e diabetes. Outro episódio de taquicardia, porém

supraventricular sustentada ocorreu no indivíduo de 56 anos de idade portador da síndrome WPW pertencente ao Grupo de Risco G2 e residente na mesma localidade. O registro de extrassístoles ventriculares (EV) foi observado em apenas 6 indivíduos em toda população, todas classificadas como monomórficas, sem diferenças estatísticas entre os grupos de risco, porém com predileção à faixa etária dos adultos e idosos. Houve um caso de insuficiência coronariana em indivíduo masculino de 60 anos de idade, do Grupo de Risco G2 e também procedente de Barcarena/PA, o qual foi submetido à cineangiocoronarioplastia com colocação de *stent* na coronária descendente anterior com sucesso, na FHCGV.

Portanto, em nossos resultados, conforme a maioria dos laudos dos testes ergométricos considerados normais (206, 92,8%), podemos refletir considerável baixa morbidade no universo estudado. Quando esses resultados foram comparados com os Grupos de Risco, o grupo que apresentou maior número de exames normal foi o G3, com 118 exames. Os dados acima, novamente, remetem a possibilidade dos grupos de infectados estarem na fase indeterminada da doença. Estudos baseados nesta condição clínica que utilizaram o TE como parâmetro de avaliação prognóstica tiveram dificuldades em padronizar resultados, fato decorrente de intensa heterogeneidade nessa população (Marin-Neto e cols, 2000). Entretanto, quando associado a outros métodos diagnósticos, como o holter 24h, o valor de acurácia do TE aumentou consideravelmente na detecção de arritmias e se revelou como importante fator preditivo de morte súbita nos portadores da infecção chagásica (Pedrosa & Campos, 2004). A combinação de outros marcadores, como medidas da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE), observadas no ecodopplercardiograma (Mady e cols., 2005), assim como estudos da função diastólica do ventrículo esquerdo associadas à capacidade física cardiovascular melhoram o poder de acurácia na detecção prognóstica neste grupo de pacientes (Lima e cols., 2010).

Com o intuito de avaliar a capacidade funcional da população do estudo, frente ao esforço físico, foi analisada a média total dos valores de  $VO_2$  máximo mensurado durante a realização do esforço em esteira ergométrica, ao nível de 85 a 100% da frequência cardíaca máxima, com duração em média de 8 a 10 minutos de exercício, com protocolos específicos. De acordo com a *New York Heart Association* (NYHA), o indivíduo pode ser classificado funcionalmente conforme os sintomas

apresentados nas atividades do cotidiano, utilizando-se como instrumento a anamnese, a qual tem baixa reprodutibilidade e sujeita a resultados conflitantes, cujo método não foi aplicado em nosso estudo (Bennett e cols., 2002; Bocchi e cols., 2009).

A recomendação ideal para a avaliação objetiva da capacidade funcional é a dosagem direta do VO<sub>2</sub> máximo por meio da ergoespirometria (Meneghelo e cols., 2010; Macko e cols., 2010; Pereira e cols., 2012). O VO<sub>2</sub> máximo é a medida da maior quantidade de oxigênio consumida durante a realização de esforço físico dinâmico, envolvendo uma grande massa muscular corporal. É o resultado do produto do débito cardíaco da diferença arteriovenosa. Embora seja medido em litros/min, é usualmente expresso em quilogramas de massa corpórea (Froelicher e cols., 1998; Tebexreni e cols., 2001). Em nosso estudo, entretanto, a medida do VO<sub>2</sub> máximo foi indireta, com a utilização de fórmulas padronizadas conforme o protocolo adotado, a partir do ajuste para o peso e idade de cada indivíduo. Apesar de não ter a mesma qualidade de precisão que o teste de esforço cardiopulmonar, os resultados podem ser extrapolados para a prática clínica, haja vista o TE ser um exame de custo financeiro mais acessível, sem a necessidade de treinamento técnico tão específico quanto à ergoespirometria (Meneghelo e cols., 2010).

Como observado em nossos dados, a média do VO<sub>2</sub> máximo para todos os participantes foi 38,03 mL/Kg/min, com desvio padrão de  $\pm 13,28$ . O grupo G4 apresentou a maior média de VO<sub>2</sub> Máximo, com  $46,13 \pm 12,57$  mL/Kg/min e os grupos G1 e G2 tiveram resultados semelhantes. O grupo de menor valor foi o G3, com  $33,96 \pm 9,13$  mL/Kg/min, cujo resultado apresentou diferença estatística significativa em relação aos demais grupos. Esses resultados supõem que a população estudada seja considerada dentro da faixa considerada ativa, segundo a classificação da *American Heart Association* (AHA), com marcante diferença no grupo sem a presença da infecção e da mutação isolada, apesar do número reduzido de participantes. Entretanto, é de amplo conhecimento que os valores de VO<sub>2</sub> máximo podem ser influenciados por fatores não cardíacos, tais como o condicionamento físico, idade, massa corporal e gênero (Macko e cols., 2010; Herdy & Uhlendorf, 2011).

Na prática clínica e desportista, utiliza-se o equivalente metabólico (MET), relacionado diretamente ao tipo de atividade física para avaliar a capacidade

funcional, o qual representa o consumo de O<sub>2</sub> em repouso e 1 MET equivale a 3,5 ml.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>, o qual sofre as mesmas influências cardíacas e não cardíacas do VO<sub>2</sub> máximo nas análises (Balady e cols, 2003). Assim, em nossa amostragem, os valores foram concordantes aos achados nos Grupos de Risco em relação ao VO<sub>2</sub> m, com o destaque para o G4, que obteve a melhor performance.

Ao analisarmos a incidência das arritmias em nossa amostragem, o holter 24h foi o exame que demonstrou maior incidência das mesmas em comparação com o eletrocardiograma e teste ergométrico. O holter é o método de escolha para esta finalidade pela possibilidade em reproduzir a análise eletrocardiográfica em diferentes situações corriqueiras do indivíduo (Grupi e cols, 1994; Lorga Filho e cols., 2013), além da possibilidade do registro de sintomas correlatos, capazes de influenciar no prognóstico do chagásico (Leite e cols., 2001).

Sua utilidade na avaliação da doença de Chagas tem sido de extrema importância, em todas as fases da doença. Na fase indeterminada pode corroborar na liberação do indivíduo à prática de atividade física ou laboral que supostamente o diagnóstico sorológico impunha discriminação, entretanto, com o advento da análise da função autonômica, é possível prever com maior fidelidade os indivíduos com risco elevado de taquiarritmias ventriculares graves e fatais, mesmo em indivíduos com função ventricular preservada (Menezes Jr. e cols, 2000; Meireles, 2010)

Na análise de nossos resultados, diferentemente dos demais exames até então apresentados, a maioria foi de alterados, com 167 (79,9%) exames. Este fato pode ser atribuído à acurácia do exame no registro das alterações eletrocardiográficas e à elevada frequência de extrassístoles supraventriculares (ESV), isoladas (97, 58,1%) ou associadas às extrassístoles ventriculares (EV), com 48 (28,7%) exames.

Apesar da elevada incidência de arritmias, as EV são as arritmias mais descritas na evolução clínica da miocardiopatia chagásica, presentes desde fases precoces da cardiopatia crônica até as mais avançadas, quando se tornam complexas, polimórficas e bigeminadas (Marin-Neto e cols., 2000). Entretanto, é descrito na literatura que até 50% da população em geral pode apresentar EV sem correlação com processos patológicos, cujo aumento da incidência pode ser percebido com a idade (Barret e cols, 1981; De Paula e cols, 2007). De fato, em



nossa amostragem, apesar da frequência considerável (66, 39,5%) a maioria ficou concentrada nos grupos G3 e G4, em assintomáticos, na faixa etária dos adultos, classificadas como monomórficas, isoladas, com densidade média de  $4,26 \pm 10,81/h$ , considerados infrequentes (Myerburg e cols, 1984).

O achado de taquicardia ventricular no holter 24h, especialmente a taquicardia ventricular sustentada (TVS), quando as ectopias ventriculares ocorrem conceitualmente com frequência acima de 30 segundos, o prognóstico do portador da infecção por *T. cruzi* torna-se reservado, com risco elevado de morte súbita (Pedrosa & Campos, 2004). Quando associados à disfunção ventricular esquerda e/ou à presença de aneurisma ventricular de vórtice, a taxa de mortalidade torna-se extremamente elevada (Barbosa, 2007; Carvalho Filho e cols., 2007). Em nossos resultados, não houve registro de TVS ou TVNS no holter 24h, mesmo na população mais idosa, no indivíduo portador da síndrome WPW ou nos grupos G1 e G2.

A utilização do ecodopplercardiograma nos portadores da infecção por *T. cruzi* é fundamental para a classificação clínica e prognóstica do indivíduo. Por meio das análises da função sistólica e diastólica é possível reconhecer com precisão as principais características morfológicas e funcionais descritas na doença de Chagas (Andrade e cols, 2011). Dentre estas, estão as discinesias e/ ou acinesias segmentares, com incidência em torno de 15 a 20% dos portadores da CCC, a formação aneurismática na ponta do ventrículo esquerdo, com frequência estimada de 50 a 60%, além da ocorrência de hipocinesia difusa, nas fases mais avançadas da moléstia, contribuindo para o agravamento da sobrevivência desses pacientes (Acquatella, 2007).

Em nossa amostragem, do total de 216 exames, obtivemos 64 (29,6%) ecodopplercardiogramas alterados, especialmente na faixa dos adultos, ou seja, de 20 a 59 anos de idade, com distribuição homogênea em todos os Grupos de Risco, portanto sem significado estatístico relevante. De acordo com a literatura, em geral a partir da quarta década de vida são diagnosticadas as anormalidades descritas acima, mesmo na forma indeterminada da doença (Ianni e cols, 2001). Entretanto, conforme nossos resultados, dentre as alterações descritas nas populações estudadas, as de maior repercussão foram as valvulopatias, responsáveis por 46 (72%) exames dentre os 64 exames alterados, representando 21,3% dos 216 exames realizados, de caráter fisiológico, ou seja, sem repercussão hemodinâmica

ou sinais importantes de degeneração, com envolvimento principal das válvulas mitral e tricúspide.

Os trabalhos na literatura que descrevem disfunções nas válvulas cardíacas no decurso da cardiomiopatia chagásica geralmente são da fase aguda, cujo processo inflamatório propicia edema e congestão das cúspides, assim como efusões pericárdicas, algumas vezes de evolução fatal nesta fase da doença (Pinto e cols, 2001, 2004, 2008; Albajar e cols, 2003; Moraes e cols, 2003). Na CCC, cuja fibrose primariamente focal progride atingindo variados segmentos das quatro câmaras cardíacas, a consequente dilatação das mesmas resulta na incompetência valvular, ocasionando aumentos na pressão venopulmonar e consequente aumento da mortalidade (Barbosa e cols., 2011).

A função ventricular esquerda foi avaliada por meio da mensuração dos índices da FEVE e DDVE. A média dos valores de FEVE de todos os Grupos de Risco foi  $68,77 \pm 5,00$ , sem diferença estatística significativa. Esses índices refletem a ausência de disfunção ventricular sistólica, cujos valores estão classificados dentro dos limites da normalidade (Douglas e cols., 2011). Segundo estudos de Mady e cols. (1994), a FEVE foi importante índice para análise de sobrevida em insuficiência cardíaca por doença de Chagas. Esses resultados, portanto, atribuem à nossa amostragem bom prognóstico. Do mesmo modo, apesar de ter ocorrido diferença estatística significativa entre os grupos infectados (G1 e G2) com os não infectados (G3 e G4) em relação aos valores médios de DDVE, os resultados revelados estão na faixa da normalidade.

A disfunção diastólica foi observada em 10 exames, representando 4,6% dos 216 ecodopplercardiogramas realizados e 15,6% dentre os 64 exames alterados, todos classificados segundo Nishimura e cols. (1989) em grau I, com predileção aos adultos e aos grupos G3 e G4. Estudos têm demonstrado que a disfunção diastólica precede a disfunção sistólica em indivíduos portadores da doença de Chagas, embora a prevalência dessa alteração seja relevante na população saudável. Fatores como frequência cardíaca, pressão atrial e pré-carga podem influenciar os parâmetros medidos no Doppler pulsado (Combellas e cols., 1985; Marques e cols., 2006; Acquatella, 2007). Como nosso objetivo não foi avaliar com maior precisão a função diastólica, não foram utilizadas medidas de Doppler tissular, consideradas

mais adequadas para esta finalidade (Barros e cols., 2001; Migliore e cols., 2003; Nascimento e cols., 2008).

As manifestações clínicas observadas no curso da infecção pelo protozoário *T. cruzi* têm sido bem documentadas assim como suas características aprimoradas com o avanço da tecnologia propedêutica. Entretanto, os mistérios que cercam a fisiopatogenia da infecção ainda têm aspectos controversos e muitas questões sem soluções. A teoria da autoimunidade, apontada há quatro décadas, vem despertando interesse que supostamente vai além da complexidade imunológica. A visualização em cortes histopatológicos de fibras miocárdicas lisadas por células efectoras do sistema imune do hospedeiro, células T CD<sub>45</sub> e CD<sub>8</sub>, sem a presença do parasita, apontam para o conceito de unidade mínima de rejeição. A miocardite difusa e fibrosante é o resultado da coalescência de várias unidades mínimas de rejeição observadas na miocardite chagásica crônica (Santos - Buch e Teixeira, 1974; Teixeira e cols. 1975, 1994, 1999, 2007).

Em estudos realizados com aves (*Gallus gallus*) pela equipe do LMPdC/UnB, foi observado importante aumento (3vezes) do tamanho cardíaco comparado à ave controle da mesma idade e peso. As galinhas morreram de falência cardíaca, com dispnéia, cianose, efusões pleural e peritoneal, semelhantemente aos achados descritos no ser humano. O eletrocardiograma demonstrou desvio do eixo para a esquerda e à radiografia torácica o aumento da silhueta cardíaca (Teixeira e cols, 2011). Neste estudo foi realizada investigação da integração de minicírculos de kDNA no genoma da ave e o resultado foi o já previsto em documentações prévias como em macrófagos (Argañaraz, 1996), coelhos (Nitz e cols, 2001) e camundongos (Simões-Barbosa e cols, 2006).

O achado de alterações genótípicas resultantes da integração de minicírculos de kDNA no modelo experimental da galinha foi adequado para a concepção do processo autoimune observado na ausência de parasita. Como é de conhecimento, as aves são refratárias à infecção do *T. cruzi* em decorrência de imunidade inata. A integração de kDNA no genoma das galinhas mostrou variabilidade nos *loci*, demonstrando grande vulnerabilidade do hospedeiro à mutagênese de kDNA. A ruptura de diversos genes resulta na tolerância própria e permite a rejeição autoimune dos tecidos como a miocardite chagásica (Teixeira e cols, 2011a).

O fenômeno da TGL no genoma, ou seja, a transferência de material genético de um organismo para o outro gera complexidade genotípica e fenotípica na evolução dos seres vivos (Teixeira & Nitz, 2007). A mutação de kDNA é um fenômeno de TGL e pode suscitar a diferentes respostas nos genes atingidos e lesionados, com correspondente manifestação clínica variada, observada na doença de Chagas. Como observado em animais, a possibilidade de TGL em humanos foi suscitada. Conforme resultados de Hecht e cols. (2010), foi documentado em cinco famílias de diferentes ecossistemas a integração de minicírculos de kDNA no genoma dos integrantes de várias gerações, inclusive sem a presença de DNA nuclear, sugerindo a possibilidade de transferência via placentária e/ou sexual. O principal elemento integrado foi o LINE -1, em 65% dos casos, que é classificado como retrotransposon e ocupa 17% do genoma humano (Babushok & Kazazian, 2007). Os retrotransposons são elementos que têm grande mobilidade no genoma e podem criar novos genes, pseudogenes, destruição de genes e alterar a expressão dos mesmos (Januszyk e cols, 2007), o que pode ser responsável pela grande variedade de manifestações clínicas na doença de Chagas (Musova e cols, 2006).

Nosso estudo teve parte dos resultados laboratoriais de Hecht e cols (2010) associados às manifestações clínicas nos exames cardiovasculares. Estes foram os representantes dos Estados de Goiás e Minas Gerais, com 36 participantes. Estudo semelhante foi elaborado com os representantes de Pará (Araújo, 2012), dos quais fizeram parte desta Tese em nosso estudo 95 integrantes. Os resultados do estudo no Pará foram semelhantes ao anterior com relação à mutação de kDNA, cujo principal sítio foi LINE-1 em 70% dos casos, em 83,3% no gene olfatório OR-17 e 36,2% no cromossomo X.

Como nosso objetivo principal foi a associação das mutações de kDNA no genoma humano com as manifestações clínicas, foram analisados resultados laboratoriais dos estudos de Hecht e cols.(2010) e de Araújo (2012). A análise levou em consideração principalmente as alterações observadas nos exames clínicos (eletrocardiograma, ecodopplercardiograma, teste ergométrico e holter 24h) em associação com a frequência das integrações nos cromossomos e nos genes.

Das principais alterações observadas no eletrocardiograma, o BRD foi relevante como manifestação frequente descrita na doença de Chagas, sendo as demais sem importância significativa. Dentre os BRD da amostragem do PA e

MG/GO, a maioria foi associada ao cromossomo X, com 14 (29%) manifestações, seguidos pela ocorrência em cromossomos indeterminados com a frequência de 7 (14,6 %) e no cromossomo 7 com 6 (12,5%) mutações. Dentre os *loci* observados na população do Pará, 17 estão associados ao retrotransposon LINE-1 e 5 ao gene olfatório OR 1-17.

Na observação dos laudos alterados no teste ergométrico do PA e MG/GO, o cromossomo X foi o mais incidente, com 7 (36,8%) ocorrências, seguidos pelos cromossomos 8 e 15, com 3 (15,8%) ocorrências em cada.

Quanto ao ecodoppler cardiograma, os cromossomos X e 7 foram os de maior frequência, com 27 (37,5%) e 10 (13,9%), respectivamente.

Em relação ao holter, como as densidades das arritmias (ES e ESV) foram consideradas semelhantes à população saudável (<15/h), e a distribuição foi praticamente uniforme e elevada, não fizemos a associação com os genes e ou cromossomos observados nas mutações de kDNA.

## 7 CONCLUSÃO

A cardiomiopatia chagásica tem desfecho inesperado, resultante de múltiplos fatores que convergem para a descompensação da fisiologia cardíaca. Certamente, os fatores genéticos, imunológicos e parasitológicos se associam para criar as condições de ultrapassagem do equilíbrio homeostático do sistema cardiovascular. Quando isso acontece, geralmente, o substrato anatomopatológico da lesão cardíaca é a inflamação autoimune do miocárdio, quando os linfócitos citotóxicos efetores destroem o miocárdio, na ausência do parasito nas lesões. Até agora não foram identificados fatores preditivos de descompensação da função cardíaca no chagásico. Nosso estudo avaliou os achados clínicos de diferentes populações e os associou aos grupos de indivíduos com a presença do parasita e com os que continham somente a mutação de minicírculos de kDNA. Os resultados revelaram similaridade entre os grupos, fato que pode ser atribuído ao desenho transversal do estudo, assim como a necessidade da ampliação dos componentes de cada grupo. Portanto, para a análise efetiva do comportamento clínico-patológico daqueles que apresentaram a integração de minicírculos de kDNA diante da complexidade de eventos genômicos revelados, a probabilidade de característica de baixa morbidade na população humana é razoável, entretanto, torna-se necessário um estudo cujo acompanhamento a médio e longo prazos possam responder algumas questões ou futuras associações específicas no genoma que possam revelar características apropriadas ao entendimento clínico e fisiopatológico na doença de Chagas.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACQUATELLA, H. Echocardiography in Heart Chagas Disease. **Circulation**, v. 115, p: 1121-1131, 2007.

ADAD, S.J. et al. Contribuição ao estudo da anatomia patológica do megaesôfago chagásico. **Rev. Inst. de Med. Trop. de São Paulo**, v. 33, p: 443-450, 1991.

AGNALDO, P. M. et al. Eletrocardiograma de alta resolução na cardiopatia chagásica crônica. **Rev. Soc. de Cardiol. do Estado de São Paulo**, v. 4, nº 2, 1994.

AKALIN F., et al. Increased QT dispersion in breath-holding spells. **Acta Paediatr**, v.93, p: 770-774, 2004.

ALBAJAR, P.V., et al. Miocardiopatia dilatada em pacientes com infecção chagásica crônica. Relato de dois casos fatais autóctones do Rio Negro, Estado do Amazonas. **Rev. Soc. Bras. de Med. Trop.**, v.36, 2003.

ALBAJAR – VIÑAS P.; JANNIN, J. The hidden Chagas` disease burden in Europe. **Eur Surveill**, v.16 (38): pii=19975, 2011.

ALMEIDA, D.R. Insuficiência cardíaca na doença de Chagas. **Rev. da Soc. de Cardiol. do Rio Grande de Sul**, Ano III nº 03 Set/Out/Nov/Dez: 1-5, 2004.

AMORIN, D.S.; et al. Chagas' heart disease as an experimental model for studies of cardiac autonomic function in man. **Mayo Clin Proc.**, v. 57(Suppl), p: 48-60, 1982.

ANDRADE, Z.A; ANDRADE, S.G. **Doença de Chagas**. In: Doenças Infecciosas: Bases diagnósticas e terapêuticas. Schecther, M. & Marangoni, V. (orgs.). Rio de Janeiro: [s.n.], 1994, cap. 6, p: 221-226.

ANDRADE,A.L.S.S.et al. EARLY Electrocardiographic Abnormalities in *Trypanosoma cruzi* in seropositive children. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 59 (4), p: 530–534, 1998.

ANDRADE, J. (coord.), et al. II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Teste Ergométrico. **Arq. Bras. de Cardiol.**, v. 78 (supl 11), p: 1-17, 2002.

ANDRADE J. A., et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Latino Americana para o Diagnóstico e Tratamento da Cardiopatia Chagásica. **Arq. Bras. Cardiol.**,v. 97(2 supl.3), p: 1-47, 2011.

ANGHEBEN, A. et al. Chagas disease in Italy: breaking an epidemiological silence. **Euro Surveill.**, v. 16 (37), pii = 19969, 2011.

ARAÚJO, P.F **Herança vertical de sequências de minicírculos de kDNA de *Trypanosoma cruzi* integradas no genoma de células germinativas humanas**. 92 f. Dissertação. Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, 2008.

ARAÚJO, P.F. **Estudo genético, imunológico e parasitológico das infecções pelo *Trypanosoma cruzi* em famílias do Pará, Brasil**. 119 f. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, 2012.

ARGOLO, A.M. et al. **Doença de Chagas e seus Principais Vetores no Brasil**. Fundação Oswaldo Cruz, Programa Integrado de Doença de Chagas (PIDC). Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2008. Disponível em: [http://www.fiocruz.br/chagas/media/versao\\_portugues.pdf](http://www.fiocruz.br/chagas/media/versao_portugues.pdf).

BABUSHOK, D.V.; KAZAZIAN, H.H.JR. Progress in understanding the biology of human mutagen LINE -1. **Hum Mutat**, v. 28, p: 527–539, 2007.

BALADY, G. J. et al. Testes de Aptidão Física e sua interpretação. In: FRANKLIN, BA (Ed) Diretrizes do ACSM para os Testes de Esforço e sua Prescrição. **American College of Sports Medicine**, 6ª ed., traduzido por TARANTO, G. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2003, p: 39-60, 239p.

BALADY, G. J. et al. Clinician's Guide to Cardiopulmonary Exercise Testing in Adults: A Scientific Statement From the American Heart Association. **Circulation**, v.122, p:191-225, 2010.

BARBOSA, P.R.B. Noninvasive prognostic markers for cardiac death and ventricular arrhythmia in long-term follow-up of subjects with chronic Chagas' disease. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 40 (2), 2007.

BARBOSA, A. P., et al. Comparação do Desfecho entre a Cardiopatia Chagásica e a Miocardiopatia Dilatada Idiopática. **Arq. Bras. Cardiol**. 2011. [online].

BARRET, P.A., et al. The frequency and prognostic significance of electrocardiographic abnormalities in clinically normal individuals. **Prog. Cardiovasc. Dis.**,v. 23(4), p:299-319, 1981.

BARROS, M.V.L., et al. Tissue Doppler Imaging Enables Identification of Diastolic Dysfunction of Pseudonormal Pattern in Chagas' Disease. **J. Am. Soc. Echocardiogr.**, v.14 (5), p:353-59, 2001.

BENNETT, J.A, R. B; Bittner V.; Nichols J. Validity and reliability of the NYHA classes for measuring research outcomes in patients with cardiac disease. **Heart Lung**, v.31(4), p:262-70, 2002.

BERN, C. et al. Evaluation and Treatment of Chagas Disease in the United States. A systematic Review. **JAMA**, v. 298, (18): 2171-2181, 2007.

BITTENCOURT, A.L.; et al. Esophageal involvement in congenital Chagas disease. Report of a case with megaesophagus. **Amer. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 33, p: 30-33, 1984.

BLUZAITE, I. et al. QT dispersion and heart rate variability in sudden death risk stratification in patients with ischemic heart disease. **Medicina**, Kaunas. v. 42(6), 2006.

BORBOREMA, M., et al. Doença de Chagas urbana em Tefé (AM): relato de nove casos com suspeita de transmissão oral. **XLI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** (resumo), 2004.



BOCCHI, EA, et al. III Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica. **Arq. Bras. Cardiol.**, v.93(1), p:3-70, 2009.

BRAGA, M.S., et al. Persistent infections in chronic Chagas disease patients treated with anti-*Trypanosoma cruzi* nitroderivatives. **Rev. Inst. Med. Trop. de São Paulo**, v.42, p: 157-161, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância em Saúde. **Doença de Chagas aguda: manual prático de subsídio à notificação obrigatória no SINAN**. Brasília, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância em Saúde. **Doença de Chagas aguda relacionada à ingestão de caldo de cana em Santa Catarina**. Nota Técnica, Brasília, 2005 a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância em Saúde. Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, 38 (sup.3), p: 7-29, 2005 b.

BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde do Brasil. **Doença de Chagas aguda por transmissão oral**. Nota Técnica, 26 set. 2007. Disponível em: <http://www.docudesk.com>.

CAMARGO, M.E., et al. Inquérito sorológico da prevalência de infecção Chagásica no Brasil, 1975/1980. **Rev. Inst. Med. Trop. de São Paulo**, v. 26, p: 192-204, 1984.

CAMPOS, M.C.; PEDROSA, R.C. Teste ergométrico e o Holter de 24 horas na detecção de arritmias ventriculares complexas em diferentes estágios da cardiopatia chagásica crônica. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 37, p: 376-383, 2004.

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

CARDIO SISTEMAS. **Gravador digital: guia de manutenção**. São Paulo, 30 p, 2005.

CARVALHO FILHO, H.A. et al. Valor Prognóstico Independente da Taquicardia Ventricular Não-Sustentada na Fase Crônica da Doença de Chagas. **Rev. SOCERJ**, v.20(6), p:395-405, 2007.

CARTER, KL; ROBERTSON, B.C; KEMPENAERS, B. A differential DNA extraction method for sperm on the perivitelline membrane of avian eggs. **Reproductive Biology and Behaviour Group, MPG Research Center for Ornithology**, Postfach, v. 1564,p: D-82305, 2000.

CASTRO, C.; PRATA, A.; MACEDO, V. Estudo clínico durante 13 anos de 190 chagásicos crônicos de Mambaí, Goiás, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, vol.34, n.4, pp. 309-318, 2001.

CASTRO, I. (coord.). I Diretriz Latino Americana para o diagnóstico e tratamento da cardiopatia chagásica. Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.**,v. 97 (2supl.3),p: 1-47, 2011.

CHAGAS, C. Nova Tripanozomiase humana: estudo sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotripanun cruzi* n. ger. n.sp, agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 1, p. 159-218, 1909.

CHAGAS, C. R. J. Aspectos clínicos y anátomo-patológicos de La tripanosomiasis americana. **La Prensa Médica Argentina**, v. 15:153-158, 1916.

COMBELLAS I. et al. Echocardiographic Features of Impaired Left Ventricular diastolic function in Chagas heart disease. **Br. Heart. J.**, v.53,p:298-309, 1985.

COURA, J.R.; BARRETT, T.V.; NARANJO, M.A. Ataque de populações humanas por triatomíneos silvestres no Amazonas: uma nova forma de transmissão da infecção chagásica? **Rev Soc. Bras. de Med. Trop**,v. 27, p: 251-253, 1994.

COURA, J.R., et al. Chagas Disease in the Brazilian Amazon. IV. A New cross-sectional study. **Rev Inst. Med. Trop. de São Paulo**, v.44, p: 159-165, 2002.

COURA J.R, VIÑAS, P.A. Chagas' disease: a new worldwide challenge. **Nature** v.456, p: s6 -7, 2010.

CUBILLOS-GARZON, L.A., et al. Congestive heart failure in Latin America: the next epidemic. **Am. Heart J.**, v.147, p: 412-417, 2004.

CUNHA-NETO, E. et al. Autoimmunity in Chagas disease cardiopathy: biological relevance of a cardiac myosin – specific epitope crossreactive to an immunodominante *Trypanosoma cruzi* antigen. **Proc. Natl. Acad. Sci**, U.S.A. v. 92, p: 3541-3545, 1995.

De PAOLA A.A., et al. Ventricular tachycardia during exercise testing as a predictor of sudden death in patients with chronic chagasic cardiomyopathy and ventricular arrhythmias. **Br. Heart J.**, v.74, p :293–5, 1995.

DEPAULA R.S., et al. Cardiac arrhythmias and atrioventricular block in a cohort of asymptomatic individuals without heart disease. **Cardiology**, v.108 (2), p:111-6, 2007.

DIAS, J.C. Epidemiological surveillance of Chagas disease. **Cad. Saúde Púb.**,v. 16, p: 43-49, 2000.

DIAS, J.C.P.; PRATA, A. SCHOFIELD, C.J. Doença de Chagas na Amazônia: esboço da situação atual e perspectivas de prevenção. **Rev. Soc. Bras. Med.Trop.**, v. 35, p: 167-176, 2002.

DIAS, J.C.P. Doença de Chagas e transfusão de sangue no Brasil: vigilância e desafios. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v.28, n.2, p: 83-84, 2006.

DIAS, J.C.P. Globalização, iniquidade e doença de Chagas. **Cad. Saúde Púb.**,v. 23 (sup 1), p: S13-S22, 2007.

DOCAMPO, R. et al. Schematic representation of longitudinal section of epimastigote form of *Trypanosoma cruzi*. **Nature Reviews Microbiology**, v.3, p. 351-361, 2005. Disponível in: <<http://www.fiocruz.br>>

DOUGLAS, P.S., et al. ACCF/AHA/ASA/ASNC/HFSA/HRS/SCAI/SCCM/SCCT/SCMR appropriate use criteria for echocardiography. **J. Am. Soc. Echocardiogr.**, v. 24, p: 229-67, 2011.

DOWNS, J.R., CLEARFIELD, M., WEIS, S. AFCAPS/TexCAPS Research Group. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels. **JAMA**, v.279, p: 1615-22, 1998.

FAGUNDES, M.L.A.; BOGHOSSIAN, S.H. Taquicardias ventriculares. O uso do Holter na identificação dos possíveis mecanismos eletrofisiológicos. In: Souza, O.F., PEREIRA, L.S., MAIA, I.G. **O sistema Holter e outros métodos nas arritmias cardíacas**. Rio de Janeiro: Revinter, p.125-33, 2001.

FERREIRA, I.; SILVA, T.P.T. Eliminação da transmissão da doença de Chagas pelo *Triatoma infestans* no Brasil: um fato histórico. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.39, n. 5, p. 507-509, 2006.

FROELICHER, V.F. et al. **Interpretação das respostas hemodinâmicas ao teste ergométrico**. In: Exercício e o Coração., p: 79-109, 3ª Ed. Revinter, Rio de Janeiro, 1998.

GIRONÈS, N. et al. Antibodies to an epitope from the Chagas human autoantigen are markers of Chagas' disease. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v.8, p. 1039-1043, 2001.

GONZALES - GRENEDO, L.I., et al. Chagas disease Travels to Europe. **Lancet**, v.373 (9680), p: 2025, 2009.

GRUPI, C.J. et al. O eletrocardiograma de longa duração (Holter) na doença de Chagas. **Rev. Soc. Cardiol. São Paulo**, v.4, n. 2, p: 163- 167, 1994.

HERDY, A. H.; Uhlendorf, D. Valores de Referência para o Teste Cardiopulmonar para Homens e Mulheres Sedentários e Ativos. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 96(1), p: 54-59, 2011.

HECTH, M.M. **Transferência horizontal de sequências de minicírculos de kDNA de *Trypanosoma cruzi* para o genoma de chagásico e herança vertical das mutações**. 133f. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

HECHT, M.M., et al. Inheritance of DNA Transferred from American Trypanosomes to Human Hosts. **Plos One**, v.5, p: 1-15, 2010.

HENZ, B.D., et al. Simultaneous epicardial substrate mapping and radiofrequency catheter ablation as first-line treatment for ventricular tachycardia and frequent ICD shocks in chronic chagasic cardiomyopathy. **J. Interv. Card. Electrophysiol.**, v. 26, p. 195-205, 2009.

IANNI, B. M., et al. Chagas' Heart Disease: Evolutive Evaluation of Electrocardiographic and Echocardiographic Parameters in Patients with the Indeterminate Form. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 77, nº 1, p: 59-62, 2001.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sinopse do Censo Demográfico 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010>.

JANSEN, A.M., et al. The Sylvatic Cycle of *Trypanosoma cruzi*: a Still Unsolved Puzzle. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v. 94 ( Suppl. I), p: 2003-2004, 1999.

JANUSZYK, K. et al. Identification and solution structure of a highly conserved C-terminal domain within ORF1 required for retrotransposition of long interspersed nuclear element-1. **J. Biol. Chem.**, v. 282, p: 24893–24904, 2007.

JUNQUEIRA JR, L.F. et al. Subtle cardiac autonomic impairment in Chagas' disease detected by baroreflex sensitivity testing. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 18(2), p:171-8. 1985.

JUNQUEIRA, JR. L.F... Ambulatory assessment of cardiac autonomic function in Chagas' heart disease patients based on indexes of R-R interval variation in the Valsalva maneuver. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 23(11) p:1091-102, 1990.

JUNQUEIRA, JR. L.F.; SOARES, J.D. Impaired autonomic control of heart interval changes to Valsalva manoeuvre in Chagas' disease without overt manifestation. **Auton. Neurosci.**, v. 97(1), p:59-67, 2002.

JUNQUEIRA, A.C.; DEGRAVE, W.; BRANDÃO, A. Minicircle organization and diversity in *Trypanosoma cruzi* populations. **Trends in Parasitol.**, v.216, p: 270-272, 2005.

JUNQUEIRA, JR. L.F. A summary perspective on the clinical-functional significance of cardiac autonomic dysfunction in Chagas' disease. **Rev Soc. Bras. Med. Trop.**, v.39 (Suppl 3), p:64-9. 2006.

JUNQUEIRA JR.L.F. Insights into the clinical and functional significance of cardiac autonomic dysfunction in Chagas disease. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 45(2), p:243-252, mar-abr, 2012.

KAWABATA-YOSHIHARA, Liz A. et al. Prevalence of electrocardiographic findings in elderly individuals: the Sao Paulo aging & health study. **Arq. Bras. Cardiol.**, vol.93, n.6, pp. 651-656, 2009.

KIERSZENBAUM, F. Chagas disease and the autoimmunity hypothesis. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.12, p: 2210-2223, 1999.

KOLLIEN, A.H. & SCHAUD, G.A. The development of *Trypanosoma cruzi* in triatominae. **Parasitology Today**, v.16, n.9: 381-387, Cambridge, 2000.

LACERDA, M., et al. Meningoencefalite chagásica: relato de um caso na Amazonia brasileira. **XLI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. (resumo) 2004.

LANA, M.; TAFURI, W.L. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. In: Parasitologia humana. Melo, A.L.; Genero, O.; Linardi, P.M. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 73-96.

LANA, M. et al. Clinical and laboratory status of patients with chronic Chagas disease living in a vector-controlled area in Minas Gerais, Brazil, before and nine years after aetiological treatment. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, vol.104, n.8, pp. 1139-1147, 2009.

LAURIA-PIRES, L., et al. Progressive chronic Chagas heart disease ten years after treatment with anti-*Trypanosoma cruzi* nitroderivatives. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.63, p: 111-118, 2000.

LEITE, L.R. et al. The Impact of Syncope During Clinical Presentation of Sustained Ventricular Tachycardia on Total and Cardiac Mortality in Patients with Chronic Chagasic Heart Disease. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 77 (nº 5), 446-52, 2001.

LIMA, M. M.O. et al. Left Ventricular Diastolic Function and Exercise Capacity in Patients with Chagas Cardiomyopathy. **Echocardiography**, 2010.

LIU, B., et al. Fellowship of the rings: the replication of kinetoplast DNA. **Trends in Parasitology**, v. 21(8), p: 363-369, 2005.

LORGA, A., et al. I Diretrizes do Grupo de Estudos em Cardiogeriatría da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.**, v.79, suppl.1, 2002.

LORGA FILHO, A. et al. Recomendações da Sociedade Brasileira de Arritmias Cardíacas para Serviços de Holter. Sociedade Brasileira de Arritmias Cardíacas (SOBRAC) – Brasil. **Arq. Bras. Cardiol.**, v.101(2),p:101-105, 2013.

LUQUETTI, A. et al. **O inquérito nacional de soroprevalência de avaliação do controle da doença de Chagas no Brasil (2001-2008). História sobre doença de Chagas no Brasil**, v.44, suppl. II, p. 108-121, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v44s2/a15v44s2.pdf>.

MACEDO, V. Indeterminate Form of Chagas Disease. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, Suppl.I, p: 311-316, 1999.

MACHADO, F.S. et al. Pathogenesis of Chagas Cardiomyopathy: Role of Inflammation and Oxidative Stress. **J. Am. Heart Assoc.**, 2013.Editorial

MACKO, R. et al. Clinician's Guide to Cardiopulmonary Exercise Testing in Adults: A Scientific Statement From the American Heart Association. **Circulation**, v.122, p:191-225, 2010.

MADY, C., et al. Hemodynamic study of the indeterminate form of Chagas' disease. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 38, p: 271-275, 1982.

MADY, C. et al. Survival and predictor of survival in patients with congestive heart failure due to Chagas' disease. **Circulation**, v. (90), p: 3098-102, 1994.

MADY C., et al. Maximal Functional Capacity, Ejection Fraction, and Functional Class in Chagas Cardiomyopathy. Are these Indices Related? **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 84, nº 2, Fev, 2005.

MAGALHÃES, B.M.L. 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.**, v. 44(6), p: 697-702, nov-dez, 2011.

MAIA, I. G. et al. Contribuição de Eletrocardiografia Dinâmica pelo sistema Holter na Avaliação de Pacientes com a Síndrome Congênita do QT Longo. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 71 (nº 1), p: 49-54, 1998.

MARIN-NETO, J.A. Cardiac dysautonomia and pathogenesis of Chagas' heart disease. **Int. J. Cardiol.**, v. 66(2), p: 129-31, 1998.

MARIN-NETO, JA et al. **Forma Crônica Cardíaca**. In: BRENER, Z; ANDRADE, ZA; BARRAL-NETO, MB. *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*. 2 ed, Guanabara Koogan, 2000, pag. 266-296, 431p.

MARIN-NETO, J. A., et al. Ponto de vista: forma indeterminada da moléstia de Chagas: proposta de novos critérios de caracterização e perspectivas de tratamento da cardiomiopatia. **Arq. Bras. Cardiol.**,v. 79(6),p: 623-7, 2002.

MARIN-NETO J.A., et al. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. **Circulation**,v.115(9),p:1109-23, 2007.

MARQUES, D.S.O. et al. Avaliação de Pacientes Assintomáticos com Forma Crônica da Doença de Chagas através da Análise do Eletrocardiograma Dinâmico, Ecocardiograma e do Peptídeo Natriurético Tipo B. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 87, nº 3, 2006.

MATEOS, JCP; MATEOS, EIP. **Síndromes de Pré-excitação**. In: Lopes, AC (Ed) *Arritmias Cardíacas*. Atheneu, São Paulo, 2004, p. 11-42, 349p.

MENEGHELO R.S., et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Teste Ergométrico. **Arq Bras Cardiol**; v. 95 (supl.1), p: 1-26, 2010.

MENEZES JR., A. S. et al . Variabilidade da Frequência Cardíaca em Pacientes com Doença de Chagas. **Reblampa**, 2000.

MEIRELES, S.A.R. **Determinação da sensibilidade do barorreflexo na estratificação de risco de eventos arrítmicos na doença de Chagas, São Paulo**. Tese (doutorado) - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2010.

MILES, M.A. A simple method of tracking mammals and locating triatomine vectors of *Trypanosoma cruzi* in Amazonia Forest. **The Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.25,p: 671 – 673, 1976.

MILES, M.A. **Culturing and biological cloning of *Trypanosoma cruzi***. In: Hyde, J.E. ed. *Methods in molecular biology, protocols in molecular parasitology*. Totowa, Humana, p: 15-28, 1993.

MIGLIORE, R.A., et al. Evaluacion de La funcion diastolica en la enfermedad de Chagas mediante Doppler tisular pulsado. **Medicina**, v.63(6), p: 692-6, 2003.

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

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

MORETTI, E. et al. Chagas disease study of congenital transmission in cases of acute maternal infection. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 38 (1), p: 53-5, 2005.

MORETTI, E. et al. Chagas disease: serological and electrocardiographic studies in Wichí and Creole communities of Misión Nueva Pompeya, Chaco, Argentina. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 105(5), p: 621-626, August, 2010.

MOSER, D.R., et al. Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA amplification using the polymerase chain reaction. **J. Clin. Microbiol.**, v. 27, p: 1477-1482, 1989.

MUSOVA, Z, et al. A novel insertion of a rearranged L1 element in exon 44 of the dystrophin gene: further evidence for possible bias in retroposon integration. **Bioch. Bioph. Res. Comm.**, v. 347, p: 145–149, 2006.

MYERBURG, R.J., ESTES, D., ZAMAN, L. et al. Outcome of resuscitation from bradyarrhythmic or asystolic prehospital cardiac arrest. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 4, p:1118-22, 1984.

NASCIMENTO, C.A.S. et al. Diferentes significados da disfunção diastólica tipo I, Conforme o grupo estudado - nova proposta de classificação da disfunção diastólica tipo I com o Doppler ecocardiograma aliado ao Doppler tecidual. **Rev Bras. Ecocardiogr.**, v. 21 (2),p: 18 - 26, 2008.

NAVARRO, N. et al. Chagas disease in Spain: Need for Further Public Health Measures. **Plos Negl. Trop. Dis.**, v. 6(12), p: e 1962, 2012.

NISHIMURA, RA, et al. Assessment of diastolic function of the heart: background and current applications of doppler echocardiography. Part II. Clinical studies. **Mayo Clin. Proc.**, v. 64, p: 181-204, 1989.

NITZ, N., et al. Heritable integration of kDNA minicircle sequences from *Trypanosoma cruzi* into the avian genome: insights into human Chagas disease. **Cell**, v. 118, p: 175-186, 2004.

NOIREAU, F., et al. Trapping Triatominae in Silvatic Habitats. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.97, p: 61-63, 2002.

PAIXÃO, L. C. **Chagas disease: a independently risk factor for cerebrovascular events.** (Master thesis). Faculdade de Medicina. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

PASTORE, C.A., et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Análise e Emissão de Laudos Eletrocardiográficos. **Arq. Bras. Cardiol.**, v.93(3 supl.2), p:1-19, 2009.

PEDROSA, R.C.; CAMPOS, M.C. Teste ergométrico e holter 24h na detecção de arritmias ventriculares complexas em diferentes estágios da cardiopatia chagásica crônica. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 37(5), p: 376-83, 2004.

PEREIRA, G.J.M.; TÁVORA, M. E. G. **Epidemiologia**. In: Doença de Chagas. Malta, J. São Paulo: Sarvier, 1996.

PEREIRA, D. A. G. et al. Capacidade funcional de indivíduos com insuficiência cardíaca avaliada pelo teste de esforço cardiopulmonar e classificação da New York Heart Association. **Fisioter. Pesq.**, v. 19(1), p: 52-6, 2012.

PIANCASTELLI, C.H. Colopatia Chagásica. In: **Manejo clínico em doença de Chagas**. GOTIJO, E.D. & ROCHA, M.O.C. (orgs.). Brasília: FUNASA: 46-51, 1998.

PIMENTA, J.; VALENTE, N.; MIRANDA, M. Evolução clínica a longo prazo, correlacionando a presença de bloqueios da condução intraventricular em pacientes chagásicos e não chagásicos assintomáticos. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.32(6), p: 621-631, nov-dez, 1999.

PIMENTEL, C.F. **Herança de sequências de minicírculos de kDNA integradas no genoma de células do sêmen de pacientes chagásicos com presença de nDNA de Trypanosoma cruzi**. 102f. Dissertação. Universidade de Brasília, 2012.

PINEDA, J.P.; LUQUETTI, A.; CASTRO, C. Comparação entre Xenodiagnóstico clássico e artificial na fase crônica da doença de Chagas. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 31 (5), p: 473-480, 1998.

PINHEIRO, S.W., et al. Morphometric study of the fibrosis and mast cell count in the circular colon musculature of chronic Chagas patients with and without megacolon. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**,v. 36, p: 461-466, 2003.

PINTO, A.Y.N., et al. Acometimento cardíaco em pacientes com doenças de Chagas aguda em microepidemia familiar, em Abaetetuba, na Amazônia Brasileira. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**,v. 34, p: 413-419, 2001.

PINTO, A.Y.N.; VALENTE, S.A.S.; VALENTE, V.C. Emerging Acute Chagas Disease in Amazonian Brazil: Case Reports With Serious Cardiac Involvement. **The Braz. J. Inf. Dis.**, v. 8, p: 458-464, 2004.

PINTO, A.Y.N. et al.Fase aguda da doença de Chagas na Amazônia brasileira: estudo de 233 casos do Pará, Amapá e Maranhão observados entre 1988 e 2005. **Rev. Bras. Med. Trop.** , v.41 (6), 2008.

PINTO, A.Y., et al. Urban outbreak of acute Chagas disease in Amazon region of Brazil: four-year-folow up after treatment with benznidazole. **Rev. Pan. Salud. Pub.**, v.25(1), p:77-83, 2009.



PINTO, A.Y.N., et al. Alterações eletrocardiográficas durante e após tratamento com benzonidazol em fase aguda da doença de Chagas autóctone da Amazônia Brasileira. **Rev. Pan. Amaz. Saúde**, v. 1 (2), p: 67-76, 2010.

PINTO, A.Y.N. et al. Doença de Chagas congênita por infecção aguda maternal por *Trypanosoma cruzi* transmitida via oral. **Rev. Pan. Amaz. Saúde**, v. (2)10, p: 89-94, 2011.

PINTO, A.Y.N. et al. Clinical follow-up of responses to treatment with benznidazol in Amazon: a cohort study of acute chagas disease. **PLoS ONE**, v. 8(5), p: e 64450, 2013.

PRATA, A. Chagas disease. **Infec. Dis. Clinics North America**, v. 8, p: 61-76, 1994.

PRATA, A. Evolution of the clinical and epidemiological knowledge about Chagas disease 90 years after its discovery. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.94, Suppl., , p: 81-88, 1999.

PRATA, A., et al. Estratégias para vigilância epidemiológica da doença de Chagas na perspectiva da descentralização das ações. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**,v. 33, p: 118-120, 2000.

PRATA, A. Clinical and Epidemiological Aspects of Chagas Disease. **The Lancet Infect. Dis.**, v.1, p: 92-100, 2001.

PUNUKOLLU, G.; et al. Clinical aspects of the Chagas` heart disease. **Int. J. Cadiol.**, v. 115, p:279-283, 2007.

OLIVEIRA-FILHO, J., et al. Chagas disease is an independent risk factor for stroke: baseline characteristics of a Chagas Disease cohort. **Stroke**, v.36(9), p: 2015-7, 2005.

RASSI, A.; RASSI, JR., A.; RASSI, G.G. **Fase aguda**. In: BRENER, Z.; ANDRADE, Z.A.; BARRAL- NETO, M. (org.). *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 231-45, 2000.

RASSI JÚNIOR, A.; RASSI, S.G.; RASSI, A. Morte súbita na doença de Chagas. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 76, p: 75-85, 2001.

RASSI JUNIOR, A.R., et al. Development and validation of a Risk Score for Predicting Death in Chagas` Heart Disease. **The New Engl. J. Med.**, v.24, n. 355, p:799-808, 2006.

RASSI JUNIOR, A.; RASSI, A.; RASSI, S.G. Predictors of Mortality in Chronic Chagas Disease: A Systematic Review of Observational Studies. **Circulation**, 115: 1101-1108, 2007.

RASSI JUNIOR, A.; RASSI, A.; MARIN-NETO, J.A. Chagas disease. **Lancet**, v. 375, n 99723, p: 1388-1402, 2010.

REZENDE, J.M. & MOREIRA, H. **Forma digestiva da doença de Chagas**. In: BRENER, Z.; ANDRADE, Z.; BARRAL- NETO, M. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2000; 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 297-343.

RIBEIRO, A.L., et al. Power-law behavior of heart rate variability in Chagas' disease. **Am. J. Cardiol.**, v. 89(4), p:414-8. 2002.

RIBEIRO, A.L.P e ROCHA, M.O.C. Forma indeterminada da doença de Chagas: considerações acerca do diagnóstico e do prognóstico. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 31(3), p: 301-314, mai-jun, 1998.

RIBEIRO, A.L. et al. Electrocardiographic Abnormalities in *Trypanosoma cruzi* Seropositive and Seronegative Former Blood Donors. **PLOS Neglected Trop. Dis.**, Feb., v. 7, p. e 2078, 2013.

RIOS, A. S. **Transmissão Sexual do *Trypanosoma cruzi* em *Mus musculus***. Dissertação, 94f. Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, 2013.

ROCHA, M. O.C. Centenário da Descoberta da Doença de Chagas – Editorial. **Rev. Med. Minas Gerais**, v.19(4), p: 277-376, 2009.

ROURE, V. L. et al. Clinical, electrocardiographic and echocardiographic abnormalities in Latin American migrants with newly diagnosed Chagas disease 2005-2009, Barcelona, Spain. **EuroSurveill**, v. 16 (38): pii=19971, 2011.

SALLES, G. et al. Prognostic Value of QT Interval Parameters for Mortality Risk Stratification in Chagas' Disease Results of a Long-Term Follow-Up Study. **Circulation**, July 22, 2003.

SALVATELLA, R. A. Achievements in controlling Chagas disease in Latin America.; Geneva: **World Health Organization**, 2007.

SAMBROOK, J & RUSSEL, DW. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Third Edition. **Cold Spring Harbor NY**, 2001

SANTOS-BUCH, CA & TEIXEIRA, ARL. The immunology of experimental Chagas disease. III. Rejection of allogeneic heart cells in vitro. **J. exp. Med.**, v. 140, p: 38-53, 1974.

SANTOS, A.H. Tendência da mortalidade relacionada à doença de Chagas, Estado de São Paulo, Brasil, 1985 a 2006: estudo usando causas múltiplas de morte. **Rev. Panam. Salud. Publica.**, v.26(4) p :299–309, 2009.

SASSINE, V. O mal esquecido. Série de reportagens. Caderno Especial. Correio Brasiliense, 5 de fev. de 2012, Brasília. Disponível em: <http://www2.correiobrasiliense.com.br/chagas/artigo1.html>.

SESPA. Secretaria de Saúde Pública do Pará. Coordenação Estadual de Doença de Chagas. **Doença de Chagas Aguda. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e tratamento. Guia de consulta rápida para profissionais de saúde**. Belém-PA, 2009.

SESPA. Secretaria de Saúde Pública do Pará. Coordenação Estadual de Doença de Chagas. **Boletim Epidemiológico sobre doença de Chagas no Pará**. Belém-PA, dez, 2013.

SESA. Secretaria da Saúde do Estado do Ceará. **Surto de doença de Chagas em Redenção**. Nota Técnica, 14 mar. p. 2, 2006.

SHAW, J.J.; LAINSON, R.; FRAIHA, H. Considerações sobre a epidemiologia dos primeiros casos autóctones de doença de Chagas registrados em Belém, Pará, Brasil. **Rev. Saúde Pub.**, v.3, p: 153-157, São Paulo, 1969.

SHEPHERD J., et al. West of Scotland Coronary prevention Study Group. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. **N. Engl. J. Med.**, v. 333, p: 1301-71, 1995.

SHERLOCK, I.S.; GUITTON, N.; MILES M.A. *Rhodnius paraensis*, espécie nova do Estado do Pará, Brazil (*Hemítera Reduviidae, Triatominae*). **Acta Amazônica**, v. 7 (1), p: 71-74, 1977.

SHIKANAY-YASUDA, M.P. Surto epidêmico de doença de Chagas aguda em Catolé da Rocha, Paraíba. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 20(II), p: M14-M15, 1987.

SILVA, N.N., et al. Surto epidêmico da doença de Chagas com provável contaminação oral. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 10, n. 5, p: 265-276, 1968.

Silveira A.C.; Dias J.C.P. O controle da transmissão vetorial. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.44, p: 52-63, 2011.

SIMÕES-BARBOSA, A. et al. Hicthhiking *Trypanosoma cruzi* minicircle DNA affects gene expression in human host cells via LINE-1 retrotransposon. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v.101 (8), p: 833-43, 2006.

SIRIANO, L.R., et al. Chagas Disease: Increased Parasitemia during Pregnancy Detected by Hemoculture. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**,v. 84(4), p. 569-574. 2011

SOUZA, W. **O Parasito e sua Interação com os Hospedeiros**. In: BRENER, Z.; ANDRADE, Z. A.; BARRAL-NETO, M. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. 2ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. Cap. 7, 88-123.

SOUZA-LIMA, R. C. Outbreak of acute Chagas disease associated with oral transmission in the Rio Negro region, Brazilian Amazon. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, vol.46, n.4, pp. 510-514, 2013.

SOUZA, W. Structural organization of *Trypanosoma cruzi*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v.104 (Suppl. I), p: 89-100, 2009.

STURM, N. R., et al. Sensitive detection and schizodeme classification of *Trypanosoma cruzi* cells by amplification of kinetoplast minicircle DNA sequences: use in diagnostic of Chagas`disease. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 33, p. 205-214, 1989.

STURM, N. R.; TEIXEIRA, A. **Redes entrelaçadas**. In: TEIXEIRA, A. Doença de Chagas e evolução. Universidade de Brasília, Finatec, 2007. Cap. 3, p.59-64.

TASK Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. **Circulation.**, v. 93(5), p:1043-65, 1996.

TEBEXRENI, A.S. et al. Protocolos Tradicionais em ergometria, suas implicações práticas versus Protocolo de Rampa. CEMAFE – Centro de Medicina da Atividade Física e do Esporte – Escola Paulista de Medicina – UNIFESP. **Rev. Soc. Cardiol.**, São Paulo, vol. 11 (nº 3), p: 519-528, maio/junho, 2001.

TEIXEIRA, A.R.L.; ROTTTERS, F.; MOTT, K.E. Acute Chagas disease. **Gazeta Médica da Bahia**, v.70, p: 176-186, 1970.

TEIXEIRA, A.R.L et al. The immunology of experimental Chagas`disease – IV. Production of lesions in rabbits similar to those of chronic Chagas` disease in man. **Am. J. Path.**, v. 80, p: 163-180, 1975.

TEIXEIRA, A.R.L. et al. Acquired cell-mediated immunodepression in acute Chagas` disease. **J. Clin. Invest.**, v. 62, p:1132-1141, 1978.

TEIXEIRA, A.R. et al. Insertion of *Trypanosoma cruzi* DNA in the genome of mammal host cell through infection. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 24, p: 55-58, 1991.

TEIXEIRA, A.R.; CALIXTO, M.A.; TEIXEIRA, M.L. Chagas disease: carcinogenic activity of the antitrypanosomal nitroarenes in mice. **Mutation Research**, v. 305, p: 189-196, 1994.

TEIXEIRA, A.R. Delayed hypersensitivity to *Trypanosoma cruzi* antigen. I- Experimental study in rabbits. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 28, p: 249-257, 1995a.

TEIXEIRA, A.R.L.; NASCIMENTO, R.J.; STURM, N.R. Evolution and pathology in Chagas Disease – a Review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v.101 (5), p: 463-491, 2006.

TEIXEIRA, A. **Apresentações clínicas da doença de Chagas**. In: \_\_\_\_\_. Doença de Chagas e evolução. Brasília: Universidade de Brasília, Finatec, 2007. Cap. 7, p. 79-88.

TEIXEIRA, A.R.L.; VINAULD, L.M.C; CASTRO, A.M. **Chagas` disease: a global health problem**, NY. p. 18-23. In: \_\_\_\_\_. (eds). Emerging Chagas` Disease. Bentham Science Publishers, 2009.

TEIXEIRA, A. **Patologia da doença de Chagas humana**. In: TEIXEIRA, A. Doença de Chagas e evolução. Universidade de Brasília: Finatec, p: 89-101, 309 p, 2007b.

TEIXEIRA, A.R.L.; HECHT, M.M.; GUIMARO, M.C.; SOUSA, A.O.; NITZ, N. Pathogenesis of Chagas` disease: parasite persistence and autoimmunity. **Journal of Parasitology Research**, v. 24(3), p: 592-630, 2011a.

TEIXEIRA, A.R.L. et al. *Trypanoma cruzi* in the Chicken Model: Chagas- like Heart Disease in the Absence of Parasitism. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v.5, p: e-1000, 2011b.

TINOCO, D.L. et al. The use of 4 immunological exams for the detemination of Chagas disease prevalence in streetsweepers of the City Sanitation Service in the Federal District. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 29, p: 23-40, 1996.

TORRICO, F. et al. Endemic level of congenital *Trypanosoma cruzi* infection in the areas of maternal residence and the development of congenital Chagas disease in Bolivia. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**,v.38, suppl. 2, p. 17-20, 2005.

TYLER, KM & ENGMAN, DM. The life cicle of *Trypanosoma cruzi* revisited. **Int. J. Parasitology**, v 31, New York, p: 472-481, 2001.

VALENTE, S.A.S.; SOUZA, A.; VALENTE, V. Doença de Chagas na Amazônia: situação atual e perspectivas. In: **Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba. **Anais...** : Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, p. 29, TL 063, 1992.

VALENTE, S.A.S.; VALENTE, V.C.; FRAIHA NETO, H. Considerations on the Epidemiology and Transmission of Chagas Disease in the Brazilian Amazon. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94 (Suppl. I), p: 395-398, 1999.

VASCONCELOS, D. F.; JUNQUEIRA, JR. L.F Distinctive impaired cardiac autonomic modulation of heart rate variability in chronic Chagas' indeterminate and heart disease. **J. Electrocardiol**, v. 42(3), p:281-9, 2009.

VASCONCELOS, D. F.; JUNQUEIRA JR. L.F. Função Autonômica Cardíaca e Mecânica Ventricular na Cardiopatia Chagásica Crônica Assintomática. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 98(2), p:111-119, 2012.

VIANNA, G. O. On pathologic anatomy in Chagas disease. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 3, p: 276-294, 1911.

VIOTTI, R. et al. Clinical Predictors of Chronic Chagasic Myocarditis Progression. **Rev. Espanhola Cardiol.**, v. 58 (9), p:1037-44, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of Chagas Disease. Second report of a WHO Expert Committee. **Word Health Organization. Technical Report Series**, 905: 1-109, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATIO. Chagas' disease (American trypanosomiasis) factsheet **WklyEpidemiolRec**,v.34,p:334336,2010.Disponívelem:<http://www.who.int/wer/2010/wer8534.pdf>.

## APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Famílias Pará).

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**TÍTULO:** Associação de *loci* das mutações de kDNA de *T. cruzi* no genoma com prognóstico do chagásico.

#### Informação ao paciente

Nós estamos pedindo seu consentimento para participar voluntariamente em um estudo sobre a Doença de Chagas. Nós queremos saber como a pessoa que tem a infecção pode ter sua saúde alterada. Para isso nós precisamos estudar suas células, onde pode ocorrer a alteração. Talvez essas alterações estejam associadas com as queixas em algumas pessoas. Nós lhe pedimos para participar desse estudo porque sabemos que alguém de sua família tem a doença de Chagas.

Se você decidir participar neste estudo, nós lhe perguntaremos sobre seus filhos e netos; onde você nasceu e sua exposição ao “barbeiro”, sobre seu trabalho e o número de pessoas que vivem em sua casa. Nós tomaremos sua pressão e pulso, e nós faremos eletrocardiograma para analisar a função do seu coração. Quando necessário, será feita monitoração do coração por 24 horas. Nós tiraremos duas amostras de sangue de uma veia de seu braço. Isto pode causar um pequeno desconforto passageiro. Aos homens com alguma alteração comprovada nós pediremos a doação de uma amostra de seu esperma que será obtido por masturbação. Nós lhe daremos os resultados dos exames para você mostrar ao seu médico, se você quiser. Você poderá desistir e se retirar do estudo a qualquer momento, sem prejuízo dos cuidados médicos da equipe do estudo. Esta consulta não será paga por você e não está sujeita a cobrança de qualquer natureza. Nós não garantimos que haverá um benefício direto do estudo para você. Mas nós podemos garantir que o estudo é sigiloso e que nem mesmo a inicial do seu nome aparecerá em qualquer comunicação sobre esse assunto.

#### Decisão do paciente

Depois de ter lido e/ou ouvido a informação que me foi passada, eu sei o que significa o estudo proposto pelos Professor Antônio Teixeira, da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, e Dra. Adriana Almeida, médica cardiologista, deixo registrado aqui que a minha decisão de participar neste estudo é voluntária e tem a importância de colaborar com a pesquisa para conhecer a doença de Chagas. Eu sei também que a minha participação pode ser interrompida por mim a qualquer momento após o início do estudo, sem prejuízo para meu atendimento pela equipe médica da instituição.

A minha assinatura ou impressão digital testemunhada indica que fui eu quem decidiu participar nessa pesquisa e que eu li e/ou me foi dado conhecimento sobre o estudo, sendo que eu entendi tudo da forma explicada acima. Uma cópia deste documento ficará em meu poder.

Belém, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_.

Dra. Adriana de J. B. de Almeida / CRM 5754 PA /(HCGV) - Fones para contato: (91) 96111152/4005 2553.

---

VOLUNTÁRIO:

---

PESQUISADOR:

## APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do DF.

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**TÍTULO: Associação de loci das mutações de kDNA de *T. cruzi* no genoma com prognóstico do chagásico.**

#### Informação ao paciente

Estamos pedindo seu consentimento para participar voluntariamente em um estudo sobre a Doença de Chagas. Nós queremos saber como a pessoa que tem a infecção pode ter sua saúde alterada. Para isso precisamos estudar suas células do sangue para compará-las com as células de pessoas que têm a doença. Talvez essas alterações estejam associadas com as queixas em algumas pessoas. Portanto sua participação será como **caso Controle**, ou seja, aquele que não tem a doença de Chagas, mas que vai ser útil à comparação da sua saúde com o doente.

Se você decidir participar deste estudo, perguntaremos a você onde nasceu e sua exposição ao “barbeiro”, sobre seu trabalho e o número de pessoas que vivem em sua casa. Mediremos sua pressão e pulso, além do exame físico e faremos eletrocardiograma, teste ergométrico, ecodopplercardiograma e holter para analisar a função do seu coração. Precisaremos colher amostras de sangue de uma veia de seu braço. Isto pode causar um pequeno desconforto passageiro. Você poderá desistir e se retirar do estudo a qualquer momento, sem prejuízo dos cuidados médicos da equipe do estudo. Esta consulta não será paga por você e não está sujeita a cobrança de qualquer natureza. Nós não garantimos que haverá um benefício direto do estudo para você. Mas podemos garantir que o estudo é sigiloso e que nem mesmo a inicial do seu nome aparecerá em qualquer comunicação sobre esse assunto.

#### Decisão do paciente

Depois de ter lido e/ou ouvido a informação que me foi passado, sei o que significa o estudo proposto pelos Professores Antonio Teixeira, da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, e Dra. Adriana Almeida, médica cardiologista, e deixo registrado aqui que a minha decisão de participar neste estudo é voluntária e tem a importância de colaborar com a pesquisa para conhecer a doença de Chagas. Eu sei também que minha participação pode ser interrompida por mim a qualquer momento após o início do estudo, sem prejuízo para meu atendimento pela equipe médica da instituição.

Minha assinatura ou impressão digital testemunhada indica que fui eu que decidi participar dessa pesquisa e que li e/ou me foi dado conhecimento sobre o estudo, sendo que eu entendi tudo da forma explicada acima. Uma cópia deste documento ficará em meu poder.

Brasília, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_. Hora: \_\_\_\_: \_\_\_\_.

---

Assinatura ou impressão digital do voluntário:

---

Assinatura do pesquisador:

Fones para contato e email (paciente): \_\_\_\_\_  
 para contato dos pesquisadores: *Dra. Adriana: 61-98119895 Dr. Antonio Teixeira: 61-33494987*

Fones

## APÊNDICE C – Questionário clínico-epidemiológico.

**Trabalho de Pesquisa em doença de Chagas**  
**Laboratório Multidisciplinar em doença de Chagas-LMPDC/UnB**  
**Pesquisadora: Dra. Adriana de Jesus Benevides de Almeida Guimarães**  
**Orientador: Prof. Dr. Antonio Raimundo Lima Cruz Teixeira**  
**Co- Orientadora: Profa. Dra. Nadjar Nitz**

### FICHA EPIDEMIOLÓGICA

#### 1- IDENTIFICAÇÃO:

Grupo: Controles- Brasília /DF

Nome: \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ idade: \_\_\_\_\_ sexo: F ( ) M ( )

Endereço: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ Fone:

residencial/celular (\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_) \_\_\_\_\_

Email: \_\_\_\_\_

Religião: \_\_\_\_\_

Onde nasceu? (Cidade/Estado) \_\_\_\_\_ rural ( ) , urbana ( )?

Procedência (cidade onde mora atualmente): \_\_\_\_\_

Quanto tempo você mora na sua cidade atual? \_\_\_\_\_

Outras cidades onde morou:

\_\_\_\_\_/ UF \_\_\_\_/ tempo? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_/ UF \_\_\_\_/ tempo? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_/ UF \_\_\_\_/ tempo? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_/ UF \_\_\_\_/ tempo? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_/ UF \_\_\_\_/ tempo? \_\_\_\_\_

Em quais cidades e Estados seus pais nasceram? Durante quanto tempo?

Pai: cidade: \_\_\_\_\_/UF\_\_\_\_\_/Tempo? \_\_\_\_\_ área rural? ( ) ou área urbana?( ).

Mãe: cidade: \_\_\_\_\_/UF\_\_\_\_\_/Tempo? \_\_\_\_\_ área rural? ( ) ou área urbana?( ).

Sua Profissão: \_\_\_\_\_

Local de seu trabalho \_\_\_\_\_

Grau de escolaridade: \_\_\_\_\_

Estado civil: solteiro ( ), casado ( ), divorciado ( ), separado ( ), união estável ( ), viúvo ( ), outros ( )

\_\_\_\_\_

Raça: parda ( ) branca ( ) negra ( ) amarela ( ) indígena ( ) ignorada ( ).

Renda familiar: \_\_\_\_\_ salário(s) mínimo(s).

#### 2 – CONDIÇÕES DE MORADIA:

Casa ( ) ou apartamento ( ) ?

Construção do imóvel: madeira ( ) alvenaria ( ) mista ( ) taipa ( )

Número de cômodos (incluindo banheiro(s)) : \_\_\_\_\_.



Cobertura: telha ( ) palha ( ) madeira ( ) mista ( )

Com forro ( ) sem forro ( ) mista ( ) laje ( )

Com tela ( ) sem tela ( )

Banheiro: dentro de casa ( ) fora de casa ( ) dentro e fora da casa ( )

Fossa: biológica seca ( ) aberta ( ) negra ( ) encanada ( ) outros ( )

Terreno: alagado ( ) seco ( ) alagável ( )

Área: rural ( ) urbana ( ) ribeirinho ( )

Água para consumo: encanada ( ) poço ( ) rio ( ) outros ( ) \_\_\_\_\_.

Preparo da água para beber: coada ( ) filtrada ( ) fervida ( ) mineral ( ) Hipoclorito ( ) da torneira ( )

Energia: elétrica ( ) gás ( ) vela ( ) outros ( ) \_\_\_\_\_.

Número de habitantes na residência : \_\_\_\_\_ .

Eletrodomésticos: nº \_\_\_\_\_ .

Meio de transporte : carro próprio ( ), bicicleta ( ), animais ( ) t. urbano ( ) a pés ( ) barco ( ) .

### 3 –PERIDOMICÍLIO E DOMICÍLIO:

Animais: chiqueiro ( ) galinheiro ( ) cachorro ( ) gato ( ) ratos ( ) Aves ( ) animais silvestres ( ) sem animais ( ), mais de um tipo de animal( ) .

Árvores: açazeiro( ), inajazeiro ( ) buritizeiro ( ) outras ( ) sem árvores ( )

Rios ( ) lagos ( ) mata ( ) madeireira ( ) desmatamento ( ) asfalto ( ) reserva ambiental

( ) outros ( ) Empresas ( ) lixo ( ) invasão urbana ( )

### 4 – ALIMENTAÇÃO (frequência e tipo):

Carne vermelha ( ) \_\_\_x dia/ \_\_\_x semana / \_\_\_x mês/ \_\_\_x ano.

Peixe ( ) \_\_\_x dia/ \_\_\_x semana / \_\_\_x mês/ \_\_\_x ano.

Aves ( ) \_\_\_x dia/ \_\_\_x semana / \_\_\_x mês/ \_\_\_x ano.

Porco ( ) \_\_\_x dia/\_\_\_x semana/ \_\_\_x mês/ \_\_\_x ano.

Animal silvestre ( ) \_\_\_x dia/ \_\_\_x semana / \_\_\_x mês/\_\_\_x ano.

Camarão ( ) \_\_\_x dia/ \_\_\_x semana / \_\_\_x mês/\_\_\_x ano.

Açaí ( ) \_\_\_x dia/ \_\_\_x semana / \_\_\_x mês/\_\_\_x ano.

Bacaba ( ) \_\_\_x dia/ \_\_\_x semana / \_\_\_x mês/\_\_\_x ano.

Inajá ( ) \_\_\_x dia/ \_\_\_x semana / \_\_\_x mês/\_\_\_x ano.

Farinha ( ) \_\_\_x dia/ \_\_\_x semana / \_\_\_x mês/\_\_\_x ano.

### 5- LOCAL DA ALIMENTAÇÃO:

No domicílio ( ) No trabalho ( ) Em restaurantes ( )

### 6- QUEM PREPARA O ALIMENTO:

O paciente prepara ( ) Outra pessoa prepara ( )

### 7- VETOR (Transmissor da doença de Chagas: barbeiro, besouro, etc.):

Já viu o barbeiro? Sim ( ) não ( )

Onde viu o inseto? \_\_\_\_\_.

Você já viu o barbeiro na sua residência? Sim ( ) , não ( ) não lembra ( )

Você já viu o barbeiro na residência de seus parentes? Sim ( ) não ( ) não lembra ( )

Quando? \_\_\_\_\_.

O que fez com ele? \_\_\_\_\_.

Foi picado? Sim ( ) não ( )

Quando? \_\_\_\_\_. Localidade onde foi picado:\_\_\_\_\_.

Conhece alguém picado pelo barbeiro? Sim ( ) não ( )

Quem? \_\_\_\_\_.

### 8- TRANSFUSÃO SANGUÍNEA:

Sim ( ) não ( )

Quando ? \_\_\_\_\_

Onde ? \_\_\_\_\_

Por quê? \_\_\_\_\_

Você já doou sangue? Sim ( ) não ( )

Há quanto tempo fez a última doação? \_\_\_\_\_. Quantas vezes doou? \_\_\_\_\_.

### 9- ACIDENTE DE PUNÇÃO/ TRABALHO:

Sim ( ) não ( )

Fez exames? Sim ( ) não ( ) quais ? \_\_\_\_\_

Fez tratamento para a suspeita de infecção chagásica? Sim ( ) não ( )

Qual foi o medicamento utilizado para o acidente? \_\_\_\_\_. Quando? \_\_\_\_\_, quanto tempo?\_\_\_\_\_.

### 10- HISTÓRIA CLÍNICA

Tem doença de Chagas? Sim ( ) , não ( ) .

Caso tenha doença de Chagas, foi diagnosticada por exame parasitológico ( exame de sangue onde é visualizado o parasita causador da doença) ? : sim ( ) , não ( ) ;

Caso tenha doença de Chagas, foi diagnosticado por exame de sorologia?: sim ( ) , não ( ) .

Tem boa saúde?\_\_\_\_\_ Tem suor frio?\_\_\_\_\_ Tem palpitação?\_\_\_\_ Tem falta de ar?\_\_\_\_ Cansa fácil?\_\_\_\_\_ que tipo de esforço?\_\_\_\_\_ já desmaiou?\_\_\_\_\_ quando?\_\_\_\_\_ Perdeu a consciência?\_\_\_\_\_ Teve derrame?\_\_\_\_\_ Tem inchaço nas pernas?\_\_\_\_\_ Tem câimbras?\_\_\_\_\_ tem fraqueza?\_\_\_\_\_ Tem dores musculares?\_\_\_\_\_ onde?\_\_\_\_\_ Tem dificuldade para engolir?\_\_\_\_\_ precisa tomar líquidos ou água para a comida “descer”?\_\_\_\_\_ Desde quando sente dificuldade para engolir?\_\_\_\_\_, qual seu tipo de comida preferida, a sólida, pastosa ou líquida?\_\_\_\_\_ tem dificuldade para evacuar fezes? (obstipação)\_\_\_\_\_ quantos dias fica sem evacuar?\_\_\_\_\_ precisa tomar remédios (laxante) para evacuar?\_\_\_\_\_ qual?\_\_\_\_\_ desde quando tem dificuldade para evacuar?\_\_\_\_\_, já fez exames para avaliar o esôfago e os intestinos?\_\_\_\_\_ o resultado foi normal?\_\_\_\_\_.tem caroço na barriga?\_\_\_\_\_.

### 11- Marque com um (x) a doença que você tem ou faz tratamento, caso tenha outra doença, anote abaixo:

a) Pressão alta ( )

b) Diabetes ( )

- c) Colesterol alto ( )
- d) Câncer ( ); \_\_\_\_\_
- e) Seqüela de derrame cerebral ( )
- f) Doença na tireóide ( ); \_\_\_\_\_
- g) doença dos pulmões ( ): \_\_\_\_\_
- h) doença do fígado ( ): \_\_\_\_\_
- i) varizes ( ) \_\_\_\_\_
- j) doenças do estômago e digestão ( ): \_\_\_\_\_
- l) doença dos rins ( ); \_\_\_\_\_
- m) fumante? ( ) \_\_\_\_\_
- n) ex- fumante há \_\_\_\_\_ (tempo)
- o) Outra doença \_\_\_\_\_

## 12- ANTECEDENTES FAMILIARES

Pai vivo? \_\_\_\_\_ mãe viva? \_\_\_\_\_ seus pais são parentes? \_\_\_\_\_ qual o grau de parentesco? \_\_\_\_\_ seus pais moraram em casa com barbeiro? \_\_\_\_\_ durante quantos anos? \_\_\_\_\_ seu pai já foi picado? \_\_\_\_\_ sua mãe já foi picada? \_\_\_\_\_ você tem irmãos? \_\_\_\_\_ quantos? \_\_\_\_\_. Abaixo liste o nome, idade de seus irmãos e se moraram em casa com barbeiro e por quanto tempo-----  
-----

### Você tem parentes com problemas de saúde abaixo? Escreva sim ou não e diga qual o grau de parentesco

- a) sofre do coração: \_\_\_\_\_
- b) Falta de ar: \_\_\_\_\_
- c) inchaço nas pernas: \_\_\_\_\_
- d) Você tem parente(s) aposentado (s) por doença? Sim ( ), não ( ) Qual(is) a(s) doença(s): \_\_\_\_\_ e o grau de parentesco? \_\_\_\_\_
- e) Você tem parentes que morreram subitamente por doença no coração? Sim ( ), não ( ), quem? \_\_\_\_\_.
- f) Você tem parentes no DF (Distrito Federal)? \_\_\_\_\_  
quantos parentes e qual o grau de parentesco? \_\_\_\_\_

## 13- TRATAMENTO ESPECÍFICO PARA DOENÇA DE CHAGAS

Você já fez algum tratamento específico para doença de Chagas? \_\_\_\_\_ Faz quantos anos? \_\_\_\_\_  
Qual(is) a(s) droga(s) utilizada(s)? \_\_\_\_\_  
Usou durante quantos dias? \_\_\_\_\_

## 14- EXAMES CLÍNICOS

- Já fez RX dos intestinos? sim ( ), não ( ) quando? \_\_\_\_\_. O resultado foi normal ( ) ou alterado ( )?
- Já fez RX dos do esôfago? sim ( ), não ( ) quando? \_\_\_\_\_. O resultado foi normal ( ) ou alterado ( )?
- Já fez eletrocardiograma? sim ( ), não ( ) quando? \_\_\_\_\_. O resultado foi normal ( ) ou alterado ( )?  
Qual foi a alteração no eletrocardiograma? \_\_\_\_\_.

**14- 15- AVALIAÇÃO CLÍNICA****a) Geral:**

Peso: \_\_\_\_\_ Altura: \_\_\_\_\_ temperatura: \_\_\_\_\_ Pulso : regular ( ) irregular ( ) FC: \_\_\_\_\_ Pressão arterial: MSD: \_\_\_\_\_ MSE: \_\_\_\_\_ MID: \_\_\_\_\_ MIE: \_\_\_\_\_ Aparência geral: \_\_\_\_\_ Mucosas: \_\_\_\_\_, pele: \_\_\_\_\_, edema de mmii \_\_\_\_\_ Fâneros: \_\_\_\_\_

**b) Tórax:** inspeção: \_\_\_\_\_

Palpação: \_\_\_\_\_ Auscultapulmonar: \_\_\_\_\_

Auscultacardiaca: \_\_\_\_\_

ictus: \_\_\_\_\_

frêmitos: \_\_\_\_\_ bulhas, estalidos: \_\_\_\_\_ atritos: \_\_\_\_\_ sopro: \_\_\_\_\_

**c) Vascular periférico:**

Artérias(pulsos): carótidas, braquial, radial, femoral, poplítea, tibial, pediosa:

\_\_\_\_\_

Veias: jugular, membros superiores e membros inferiores.

\_\_\_\_\_

**d) Abdome:**

Inspeção: \_\_\_\_\_

Ausculta: \_\_\_\_\_

**e) Exame neurológico:** \_\_\_\_\_

Assinatura do examinador: \_\_\_\_\_

Assinatura do voluntário: \_\_\_\_\_

Local/ Data: \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

## APÊNDICE D – Legendas de exames cardiovasculares.

(ECG) Eletrocardiograma	Laudo *
47	OD: Onda Delta
22	BS:bradicardia sinusal
16	ADRVE: alteração difusa da repolarização ventricular
39	EVI: extrassístole ventricular isolada
68	FA e ADRVE: fibrilação atrial (FA)
67	BDASE, EVI e ADRVE: bloqueio divisional ântero-superior esquerdo (BDASE).
69	BRD e BDASE: bloqueio do ramo direito
21	ARVE: alteração da repolarização em parede inferior.
27	BIRD: bloqueio incompleto do ramo direito
45	SVE: sobrecarga ventricular esquerda
Teste Ergométrico	Laudo
10	TSV: taquicardia supraventricular
8	EV: extrassístole ventricular
16	ICO+ESV: insuficiência coronariana e extrassístole ventricular
6	HAS: resposta hiperreativa da pressão arterial
7	ESV: extrassístole supraventricular.
Ecodopplercardiograma	Laudo
5	Derrame pericárdico e insuficiência valvar pulmonar
10	Derrame pericárdico e insuficiência valvar mitral e aórtica
31	Disfunção diastólica grau I
36	Espessamento subvalvar
38	Insuficiência mitral discreta
37	Espessamento valvar
41	Insuficiência Tricúspide discreta
56	Insuficiência Mitral e Pulmonar ambas de grau discreta
59	Insuficiência mitral e aórtica discretas
62	Insuficiência Tricúspide e Pulmonar de grau discreto
85	Dilatação apical do ventrículo esquerdo
95	Insuficiência e calcificação mitral e aórticas discretas e disfunção diastólica grau I
97	Alteração da contratilidade em parede lateral do Ventrículo Esquerdo
98	Ectasia da raiz da Aorta
104	Insuficiência aórtica e mitral discretas e disfunção diastólica grau I

Obs: A legenda do holter 24h está contida no Apêndice H.

**APÊNDICE E - Associação das mutações de kDNA de *T. cruzi* ao BRD.**

Indivíduo Pará	Grupo de Risco	Gênero	Idade	Clone	Cromossomo	Locus
32	G1	F	56	PA-275	9	CR788268.5 (Indeterminado)
				PA-276	9	CR788268.5 (Indeterminado)
				PA-277	9	CR788268.5 (Indeterminado)
38	G2	F	27	PA-327	Indeterminado	FN397831.1 (LINE-1)
				PA-328	Indeterminado	BC137023.1 (gene OR1-17)
				PA-330	5	AC138951.2 (LINE-1)
				PA-335	Indeterminado	FN397831.1 (LINE-1)
46	G2	M	18	PA-767	20	AL031681.16 (Indeterminado)
				PA-768	12	NG_029859.1 (Indeterminado)
				PA-769	7	AC002383.1 (HERV46I)
				PA-771	16	AC025287.8 (Indeterminado)
				PA-772	6	AL356962.8 (L1M2_5)
59	G1	F	28	PA-883	X	AL732374.14 (LINE-1)
66	G1	F	24	PA-133	11	AL359999.11 (L1P_MA)
				PA-136	12	AC087600.21 (AluJb)
100	G2	M	35	PA-538	8	AC104006.6 (L1P)
				PA-539	8	AC104006.6 (L1P)
				PA-540	Y	AC010104.3 (LINE-1)
				PA-541	X	AL732374.14 (LINE-1)
				PA-542	X	AL732374.14 (LINE-1)
110	G2	M	10	PA-614	Indeterminado	BC137023.1 (gene OR1-17)
					X	AL732374.14 (LINE-1)
				PA-615	Indeterminado	BC137023.1 (gene OR1-17)
					X	AL732374.14 (LINE-1)
				PA-616	Indeterminado	BC137023.1 (gene OR1-17)
					X	AL732374.14 (LINE-1)
PA-617	Indeterminado	BC137023.1 (gene OR1-17)				
122	G2	M	39	PA-489	X	AL732374.14 (LINE-1)
				PA-490	X	AL732374.14 (LINE-1)
				PA-491	X	AC233279.2 (LINE-1)
				PA-492	7	AC012596.4 (PRIMA41)
128	G3	F	24	PA-693	X	AL732374.14 (LINE-1)
				PA-694	1	AL358253.16 (gene PLA2G2E)
					3	AC078793.13 (Indeterminado)
				PA-695	1	AL358253.16 (gene PLA2G2E)
					7	AC012596.4 (LINE-1) / (PRIMA41)
				PA-697	7	AC012596.4 (LINE-1) / (PRIMA41)
				PA-699	7	AC012596.4 (LINE-1) / (PRIMA41)
PA-700	2	AC104069.3 (Indeterminado)				

Fonte: Adaptado de Araújo, 2012.

**APÊNDICE F - Associação das mutações de kDNA de *T. cruzi* a alterações do Eletrocardiograma na amostragem PA.**

Indivíduo Pará	Grupo Chagas	Gênero	Idade	ECG*	Clone	Cromossomo	Locus
40	G2	F	32	2	PA-336	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-337	5	AC129713.1 (L1P_MA2)
					PA-343	Indeterminado	FN397831.1 (LINE-1)
79	G2	F	2	39	PA-935	8	AC020783.8 (L1PA2)
					PA-936	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-938	4	NG_030414.1 (LINE-1)
					PA-939	X	AL732374.14 (LINE-1)
95	G1	F	83	16	PA-522	Indeterminado	BC137023.1 (gene OR1-17)
					PA-524	Indeterminado	BC137023.1 (gene OR1-17)
					PA-525	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-526	X	AL732374.14 (LINE-1)
121	G2	M	58	16	PA-485	5	AC129713.1 (LINE-1)
					PA-486	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-488	2	NG_012634.1 (LINE-1)

Fonte: Adaptado de Araújo, 2012

**APÊNDICE G - Associação das mutações de kDNA às alterações observadas no ECG da amostragem MG/GO.**

M/G	Grupo de Risco	Gênero	Idade	ECG	Clone	Cromossomo	Locus
1389	2	M	76	69	149-M/G	8	RP11-168F16 (LINE-1)
					151-M/G	X	RP13-444K19 (LINE-1)
					152-M/G	X	RP13-444K19 (LINE-1)
1461	3	M	55	16	140	7	RP11-494A9 (ERV1)
1474	3	F	50	21	142	10	RP11-315M8 (Indeterminado)
					143	1	RP11-438I12 (MaLR)
					146	X	RP13-444K19 (LINE-1)
					250	16	CTD-2583P5 (Indeterminado)
1484	3	F	43	27	253	7	RP11-707F14 (LINE-2)
					255	3	RP11-889D3 (LINE-2)
					268	X	RP13-444K19 (LINE-1)
1486	3	M	6	27	280	11,20	CTD-2383B20
							RP3-322G13
							(Indeterminado)
1487	1	M	59	45	282	X	RP13-444K19 (LINE-1)
					287	X	RP13-444K19 (LINE-1)
					289	11	RP11-573E11 (LINE-1)

Fonte: Hecth (2008)



**APÊNDICE H - Associação das mutações de kDNA às alterações encontradas no Teste Ergométrico (TE) das amostragens do PA e MG/GO.**

PA	Gênero	Idade	Grupo de Risco	TE	Clone	Cromossomo	Locus
27	F	48	2	8	PA-240	7	NG_030016.1 (LINE-1)
					PA-241	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-243	5	AC008769.7 (LINE-1)
					PA-247	1	AL591602.7 (LINE-1)
34	M	60	2	16	PA-281	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-282	8	AC104006.6 (L1P)
					PA-283	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-285	8	AC104006.6 (L1P)
					PA-289	1	AL136983.11 (Indeterminado)
37	M	30	2	8	PA-318	15	AC025040.7 (L1M2_5)
					PA-320	15	AC105133.6 (family L2)
					PA-322	15	AC100835.2 (Indeterminado)
95	F	83	1	10	PA-522	Indeterminado	BC137023.1 (gene OR1-17)
					PA-524	Indeterminado	BC137023.1 (gene OR1-17)
					PA-525	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-526	X	AL732374.14 (LINE-1)

Fonte: Adaptado de Araújo (2012)

M/G	Gênero	Idade	Grupo de Risco	TE	Clone	Cromossomo	Locus
1385	M	40	3	6	M/G-195	X	RP13-444K19 (LINE-1)
					M/G-199	8	RP11-677P13 (LINE-1)
					M/G-200	1	RP11-318L16 (LINE-1)
1484	F	43	3	7	M/G-268	X	RP13-444K19 (LINE-1)

Fonte: Adaptado de Hecht (2008).

**APÊNDICE I - Associação das mutações de kDNA às alterações encontradas no Ecodopplercardiograma (ECO) da amostragem PA.**

PA	Grupo de Risco	Gênero	Idade	ECO	Clone	Cromossomo	Locus
24	G1	F	78	95	PA-220	Indeterminado	BC137023.1 (gene OR1-17)
					PA-222	Indeterminado	FN397831.1 (LINE-1)
					PA-223	12	AC087600.21 (AluJb)
					PA-224	Indeterminado	FN397831.1 (LINE-1)
					PA-225	9	CR788268.5 (Indeterminado)
28	G1	M	44	31	PA-251	15	NG_027782.1 (L1P_MA2)
33	G2	F	65	95	PA-279	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-280	X	AL732374.14 (LINE-1)
34	G2	M	60	95	PA-281	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-282	8	AC104006.6 (L1P)
					PA-283	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-285	8	AC104006.6 (L1P)
					PA-289	1	AL136983.11 (Indeterminado)
37	G2	M	30	97	PA-318	15	AC025040.7 (L1M2_5)
					PA-320	15	AC105133.6 (family L2)
					PA-322	15	AC100835.2 (Indeterminado)
47	G2	F	13	31	PA-395	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-397	5	AC129713.1 (LINE-1)
					PA-399	8	AC023926.6 (L1PA13)
					PA-401	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-402	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-404	8	AC023926.6 (L1PA11)
					PA-405	Indeterminado	FN397831.1 (LINE-1)
54	G2	M	11	31	PA-453	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-454	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-458	7	AC002383.1 (HERV46I)
					PA-460	7	AC002383.1 (HERV46I)
						5 7	AC091940.3 (L1M2_5) AC012596.4 (LINE-1) / (PRIMA41)
56	G1	F	68	38	PA-112	6	AP006197.1 (L1M2C_5)
57	G1	M	71	98	PA-144	X	NG_012566.2 (L1PA16)
59	G1	F	28	41	PA-883	X	AL732374.14 (LINE-1)

60	G1	M	22	56	PA-153	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-891	11	AC104237.2 (L1PA2)
					PA-892	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-893	6	AL137181.8 (Indeterminado)
					PA-895	7	AC012596.4 (LINE-1) / (PRIMA41)
66	G1	F	24	41	PA-133	11	AL359999.11 (L1P_MA)
					PA-136	12	AC087600.21 (AluJb)
73	G3	F	13	62	PA-41	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-953	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-956	16	AC244605.2 (Pseudogene/ tRNA-Asp-GAY)
76	G1	M	9	5	PA-967	10	AL512603.26 (Indeterminado)
					PA-969	6	AL137181.8 (LINE-1)
					PA-970	7	AC012596.4 (LINE-1) / (PRIMA41)
124	G3	M	37	36	PA-497	Indeterminado	BC137023.1 (gene OR1-17)
						X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-498	1	AL359704.9 (LINE-1)
					PA-500	X	AL732374.14 (LINE-1)
					PA-501	X	AL732374.14 (LINE-1)

Fonte: Adaptado de Araújo (2012).

**APÊNDICE J - Associação das mutações de kDNA às alterações encontradas no ecodoppler cardiograma da amostragem MG/GO.**

M/G	Grupo de Risco	Gênero	Idade	ECO	Clone	Cromossomo	Locus
1386	1	F	73	59	154	7	CTA-317M2 (Indeterminado)
					155	2	RP11-553M15 (Indeterminado)
					156	7	RP11-494A9 (ERV)
					157	9	RP11-32M23 (LINE-2)
					160	2	RP11-156A1 (Gene ADAM 23)
					161	3	RP11-649F12 (Indeterminado)
					173	X	RP13-444K19 (LINE-1)
					174	X	RP13-444K19 (LINE-1)
					175	X	RP13-444K19 (LINE-1)
					177	14	R-111A21 (LINE-1)
1399	2	F	40	38	181	X	RP13-444K19 (LINE-1)
					185	1	RP4-593M8 (Indeterminado)
					186	7	RP11-95A10 (LINE-1)
					188	6	RP11-546O15 (Indeterminado)
					190	7	CTD-2523K17 (LINE-1)
1400	3	F	15	38	247	X	RP13-444K19 (LINE-1)
					248	15	RP11-420M1 (LINE-1)
1474	3	F	50	104	250	16	CTD-2583P5 (Indeterminado)
					253	7	RP11-707F14 (LINE-2)
					255	3	RP11-889D3 (LINE-2)
1484	3	F	43	38	268	X	RP13-444K19 (LINE-1)
1489	3	F	4	62	201	X	RP13-444K19 (LINE-1)
					203	X	RP13-444K19 (LINE-1)
1414	3	F	42	0	169	X	RP13-444K19 (LINE-1)

**APÊNDICE K – Relação entre as arritmias encontradas nos laudos do holter 24h com os Grupos de Risco da amostragem PA e MG/GO.**

<b>Laudo Holter</b>	<b>Arritmias</b>
2	Extrassístoles ventriculares (EV)
3	Extrassístoles supraventriculares (ESV)
4	ESV e ESSV

<b>PA</b>	<b>Idade</b>	<b>Laudo holter</b>	<b>Grupo de Risco</b>	<b>Gênero</b>
5	54	2	G1	M
25	58	2	G2	M
40	32	2	G2	F
132	36	2	G3	F
68	8	2	G1	M
2	27	3	G2	F
3	24	3	G2	M
4	42	3	G2	F
6	51	3	G2	M
12	18	3	G1	F
13	21	3	G2	M
17	26	3	G2	F
22	4	3	G2	M
23	2	3	G2	F
38	27	3	G2	F
39	25	3	G2	F
42	5	3	G2	M
43	8	3	G1	F
44	5	3	G1	F
45	11	3	G2	F
47	13	3	G2	F
48	4	3	G2	F
51	8	3	G2	F
121	58	3	G2	M
101	28	3	G1	M
103	30	3	G2	F
104	31	3	G2	M
105	14	3	G1	M

106	7	3	G2	M
111	6	3	G2	M
112	6	3	G2	M
114	6	3	G2	M
115	14	3	G2	M
116	13	3	G2	F
117	2	3	G2	F
118	4	3	G2	M
131	18	3	G3	M
128	24	3	G3	F
133	29	3	G3	F
60	22	3	G1	M
70	6	3	G3	F
73	13	3	G3	F
76	9	3	G1	M
1	73	4	G1	F
29	53	4	G1	M
32	56	4	G1	F
33	65	4	G2	F
34	60	4	G2	M
35	35	4	G1	F
54	11	4	G2	M
55	13	4	G2	M
126	50	4	G4	M
137	26	4	G2	M
140	47	4	G4	M
95	83	4	G1	F
96	66	4	G1	F
100	35	4	G2	M
110	10	4	G2	M
56	68	4	G1	F
57	71	4	G1	M
59	28	4	G1	F
64	32	4	G2	M

Fonte: Acervo do autor.

<b>MG/GO</b>	<b>Idade</b>	<b>Laudo holter</b>	<b>Grupo de Risco</b>	<b>Gênero</b>
1417	12	2	G4	F
1474	50	2	G3	F
1484	43	2	G3	F
1406	60	3	G2	F
1385	40	3	G3	M
1400	15	3	G3	F
1483	13	3	G4	M
1415	36	4	G3	M
516	29	4	G3	M

Fonte: Acervo do autor.

**APÊNDICE L – Associação das mutações de kDNA com as alterações descritas nos laudos do Eletrocardiograma e com os Grupos de Risco nas populações do PA e MG/GO.**

<b>Alterações no ECG e mutação de kDNA por Grupo de Risco</b>								
<b>*Cromossomo</b>	<b>G1</b>	<b>%</b>	<b>G2</b>	<b>%</b>	<b>G3</b>	<b>%</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>
1					3	17,65	3	4,35
2			1	2,56	1	5,88	2	2,90
3					2	11,76	2	2,90
4			1	2,56			1	1,45
5			3	7,69			3	4,35
6			1	2,56			1	1,45
7			2	5,13	5	29,41	7	10,14
8			4	10,26			4	5,80
9	3	23,08					3	4,35
10					1	5,88	1	1,45
11	2	15,38			1	5,88	3	4,35
12	1	7,69	1	2,56			2	2,90
16			1	2,56	1	5,88	2	2,90
20			1	2,56	1	5,88	2	2,90
Indeterminado	2	15,38	8	20,51			10	14,49
X	5	38,46	15	38,46	2	11,76	22	31,88
Y			1	2,56		-	1	1,45
<b>Total</b>	<b>13</b>	<b>100,00</b>	<b>39</b>	<b>100,00</b>	<b>17</b>	<b>100,00</b>	<b>69</b>	<b>100,00</b>

ECG: Eletrocardiograma; \* integração de kDNA; G: grupo de Risco.



**APÊNDICE M - Associação das mutações de kDNA com as alterações descritas no Teste Ergométrico das populações do PA e MG/GO e relacionadas aos Grupos de Risco.**

<b>Alterações no TE e mutação de kDNA por Grupo de Risco</b>								
<b>*Cromossomo</b>	<b>G1</b>	<b>%</b>	<b>G2</b>	<b>%</b>	<b>G3</b>	<b>%</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>
<b>1</b>			2	16,67	1	25,00	3	15,00
<b>5</b>			1	8,33			1	5,00
<b>7</b>			1	8,33			1	5,00
<b>8</b>			2	16,67	1	25,00	3	15,00
<b>15</b>			3	25,00			3	15,00
<b>X</b>	2	50	3	25,00	2	50,00	7	35,00
<b>Indeterminado</b>	2	50					2	10,00
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>100,00</b>	<b>12</b>	<b>100,00</b>	<b>4</b>	<b>100,00</b>	<b>20</b>	<b>100,00</b>

TE: teste ergométrico; \* integração de kDNA; G: grupo de Risco.

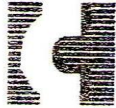
**APÊNDICE N - Associação das mutações de kDNA com as alterações descritas no Ecodopplercardiograma das populações do PA e M/G e relacionadas aos Grupos de Risco.**

<b>Alterações no ECO e mutação de kDNA por Grupo de Risco</b>								
<b>Cromossomo</b>	<b>G1</b>	<b>%</b>	<b>G2</b>	<b>%</b>	<b>G3</b>	<b>%</b>	<b>Total</b>	<b>%</b>
<b>1</b>			<b>2</b>	<b>7,14</b>	<b>1</b>	<b>6,25</b>	<b>3</b>	<b>4,23</b>
<b>2</b>	<b>2</b>	<b>7,41</b>					<b>2</b>	<b>2,82</b>
<b>3</b>	<b>1</b>	<b>3,70</b>			<b>1</b>	<b>6,25</b>	<b>2</b>	<b>2,82</b>
<b>5</b>			<b>2</b>	<b>7,14</b>			<b>2</b>	<b>2,82</b>
<b>6</b>	<b>3</b>	<b>11,11</b>	<b>1</b>	<b>3,57</b>			<b>4</b>	<b>5,63</b>
<b>7</b>	<b>4</b>	<b>14,81</b>	<b>5</b>	<b>17,86</b>			<b>9</b>	<b>12,68</b>
<b>8</b>			<b>4</b>	<b>14,29</b>			<b>4</b>	<b>5,63</b>
<b>9</b>								
<b>10</b>	<b>1</b>	<b>3,70</b>					<b>1</b>	<b>1,41</b>
<b>11</b>	<b>2</b>	<b>7,41</b>					<b>2</b>	<b>2,82</b>
<b>12</b>	<b>2</b>	<b>7,41</b>					<b>2</b>	<b>2,82</b>
<b>14</b>	<b>1</b>	<b>3,70</b>					<b>1</b>	<b>1,41</b>
<b>15</b>	<b>1</b>	<b>3,70</b>	<b>3</b>	<b>10,71</b>	<b>1</b>	<b>6,25</b>	<b>5</b>	<b>7,04</b>
<b>16</b>					<b>2</b>	<b>12,50</b>	<b>2</b>	<b>2,82</b>
<b>X</b>	<b>7</b>	<b>25,93</b>	<b>10</b>	<b>35,71</b>	<b>10</b>	<b>62,50</b>	<b>27</b>	<b>38,03</b>
<b>Indeterminado</b>	<b>3</b>	<b>11,11</b>	<b>1</b>	<b>3,57</b>	<b>1</b>	<b>6,25</b>	<b>5</b>	<b>7,04</b>
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>100,00</b>	<b>28</b>	<b>100,00</b>	<b>16</b>	<b>100,00</b>	<b>71</b>	<b>100,00</b>

ECO: Ecodopplercardiograma; \* integração de kDNA; G: grupo de Risco.

## 10 ANEXOS

## ANEXO A – Folha de aprovação do Comitê de Ética do HCGV.



FUNDAÇÃO PÚBLICA ESTADUAL  
HOSPITAL DE CLÍNICAS GASPAR VIANNA  
GERÊNCIA DE ENSINO E PESQUISA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA




Belém, 21 de maio de 2009.

**PARECER DE ÉTICA DE PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES  
HUMANOS**

1. Protocolo: Nº 054/2009 - CEP/FHCGV
2. Projeto de Pesquisa: "ASSOCIAÇÃO DE LOCI DAS MUTAÇÕES DE  
KDNA DE TRYPANOSSOMA CRUZI NO GENOMA COM  
PROGNÓSTICO DO CHAGÁSICO DA AMAZÔNIA"
3. Pesquisador Responsável: Adriana de Jesus Benevides de Almeida
4. Instituição/Unidade: Fundação Pública Estadual Hospital de Clínicas  
Gaspar Vianna
5. Data de Entrada: 08/05/2009
6. Data do Parecer: 21/05/2009

PARECER: O Comitê de Ética em Pesquisa da FHCGV analisou o Projeto supracitado e, conforme Parecer datado de 21/05/2009 emitido por este CEP, verificou que foram atendidas todas as adequações recomendadas de acordo com as normas da Resolução 196/96-CNS/MS. Portanto manifesta-se pela sua aprovação.

Parecer: **APROVADO**

  
Helder José Lima Reis  
Coordenador do CEP/FHCGV



GEPI/FHCGV

Tv. Alferes Costas s/n – Pedreira – Belém (PA) – CEP: 66087-660

Fone/Fax: (091)3276-1770

E-mail: gepfhcgv@yahoo.com.br

## ANEXO B – Folha de Rosto da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.

MINISTÉRIO DA SAÚDE Conselho Nacional de Saúde Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP			
<b>FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS</b>			<b>FR - 262390</b>
Projeto de Pesquisa Associação de Loci das Mutações de KDNA de Trypanosoma cruzi no Genoma com Prognóstico do Chagásico da Amazônia			
Área de Conhecimento 4.00 - Ciências da Saúde		Grupo Grupo I	Nível
Área(s) Temática(s) Especial(is) Genética Humana, Novos Fármacos, Novos Equipamentos, Novos Procedimentos, Biotecnologia, Pesquisa com Cooperação Estrangeira			Fase Fase III
Unitermos Doença de Chagas na Amazônia, Doença de Chagas Aguda, Genoma na Doença de Chagas, KDNA do Trypanosoma cruzi			
<b>Sujeitos na Pesquisa</b>			
Nº de Sujeitos no Centro 129	Total Brasil 129	Nº de Sujeitos Total 129	Grupos Especiais Criança e ou menores de 18 anos,
Placebo NAO	Medicamentos HIV/AIDS NÃO	Wash-out NÃO	Sem Tratamento Específico SIM
Banco de Materiais Biológicos SIM			
<b>Pesquisador Responsável</b>			
Pesquisador Responsável ADRIANA DE JESUS BENEVIDES DE ALMEIDA		CPF 410.123.842-49	Identidade 2013900
Área de Especialização CARDIOLOGIA		Maiores Titulação MESTRADO	Nacionalidade BRASILEIRA
Endereço AV. JOSÉ BONIFÁCIO, 2497		Bairro GUANÁ	Cidade BELEM - PA
Código Postal 66066-360	Telefone 40052553 / 32299599	Fax	Email adrijoa@hotmail.com
<b>Termo de Compromisso</b>			
Declaro que conheço e cumpro os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e publicar os resultados assim eles favorecerem a ciência.			
Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima.			
Data: 12.05.2009		Assinatura: <i>Adriana de Jesus Benedita de Almeida</i>	
<b>Instituição Onde Será Realizado</b>			
Nome FUNDAÇÃO PÚBLICA ESTADUAL, HOSPITAL DAS CLINICAS GASPAR VIANA		CNPJ 22.850.973/0001-77	Nacional/Internacional Nacional
Unidade/Órgão Apoio Diagnóstico		Participação Estrangeira SIM	Projeto Multicêntrico NÃO
Endereço TRAV. ALFERES COSTA		Bairro	Cidade - PA
Código Postal 66087600	Telefone	Fax	Email
<b>Termo de Compromisso</b>			
Declaro que conheço e cumpro os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autônomo ou cooperativo.			
Nome: <i>Benedetto Paulo Bezerra</i>		Assinatura: <i>Benedetto Paulo Bezerra</i>	
Data: 13.05.09		Carimbo de Instituição: <i>CRM 2538</i>	
<b>Vinculada</b>			
Nome Universidade de Brasília		CNPJ ..	Nacional/Internacional Nacional
Unidade/Órgão LABORATÓRIO MULTIDISCIPLINAR DE PESQUISA EM DOENÇA DE CHAGAS		Participação Estrangeira SIM	Projeto Multicêntrico NÃO
Endereço UnB - Campus Asa Norte		Bairro Asa Norte	Cidade Brasília -
Código Postal 70610900	Telefone (61)3307 2625	Fax	Email psides@unb.br
<b>Termo de Compromisso</b>			
Declaro que conheço e cumpro os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares.			
Nome: _____		Assinatura: _____	
Data: ____/____/____		Assinatura: _____	

PROTÓCOLO Nº 054-2009

SECRETARIA CEP/FHCGV

DATA: 08/05/2009

SECRETARIA *Felipe Augusto*

ANEXO C - SINAN

**SINAN**  
**SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO**  
**FICHA DE INVESTIGAÇÃO DOENÇA DE CHAGAS AGUDA** Nº \_\_\_\_\_

**República Federativa do Brasil**  
**Ministério da Saúde**

**CASO SUSPEITO:**  
 - Febre prolongada (>7 dias) e quadro clínico sugestivo de DCA, na presença de dados epidemiológicos compatíveis, como: residente ou visitante de área com ocorrência de triatomíneos; ou antecedente recente de transfusão sanguínea ou transplante de órgão; ou ingestão de alimento suspeito de contaminação pelo T.cruzi; ou recém nascido de mãe infectada.

**CASO CONFIRMADO:**  
 a- Critério laboratorial: paciente com exame parasitológico direto positivo com ou sem sintomas OU sorologia positiva com anticorpos anti T. cruzi classe IgM no sangue periférico OU sorologia positiva com anticorpos da classe IgG, com alteração na concentração de pelo menos três títulos em um intervalo mínimo de 21 dias em amostras pareadas OU achados necroscópicos positivos.  
 b- Critério clínico-epidemiológico: vínculo epidemiológico com casos confirmados de DCA em surtos da doença.

---

**Dados Gerais**

1 Tipo de Notificação: 2 - Individual

2 Agravado/doença: **DOENÇA DE CHAGAS AGUDA** Código (CID10): B 57.1 3 Data da Notificação: \_\_\_\_\_

4 UF: \_\_\_\_\_ 5 Município de Notificação: \_\_\_\_\_ Código (IBGE): \_\_\_\_\_

6 Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora): \_\_\_\_\_ Código: \_\_\_\_\_ 7 Data dos Primeiros Sintomas: \_\_\_\_\_

---

**Notificação Individual**

8 Nome do Paciente: \_\_\_\_\_ 9 Data de Nascimento: \_\_\_\_\_

10 (ou) idade: 1 - Hora  2 - Dia  3 - Mês  4 - Ano  11 Sexo: M - Masculino  F - Feminino  12 Gestante: 1-1º Trimestre  2-2º Trimestre  3-3º Trimestre  4 - Idade gestacional ignorada  5 - Não  6 - Não se aplica  9 - Ignorado  13 Raça/Cor: 1 - Branca  2 - Preta  3 - Amarela  4 - Parda  5 - Indígena  9 - Ignorado

14 Escolaridade: 0 - Analfabeto  1-1ª a 4ª série incompleta do EF (antigo ginásio ou 1º grau)  2-4ª série completa do EF (antigo primário ou 1º grau)  3-5ª a 8ª série incompleta do EF (antigo ginásio ou 1º grau)  4 - Ensino fundamental completo (antigo ginásio ou 1º grau)  5 - Ensino médio incompleto (antigo colegial ou 2º grau)  6 - Ensino médio completo (antigo colegial ou 2º grau)  7 - Educação superior incompleta  8 - Educação superior completa  9 - Ignorado  10 - Não se aplica

15 Número do Cartão SUS: \_\_\_\_\_ 16 Nome da mãe: \_\_\_\_\_

---

**Dados de Residência**

17 UF: \_\_\_\_\_ 18 Município de Residência: \_\_\_\_\_ Código (IBGE): \_\_\_\_\_ 19 Distrito: \_\_\_\_\_

20 Bairro: \_\_\_\_\_ 21 Logradouro (rua, avenida,...): \_\_\_\_\_ Código: \_\_\_\_\_

22 Número: \_\_\_\_\_ 23 Complemento (apto., casa, ...): \_\_\_\_\_ 24 Geo campo 1: \_\_\_\_\_

25 Geo campo 2: \_\_\_\_\_ 26 Ponto de Referência: \_\_\_\_\_ 27 CEP: \_\_\_\_\_

28 (DDD) Telefone: \_\_\_\_\_ 29 Zona: 1 - Urbana  2 - Rural  3 - Periurbana  9 - Ignorado  30 País (se residente fora do Brasil): \_\_\_\_\_

---

**Dados Complementares do Caso**

31 Data da Investigação: \_\_\_\_\_ 32 Ocupação: \_\_\_\_\_

33 Deslocamento (viagens para áreas infestadas até 120 dias antes do início dos sintomas):  
 UF: \_\_\_\_\_ Município: \_\_\_\_\_

---

**Antecedentes epidemiológicos**

34 Presença de Vestígios de Triatomídeos Intra-Domicílio: 1 - Sim  2 - Não  3 - Não Realizado  9 - Ignorado  35 Data de encontro dos vestígios: \_\_\_\_\_ 36 História de Uso de Sangue ou Hemoderivados nos Últimos 120 Dias: 1 - Sim  2 - Não  9 - Ignorado

37 Existência de Controle Sorológico na Unidade de Hemoterapia: 1-Sim  2-Não  3-Não se Aplica  9-Ignorado  38 Manipulação/Contato de Material com T. cruzi: 1 - Sim  2 - Não  3 - Não se Aplica  9 - Ignorado

39 Menor ou igual a 9 meses de idade: Mãe com Infecção Chagásica: 1-Sim  2-Não  3-Não se Aplica  9-Ignorado  40 Possibilidade de transmissão por via oral: 1-Sim  2-Não  9-Ignorado

Doença de Chagas Aguda Sinan NET SVS 08/10/2009

