



# Universidade de Brasília

FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

Tese de Doutorado

SILIANA MARTINS MORAIS

## **Detecção de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* em pacientes idosos: relação com os perfis clínico e imunológico**

Supervisão:  
Dra. Carla Nunes de Araújo  
Universidade de Brasília (UnB)  
Faculdade de Ceilândia (FCE)

**Brasília - DF**  
**Agosto, 2024**



# Universidade de Brasília

FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

Tese de Doutorado

**SILIANA MARTINS MORAIS**

**Detecção de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* em pacientes idosos:  
relação com os perfis clínico e imunológico**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciências Médicas, na área de concentração Ciências Aplicadas à Saúde.

Orientadora: Dra. Carla Nunes de Araújo

**Brasília - DF  
Agosto, 2024**

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Interação Patógeno-Hospedeiro, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília (UnB), com os seguintes apoios financeiros: Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF – Processo 00193-00002600/2022-70); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Programa de apoio a Núcleos de excelência (PRONEX); Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP); UnB.

## **BANCA EXAMINADORA**

Presidente: Profa. Dra. Carla Nunes de Araújo (orientadora)

Universidade de Brasília

Membro 1: Dra. Maria Liz Cunha de Oliveira

Secretaria de Saúde do Distrito Federal – SESDF

Membro 2: Dra. Camila Lasse Silva

Ministério da Saúde

Membro 3: Profa. Dra. Laiane Medeiros Ribeiro

Universidade de Brasília

Suplente: Prof. Dr. Otávio de Toledo Nóbrega

Universidade de Brasília

Local: Teams

Data: 12/08/2024

Horário: 8h00min

**Dedico esse trabalho à todas as vítimas de Covid-19, em especial àqueles a quem, embora não tenham resistido, pude entregar todo meu conhecimento, competência e dedicação.**

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora, Profa. Dra. Carla Nunes de Araújo, pela oportunidade de realizar esse estudo, por acreditar em mim e não me deixar desistir, mesmo frente a todas as adversidades. Por sua competência, acolhimento e sabedoria, por sua amizade e carinho há tantos anos;

À professora Flávia Nader Motta pelo apoio e orientações para a construção de todo o referencial teórico, e acompanhamento durante as etapas experimentais;

Aos professores Alex Leite Pereira, Wildo Navegantes de Araújo, Walter Massa Ramalho e Rodrigo Haddad, pela doação de reagentes para a realização do estudo.

Ao professor Jaime Martins de Santana e a toda a equipe do Laboratório de Interação Patógeno-Hospedeiro (LIPH), por me receberem e possibilitarem que eu realizasse toda as etapas experimentais da pesquisa;

À minha família pelo incentivo, apoio e admiração sempre;

Aos amigos que estiveram ao meu lado, sempre acrescentando ânimo e coragem quando me faltava;

À minha prima e irmã Eliara, com quem eu pude compartilhar todos os momentos desta caminhada, por me inspirar e ensinar tantas coisas.

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação”.

(Simone de Beauvoir)

## RESUMO

A doença de Chagas (DC) é uma doença tropical negligenciada silenciosa, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Este parasito é transmitido principalmente por triatomíneos, mas há outras vias de transmissão que desempenham um papel importante em países não endêmicos. O tratamento dos indivíduos infectados na fase crônica é um desafio, principalmente no caso de indivíduos idosos, tendo em vista o declínio que ocorre com o avanço da idade. Os aspectos específicos do processo de envelhecimento em chagásicos precisam ser melhor compreendidos. Este estudo teve como objetivo determinar a prevalência de anticorpos IgG contra o *T. cruzi* nas amostras de soro de idosos de uma coorte urbana brasileira, bem como comparar as características clínicas, bioquímicas e imunológicas dos idosos com sorologia positiva e negativa para DC. Foi realizado um estudo retrospectivo com um total de 865 amostras de soro de uma população de idosos brasileiros. As amostras de soro foram obtidas de biorrepositórios. As amostras biológicas foram coletadas do sangue periférico dos pacientes em jejum de 8 a 12 horas, com soro coletado, inativado a 56°C durante 30 min e armazenado em alíquotas a -20°C até a sua utilização. Os soros foram utilizados nos ensaios bioquímicos, dosagem de citocinas utilizando o kit *Cytometric Bead Array* (CBA) I e para o ensaio Biolisa recombinante Chagas (Bioclin), seguindo as instruções do fabricante. A prevalência de sorologia positiva para DC em idoso, encontrada nesse estudo, foi 10,64% idosos (92/865; 10,64%). O grupo avaliado foi composto por idosos com mais de 73 anos, dos quais 67,4% eram do sexo feminino. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos positivo e negativo para DC quanto a média de idade e sexo. Os valores de glicemia, o índice HOMA-IR, e o percentual de indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 se relacionaram negativamente com a infecção por *T. cruzi* nesse estudo. Os índices citados foram todos estatisticamente diferentes entre os grupos, sendo menores entre os idosos positivos para DC. Quanto aos mediadores químicos de imunidade dos idosos incluídos neste estudo, os níveis séricos de IL-6 encontrados nos idosos com sorologia positiva para DC foram menores do que os encontrados no grupo negativo. Esse estudo é importante para compreender melhor a DC em idosos e os cuidados de saúde necessários a essa população.

**Palavras-chave:** Doença de Chagas; doença tropical negligenciada; envelhecimento.

## ABSTRACT

Chagas disease (CD) is a silent, neglected tropical disease caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*. Triatomines mainly transmit this parasite, but other transmission routes are important in non-endemic countries. The treatment of individuals infected in the chronic phase is a challenge, especially in the case of elderly individuals, given the decline that occurs with advancing age. The specific aspects of the aging process in chagasic patients need to be better understood. This study aimed to determine the prevalence of IgG antibodies against *T. cruzi* in serum samples from elderly people in an urban Brazilian cohort and compare the clinical, biochemical, and immunological characteristics of elderly people with positive and negative serology for CD. A retrospective study was carried out with 865 serum samples from a population of elderly Brazilians. The serum samples were obtained from biorepositories. The biological samples were collected from the peripheral blood of patients fasting for 8 to 12 hours, with serum collected, inactivated at 56°C for 30 min, and stored in aliquots at -20°C until use. The sera were used for biochemical assays, cytokine dosage using the Cytometric Bead Array (CBA) I kit, and the Biolisa recombinant Chagas assay (Bioclin), following the manufacturer's instructions. The prevalence of positive serology for CD in the elderly in this study was 10.64% (92/865). The group assessed was made up of elderly people aged over 73, 67.4% of whom were female. There was no statistically significant difference between the Chagas disease positive and negative groups regarding mean age and gender. Blood glucose values, the HOMA-IR index, and the percentage of individuals with type 2 diabetes mellitus were negatively correlated with *T. cruzi* infection in this study. The index mentioned was statistically different between the groups, being lower among the elderly who were positive for CD. As for the chemical mediators of immunity in the elderly included in this study, the serum levels of IL-6 found in those who tested positive for CD were also significantly lower than those found in the opposing group. This study is essential for a better understanding of CD in the elderly and the health care needed for this population.

Keywords: Chagas disease; neglected tropical disease; aging.

## Sumário

AGRADECIMENTOS.....	6
LISTA DE ABREVIATURAS.....	11
LISTA DE FIGURAS.....	12
INTRODUÇÃO .....	14
A Doença de Chagas – Uma Doença Tropical Negligenciada .....	14
<i>Trypanosoma cruzi</i> – O Agente Etiológico .....	15
Triatomíneos – Os Vetores Intermediários .....	16
Vias de Transmissão e Ciclo Biológico.....	17
Manifestações Clínicas .....	21
Patogênese.....	23
Diagnóstico.....	23
Tratamento.....	27
Epidemiologia .....	28
Envelhecimento.....	29
A Doença de Chagas e os Idosos .....	30
JUSTIFICATIVA .....	32
OBJETIVOS.....	33
Geral .....	33
Específicos .....	33
METODOLOGIA.....	34
Tipo de estudo.....	34
Amostras, análises bioquímicas e avaliação clínica .....	34
Análise quantitativa das citocinas séricas .....	35
Ensaio de Chagas recombinante Biolisa® .....	36
Análise estatística.....	38
Critérios de inclusão e exclusão .....	39
Declaração de aprovação ética .....	40
RESULTADOS .....	41
DISCUSSÃO .....	45
CONCLUSÕES.....	49
PERSPECTIVAS .....	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	51

## LISTA DE ABREVIATURAS

DC	Doença de Chagas
DTN	Doenças Tropicais Negligenciadas
OMS	Organização Mundial da Saúde
MS	Ministério da Saúde do Brasil
DTU	Discrete Typing Units
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
DCNT	Doenças Crônicas não Transmissíveis
AF	Atividade Física
ABVD	Atividade Básicas de Vida Diária
AIVD	Atividade Instrumental de Vida Diária
AVD	Atividade de Vida Diária
PM	Intestino Médio Posterior
P-rdEpi	Epimastigognese primária
S-rdEpi	Epimastigogênese secundária
MTs	Tripomastigota metacíclico
BT	Tripomastigota sanguíneo
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde
WB	Western-blot
ELISA	Ensaio imunoabsorvente ligado à enzima
IFI	Teste de imunofluorescência indireta
HAI	Teste de Hemaglutinação indireta
ICC	Insuficiência Cardíaca crônica
FE	Fração de ejeção
ECG	Eletrocardiograma
PAS	Pressão arterial sistólica
PAD	Pressão arterial diastólica
PA	Pressão arterial

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Ciclo de Transmissão Vetorial da Doença de Chagas. Pg 19

**Figura 2.** Formas de transmissão do *Trypanosoma cruzi*

**Figura 3.** Fluxograma para diagnóstico de Doença de Chagas nas fases Aguda e Crônica por critérios Laboratoriais. Pg 25.

**Figura 4.** Pirâmide etária comparativa entre os anos de 2010 e 2022, segundo dados do IBGE. Pg 29.

**Figura 5.** Ensaio de Chagas recombinante Biolisa®

**Figura 6.** Prevalência de teste positivo para Doença de Chagas entre idosos do estudo. Pg 41.

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

**Quadro 1.** Manifestações clínicas de Chagas na fase aguda. Pg 21.

**Tabela 1.** Comparação de características clínicas e bioquímicas sérica em jejum em idosos com sorologia positiva ou negativa para doença de Chagas. Pg 43.

**Tabela 2.** Análise dos mediadores imunitários em idosos com sorologia positiva ou negativa para a doença de Chagas. Pg 44.

## INTRODUÇÃO

### **A Doença de Chagas – Uma Doença Tropical Negligenciada**

Há mais de um século atrás, o protozoário *Trypanosoma cruzi* foi identificado por Carlos Chagas como o agente etiológico da doença de Chagas. Carlos Chagas elucidou as características clínicas, anatomopatológicas, epidemiológicas, bem como seu vetor, um inseto da ordem Hemiptera (BRENER, Z.; ANDRADE, Z.A.; BARRAL-NETO, 2000). A distribuição mundial da doença é concentrada principalmente no continente americano, devido a presença de mais de 150 espécies do inseto vetor (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), e por isso também é denominada Tripanossomíase Americana (MENDES; LIMA; MANCUSSI, 2005).

A doença de Chagas continua a ser um problema social e de saúde pública importante na América Latina e é classificada como uma das dezessete doenças tropicais negligenciadas (DTN) listadas pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2024a). Este grupo de DTN inclui as doenças que afetam sobretudo a faixa tropical do planeta e, para as quais, em geral, não são direcionados investimentos significativos, seja para o desenvolvimento de vacinas e novos fármacos de tratamento, ou mesmo, quanto ao desenvolvimento de programas de controle e prevenção, que atualmente são insuficientes (PAULO, 2009). Portanto, as DTN estão concentradas em regiões de menor progresso socioeconômico, em áreas rurais remotas ou em favelas urbanas e são consideradas um indicador da pobreza e da desvantagem, uma vez que afeta principalmente as populações com baixa visibilidade e pouca voz política, causam estigma e discriminação, relativamente negligenciadas pelos investigadores e tem um impacto considerável na morbidade e mortalidade.

Após grandes esforços de entidades e ativistas voltados às DTN, se obteve certo progresso quanto ao repasses de recursos financeiros, oriundos de países desenvolvidos ou de instituições filantrópicas, voltados para o financiamento de programas de controle, além de desenvolvimento de parcerias

em programas de nutrição e educação em saúde (WHO, 2010). Entretanto, a migração e modos específicos de transmissão tem levado a doença de Chagas, entre outras DTN, a se espalhar para além das suas fronteiras geográficas naturais e se tornar um problema global (SCHMUNIS; YADON, 2010). Além disso, o perfil típico dos pacientes com doença de Chagas tem mudado devido ao aumento da idade e às comorbidades associadas (REQUENA-MÉNDEZ *et al.*, 2015).

### ***Trypanosoma cruzi* – O Agente Etiológico**

O *T. cruzi* é um protozoário flagelado da ordem dos cinetoplastídeos, família Trypanosomatidae (Oswaldo Cruz, 1909). Trata-se de um parasita dependente de insetos triatomíneos como seu hospedeiro intermediário, os quais podem depositar as formas infectantes do parasito através das fezes, durante sua alimentação (ZINGALES, B *et al.*, 2009). Durante seu ciclo de vida o *T. cruzi* apresenta quatro formas de desenvolvimento, que ocorrem de forma subsequente entre o inseto, que atua como vetor, e o hospedeiro vertebrado. A forma epimastigota é sua forma de vida proliferativa e pode ser encontrada no intestino médio do vetor, enquanto a forma tripomastigota metacíclica, forma não proliferativa, está presente na porção final do intestino do inseto. Já no hospedeiro vertebrado são encontradas principalmente as formas tripomastigotas e amastigotas, sendo a primeira a forma infectante, e a segunda a forma proliferativa intracelular, a qual se diferencia bastante das outras formas de vida do *T. cruzi*, sendo arredondadas/ovaladas e apresentando flagelo curto que não se exterioriza da bolsa flagelar (DE SOUZA; DE CARVALHO; BARRIAS, 2010).

O *T. cruzi* é heterogêneo, ou seja, apresenta uma ampla diversidade genética e fenotípica, que podem ser detectadas por meio de marcadores moleculares, bioquímicos e imunológicos (ZINGALES, Bianca, 2018). Devido à heterogeneidade das populações do parasito, várias classificações têm sido propostas, baseadas em biodemas, zimodemas, esquizodemas, ribodemas,

clones, linhagens, e clados ou unidades discretas de tipagem (*discrete typing units* - DTU), relacionadas à distribuição geográfica, patogênese, características clínicas e resposta à terapia (ZINGALES, B *et al.*, 2009). Atualmente, a classificação em DTU tem sido a que melhor agrupa as populações de *T. cruzi* geneticamente semelhantes. Nela, o *T. cruzi* é subdividido em seis DTU, que foram denominadas TcI, TcII, TcIII, TcIV, TcV e TcVI (ZINGALES, B *et al.*, 2009).

Quanto à distribuição geográfica, estudos epidemiológicos mostram que há uma variação entre os genótipos de *T. cruzi*, sendo o TcI mais prevalente no norte do Brasil, América Central e do Norte, encontrado em ciclos silvestres e domésticos. Já nos países do cone Sul da América, TcI e TcII foram encontrados no ciclo silvestre e apenas TcII associado a infecção humana (CARRASCO *et al.*, 2012). As DTU do *T. cruzi* podem estar relacionadas a fatores específicos de virulência e patogenicidade determinando as diversas manifestações clínicas da doença de Chagas, e até mesmo a resistência ao tratamento da doença. Portanto, a identificação da distribuição das cepas do *T. cruzi* no Brasil pode auxiliar nos estudos sobre as características genéticas e biológicas associada à cada DTU, permitindo um conhecimento mais aprofundado do perfil clínico-epidemiológico da doença de Chagas no Brasil (DA CUNHA *et al.*, 2022).

### **Triatomíneos – Os Vetores Intermediários**

Em áreas endêmicas, o *T. cruzi* é transmitido por hemípteros hematófagos da subfamília Triatominae, também conhecidos como barbeiros. Todos os estágios de desenvolvimento do triatomíneo, de ninfa a insetos adultos, se alimentam de sangue de animais vertebrados, processo conhecido como repasto sanguíneo, ou hematofagia (Lavoipierre *et al.*, 1959). Três gêneros de triatomíneos, *Triatoma*, *Panstrongylus* e *Rhodnius*, contém a maioria das espécies com maior importância epidemiológica na transmissão do *T. cruzi*. Todos os três gêneros estão amplamente distribuídos na América Latina, do México à Argentina e Chile, e habitam tanto florestas como áreas mais secas (YAMAGATA; NAKAGAWA, 2006).

A saliva desses insetos é de extrema importância para a transmissão do *T. cruzi*, já que assegura o elo estabelecido pelo hábito hematofágico, acoplando os três principais elementos da cadeia epidemiológica: o vetor, o parasito e o hospedeiro (LAVOIEPIERRE; DICKERSON; GORDON, 2017). Na saliva dos triatomíneos estão presentes moléculas com atividades anti-hemostáticas, anti-inflamatórias e componentes imunomoduladores que visam garantir a completude do repasto sanguíneo (SANTIAGO *et al.*, 2020), aumentando a possibilidade de transmissão do *T. cruzi* para o hospedeiro vertebrado e/ou a aquisição do *T. cruzi* pelo inseto que estiver se alimentado de um hospedeiro vertebrado infectado pelo parasito.

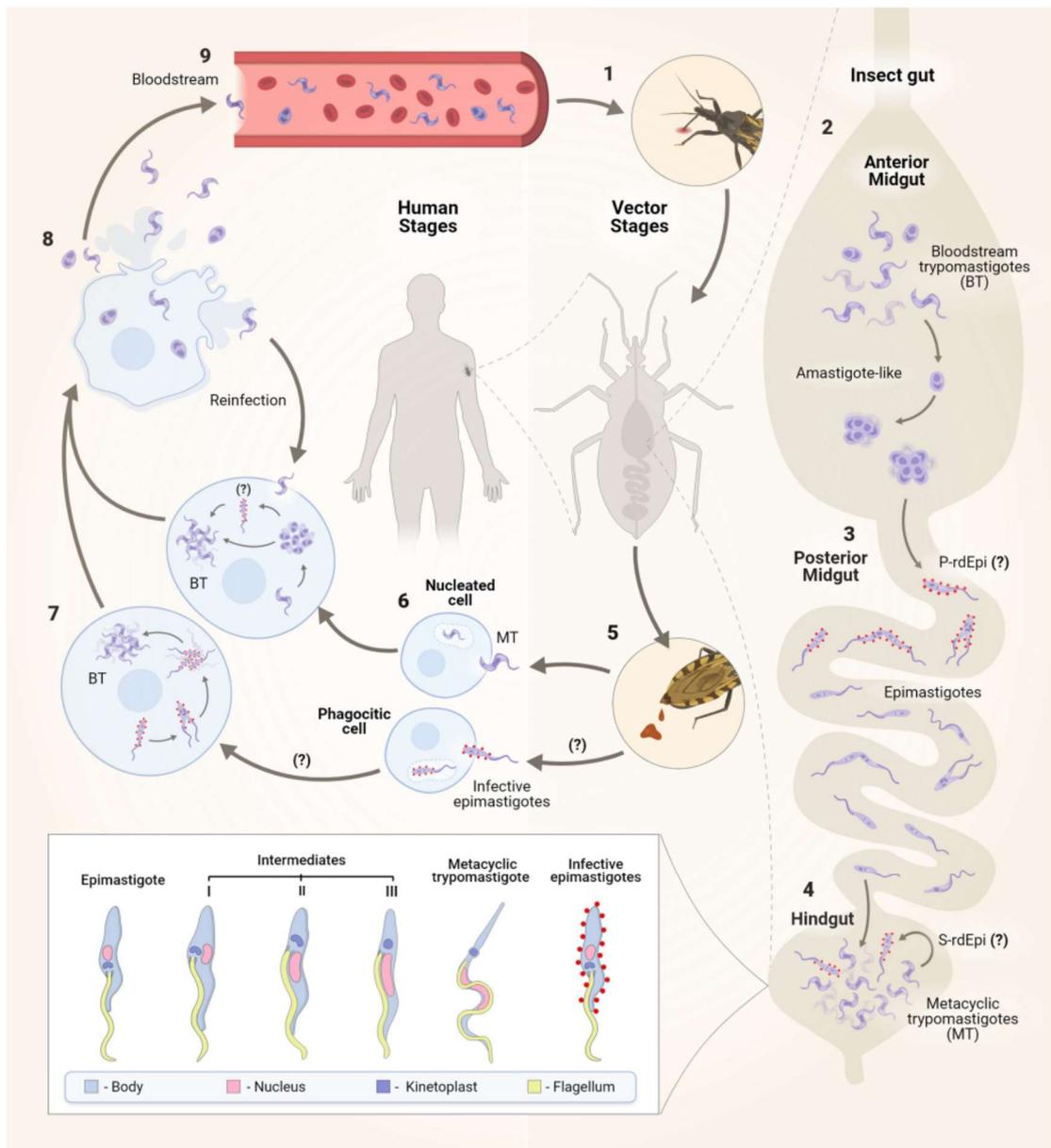
### **Vias de Transmissão e Ciclo Biológico**

A transmissão do *T. cruzi* para o homem ocorre por meio de fezes ou urina do inseto vetor contaminadas com o protozoário e depositadas sobre a pele ou mucosa do hospedeiro, durante o processo de repasto sanguíneo (Dias, 1984). A transmissão vetorial se inicia com o processo de hematofagia do triatomíneo, que, ao se alimentar do sangue de um vertebrado infectado, ingere a forma tripomastigota sanguínea do *T. cruzi* (Figura 1).

No intestino médio anterior (IMA) do inseto, os tripomastigotas sanguíneos se diferenciam em formas semelhantes a amastigotas, que migram para o intestino médio posterior (IMP), onde se diferenciam em formas epimastigotas. Esse processo é denominado epimastigogênese primária (P-rdEpi). As formas epimastigotas são replicativas e colonizam o intestino médio posterior do inseto. Em seguida, migram para o intestino posterior (IP), onde se diferenciam em tripomastigotas metacíclicos, processo denominado metaciclogênese. Essas formas são infectantes e não replicativas. Dependendo do *status* nutricional no IP, alguns tripomastigotas metacíclicos podem realizar epimastigogênese secundária (S-rdEpi), dando origem a novos epimastigotas replicativos nessa porção do intestino (Figura 1).

Decorridos esses processos, quando o triatomíneo realizar novo repasto sanguíneo, ele estará apto a depositar as formas de *T. cruzi* (tripomastigotas metacíclicas, epimastigotas infecciosas e epimastigotas), por meio das fezes contaminadas, próximo ao local da picada. Através do local da picada, ou por contato com as mucosas, as formas liberadas penetram o organismo do hospedeiro vertebrado. As formas capazes de resistir aos mecanismos da resposta imune do hospedeiro, podem infectar as células nucleadas, alcançando o citoplasma, onde irão se diferenciar na forma amastigota, se replicar e posteriormente se diferenciar em tripomastigotas, que rompem a célula hospedeira, entram em contato direto com a corrente sanguínea, e, assim, acessam outros tecidos e células onde iniciam um novo ciclo de invasão, multiplicação e disseminação (Figura 1) (ZANARD *et al.*, 2024).

**Figura 1.** Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*, causador da doença de Chagas.



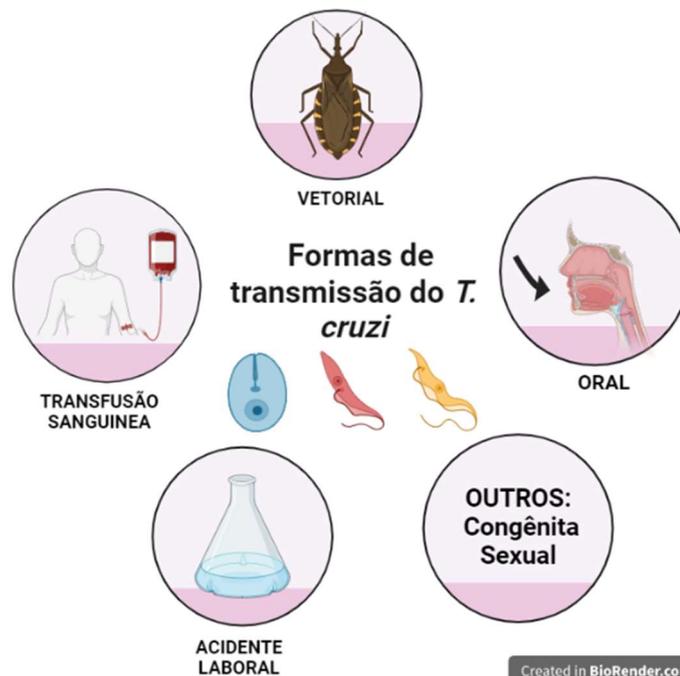
BT: *Bloodstream trypomastigotes* (tripomastigotas sanguíneos); P-rdEpi: *Primary epimastigogenesis-recently differentiated epimastigotes* (epimastigotas recém-diferenciados da epimastigogênese primária); S-rdEpi: *Secondary epimastigogenesis-recently differentiated epimastigotes* (epimastigotas recém-diferenciados da epimastigogênese secundária); MT: *Metacyclic trypomastigotes* (tripomastigotas metacíclicos). Revisado por Zanard e colaboradores (ZANARD *et al.*, 2024).

A Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS), em 2006, concedeu uma certificação de interrupção de transmissão do *T. cruzi* pela espécie *Triatoma infestans* no País, entretanto a via

de transmissão vetorial persiste, apesar da ocorrência em menor proporção (SCHMUNIS, 2007); (PEIXOTO *et al.*, 2023).

Além da disseminação vetorial, o *T. cruzi* também pode ser transmitido de mãe-filho (LUQUETTI *et al.*, 2015), através da transfusão de sangue e produtos sanguíneos (CANCINO-FAURE *et al.*, 2015), por meio de transplante de órgãos sólidos de um dador infectado (CICORA *et al.*, 2014), consumo de alimentos e bebidas contaminados (transmissão oral) e ainda, acidentes laboratoriais (DE NOYA *et al.*, 2010). Estas vias têm maior relevância em países não endêmicos (REQUENA-MÉNDEZ *et al.*, 2015), sendo responsáveis pela propagação da doença de Chagas para os EUA, Japão, Europa e Austrália, por meio da migração de indivíduos infectados (SCHMUNIS, 2007). Atualmente, a transmissão oral tornou-se uma grande preocupação no Brasil, uma vez que, vários casos foram notificados nos estados de Santa Catarina (Ministério da Saúde, 2005) Amazonas (ZINGALES, B *et al.*, 2009) e Bahia (CARLOS *et al.*, 2008).

**Figura 2. Formas de transmissão do *Trypanosoma cruzi***



(MORAIS, 2024b)

De acordo com o Boletim Epidemiológico da Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde – 2015, a forma de transmissão oral foi a mais

frequente em todos os anos no período de 2000 a 2013 entre os casos de doença de Chagas confirmados no Brasil, embora mais de 20% dos casos tenham apresentado a forma de transmissão ignorada, ou sem preenchimento deste campo na ficha de notificação. Já em relação à transmissão de mãe para filho, 50% dos registros ocorreram no estado do Rio Grande do Sul (VIGILÂNCIA, 2015). Em Boletim Epidemiológico Especial – Doença de Chagas 2022, que trata dos casos da doença notificados entre 2019 e 2020, a taxa de incidência da forma de transmissão oral chegou a 75,34% dos casos, além de ter sido registrado um crescimento na taxa de transmissão vetorial, em comparação ao boletim epidemiológico anterior (VIGILÂNCIA, 2022).

Por fim, a via sexual tem sido demonstrada em modelos animais, sugerindo uma possibilidade de transmissão também na população humana (Araújo et al., 2017; Rios et al., 2018).

### **Manifestações Clínicas**

Após a infecção, segue-se a fase aguda da doença (Figura 2), caracterizada clinicamente por síndrome febril prolongada, quadros com poucos sintomas ou assintomáticos. Essa fase dura de quatro a oito semanas e geralmente é assintomática (98%), podendo, ocasionalmente, ter a presença de sinais clássicos como o chagoma de inoculação e o sinal de Romana, processos inflamatórios no local da inoculação; febre. Também podem ocorrer edemas, linfadenopatias e hepatoesplenomegalia (KUN *et al.*, 2009). Em alguns casos, pode haver comprometimento cardíaco e do sistema nervoso central. Entretanto, formas graves da doença aguda acometem menos de 1% a 5% dos pacientes. Durante esta fase há uma alta parasitemia, ou seja, elevada quantidade de parasitos presentes na corrente sanguínea, possibilitando a detecção de formas amastigotas nos tecidos aos exames histopatológicos e de tripomastigotas sanguíneos. A parasitemia diminui substancialmente a partir de 90 dias (WEGNER DH, 1972)).

**Quadro 1.** Manifestações clínicas observadas na fase aguda da Doença de Chagas. Adaptado do II Consenso Brasileiro de Doença de Chagas, 2015. (BRASIL, Ministério da Saúde; SUS, 2018).

Febre constante até 39°C, mal estar, cefaleia, astenia e hiporexia	Sinal de Romaña* / Chagoma de Inoculação**	Edema, generalizado ou localizado em face ou membros inferiores, de consistência elástica, após 2ª. semana, sem relação com sinais de porta de entrada	Linfonodos com volume aumentado
Hepatomegalia e / ou esplenomegalia pequena a moderada	Encefalite	Anemia	Alterações eletrocardiográficas: diminuição do complexo QRS, bloqueio atrioventricular de 1º. grau, alteração da repolarização ventricular e aumento da sístole elétrica

Posteriormente, desenvolve-se a fase crônica da doença, que perdura a vida toda (RASSI, Anis *et al.*, 2010). Essa fase é marcada por baixos índices de parasitos no sangue, consequência da resposta imune do hospedeiro, a fase crônica da doença é comumente marcada pela ausência de sinais e sintomas, sendo, portanto, classificada como DC indeterminada (60%-75%). Contudo, o portador desta forma da doença poderá, a qualquer tempo, desenvolver sintomas no trato gastrointestinal (megacólon e megaesôfago), sistema nervoso e cardíaco, as cardiopatias, sendo estas as maiores responsáveis pelos casos de óbito (TARLETON *et al.*, 2007). O coração é o local de maior variedade de lesões provocadas pela infecção, podendo desenvolver aumento no volume do órgão (megacárdio), alterações na condução dos impulsos nervosos, causando insuficiência cardíaca, embolismo pulmonar advindo de trombos coronarianos, taquicardia ventricular e arritmias (TANOWITZ *et al.*, 2015). Há ainda os indivíduos que apresentam sintomas mistos, com combinação de sintomas cardíacos e digestivos (JABARI *et al.*, 2014).

## Patogênese

Na fase aguda, o dano aos órgãos é secundário à ação direta do parasito e à resposta inflamatória aguda. Nesta fase, o controle do parasito é o resultado da resposta inflamatória com ativação da resposta imune inata e produção de anticorpos (RASSI, Anis *et al.*, 2010).

Na fase crônica, a patogênese da cardiomiopatia chagásica não é completamente compreendida e, até recentemente, as consequências da doença eram consideradas autoimunes. Entretanto, o papel da autoimunidade na patogênese é desconhecido (BONNEY; ENGMAN, 2008). Atualmente, existe um consenso crescente de que o equilíbrio entre a persistência da infecção e a resposta imune do hospedeiro é crucial para o estabelecimento e progressão da cardiomiopatia. Nessa fase, a inflamação é o principal determinante da progressão; que também pode ser influenciada pela virulência da cepa de *T. cruzi* e pelo tropismo tecidual. Na forma clínica indeterminada predomina uma resposta imune regulatória, enquanto na forma cardíaca, predomina um ambiente inflamatório com produção de citocinas como interferon  $\gamma$  e fator de necrose tumoral  $\alpha$  e outros mecanismos citotóxicos envolvendo células T CD8<sup>+</sup>, que levam a danos teciduais e, podem resultar na cardiomiopatia grave (MACHADO *et al.*, 2012).

## Diagnóstico

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), durante a fase aguda, é possível detectar a presença do protozoário causador da doença de Chagas por meio de métodos parasitológicos (Figura 3), isso acontece porque nessa fase há grande número de parasitos circulando pela corrente sanguínea (TERMS, 2016). Este método diagnóstico busca encontrar a forma tripomastigotas sanguíneos de *T. cruzi* em exames de sangue a fresco ou concentrados, de forma direta, caso obtenha resultado negativo deverá ser

repetido até a confirmação ou a exclusão total da doença, ou ainda, até que esteja estabelecido e confirmado outra possibilidade diagnóstica (BRASIL, Ministério da Saúde; SUS, 2018).

Os métodos para detecção de *T. cruzi* de forma direta são : - o exame a fresco do sangue, feito com até trinta dias do início dos sintomas, o qual deve ser realizado com material coletado em momento febril, e deve ser repetido em 12h até 24h, caso apresente resultado negativo; - o método de Concentração (Strout, micro-hematócrito ou creme leucocitário), mais sensível para casos com mais de trinta dias de sintoma, é feito em casos negativos do teste a fresco ou em paralelo; - o esfregaço sanguíneo, que possui menor sensibilidade dentre os métodos citados, porém, ainda é muito utilizado em regiões com dificuldade de operacionalizar as técnicas anteriores, principalmente na região amazônica, onde já é usado em larga escala para detecção de casos de malária. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013) . Outros fluídos corporais, como o líquido cefalorraquidiano, podem ser utilizados.

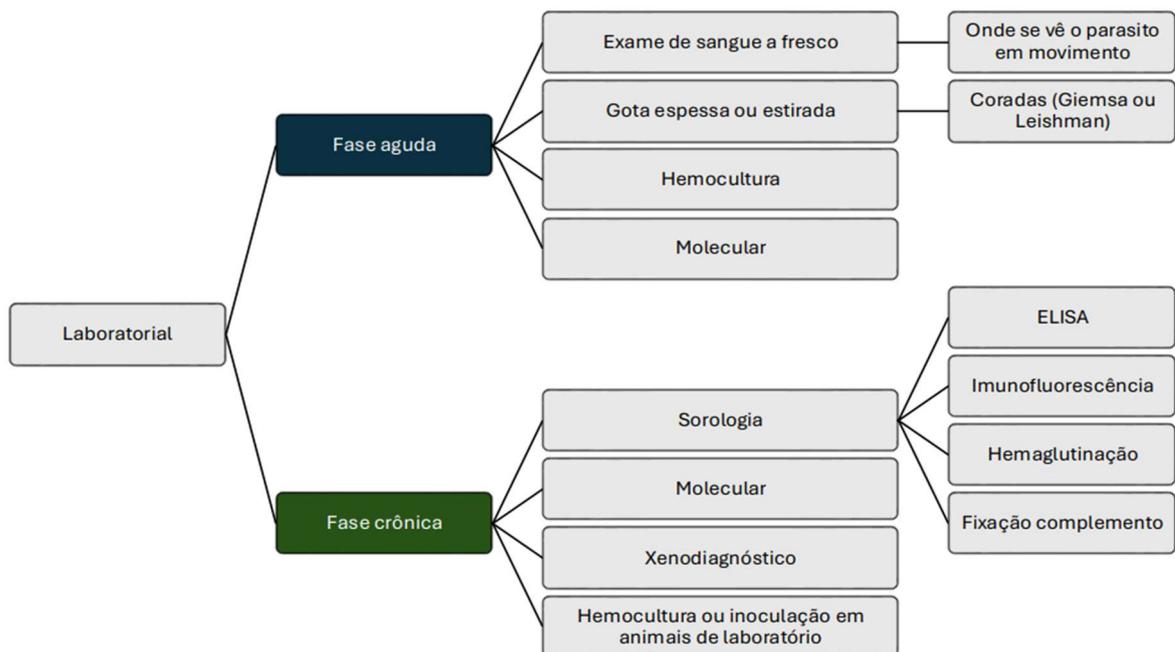
É importante salientar que o exame parasitológico feito por método direto é considerado padrão ouro para diagnóstico de DC em fase aguda, já que, exames indiretos, como xenodiagnóstico, hemocultura e a reação em cadeia da polimerase (PCR) podem apresentar resultados positivos mesmo na fase crônica da doença. No entanto, os testes diretos apresentam grandes limitações relacionadas à infraestrutura, capacitação de microscopistas e o treinamento dos agentes de vigilância local para detecção de casos suspeitos, requerendo, portanto, esforços para expandir a capacidade de detecção dos casos, os quais podem ocorrer de forma articulada com os programas de vigilância de outras doenças negligenciadas, buscando mais eficiência e assertividade diagnóstica dos casos (BRASIL, Ministério da Saúde; SUS, 2018).

Apesar de não serem a primeira escolha, os testes sorológicos podem ser aplicados e apresentarem resultado reagente já na fase aguda da doença, o que é recomendado caso os testes diretos permaneçam negativos. Devido à dificuldade para diagnóstico diferencial, entre fase aguda ou Crônica, os testes sorológicos, na fase aguda, deverão ser direcionados à pesquisa de imunoglobulina IgM, sendo utilizado preferencialmente a técnica de

imunofluorescência indireta (IFI), no entanto, a detecção de anticorpo anti-*T cruzi* da classe IgM é passível de apresentar resultados falso-positivos, frente a várias doenças febris. Já na fase crônica, deve-se optar pelas técnicas de ELISA ou HAI (hemaglutinação indireta) para detecção de IgG. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

Por fim, o exame de PCR é uma técnica mais recente e bastante favorável para o diagnóstico de DC em fase aguda, mas encontra vários obstáculos em sua implementação devido aos altos custos de equipamentos e insumos, e por não estar ainda parametrizada para uso em larga escala na rotina dos serviços de saúde (ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DA SAÚDE, 2009).

**Figura 3.** Testes laboratoriais para diagnóstico da Doença de Chagas.



Quanto ao diagnóstico de DC na fase crônica, deve ser baseado nas manifestações clínicas e nos fatores ambientais de risco do indivíduo, devem ser analisados de forma minuciosa, já que, majoritariamente há ausência de sintomas nessa fase (RASSI, Anis; RASSI; MARIN-NETO, 2010). São considerados fatores epidemiológicos de risco, por exemplo, ter residido em área com relato de presença do vetor ou reservatórios animais (silvestres ou domésticos); ter

residido em casa cujo material de construção favoreça a entrada de vetores, tais como casas de taipa, sape, pau-a-pique, madeira; residir ou ser procedente de área com sabida transmissão ativa de *T. cruzi* ou com histórico epidemiológico de casos de transmissão da doença; ter realizado transfusão de sangue ou hemocomponentes antes de 1992; ter convívio com pessoas portadoras de DC, em especial ser filho(a) de mãe com infecção comprovada por *T. cruzi* (BRASIL, Ministério da Saúde; SUS, 2018).

Na fase crônica da DC, devido à baixa presença de parasitas na corrente sanguínea, é necessário a combinação de dois resultados positivos, oriundos de diferentes testes sorológicos, feitos com metodologias diferentes, para confirmar com segurança o diagnóstico da doença (Figura 4). Atualmente, os testes sorológicos disponíveis são o ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA), imunofluorescência indireta (IFI) e hemaglutinação indireta (HAI), os quais apresentam alta sensibilidade e especificidade para DC, porém, podem apresentar divergência em seus resultados, por se tratar de técnicas totalmente diferentes, com parâmetros diferentes de avaliação, sendo necessário, nesses casos, realizar uma terceira técnica de análise, como as técnicas de *Western-blot* (WB) ou quimioluminescência (CLIA). A técnica de PCR não é indicada para o diagnóstico da fase crônica de DC devido a parasitemia ser baixa e intermitente, o que compromete o método, gerando baixa sensibilidade diagnóstica (BRASIL, Ministério da Saúde; SUS, 2018).

As técnicas sorológicas convencionais são baseadas em antígenos inteiros do parasita e extratos purificados, e as não convencionais são baseadas em antígenos recombinantes e peptídeos sintéticos (CRUZ *et al.*, 2010). Dada a elevada sensibilidade e especificidade do ELISA, um único teste pode ser suficiente para o rastreio (BRASIL, Pedro E A A *et al.*, 2010).

## Tratamento

Os medicamentos usados na terapêutica da doença de Chagas têm décadas e são tóxicos, trazendo limitações ao tratamento da doença. Além disso, o progresso para o desenvolvimento de novos medicamentos para a doença de Chagas tem sido escasso (RAO *et al.*, 2019). As terapias padrão atuais se baseiam no uso de dois medicamentos, independente da fase clínica da doença, benzonidazol e nifurtimox, sendo o primeiro mais amplamente utilizado no Brasil (ADEMAR *et al.*, 2017). Ambos são mal tolerados e os regimes de tratamento são demorados e frequentemente descontinuados devido aos efeitos adversos (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018). Isto deixa os pacientes vulneráveis a complicações cardíacas e gastrointestinais potencialmente fatais associadas à infecção crônica pelo *T. cruzi* (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018)).

Embora o tratamento atual não seja um sucesso, com obtenção da cura para a doença de Chagas, em alguns casos é possível obter-se uma redução da parasitemia, e conseqüente redução dos episódios de reativação da doença, com melhora dos sintomas clínicos, das complicações, bem como, aumento da qualidade e expectativa de vida (BERN, 2015).

De acordo com o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Doença de Chagas, elaborado pelo Ministério da Saúde em 2018, há indicação de tratamento etiológico da doença de Chagas na fase aguda para qualquer faixa etária, enquanto na fase crônica, apenas para crianças e adolescentes, ou adultos com idade inferior à cinquenta anos, cujas manifestações clínicas sejam indeterminada ou digestiva, tendo como medicamento de primeira linha o benzonidazol. Acima de cinquenta anos, no contexto citado, a decisão quanto ao tratamento deve ser compartilhada entre a equipe médica e o(a) paciente, levando-se em consideração suas comorbidades e possíveis contraindicações, casos em que há a recomendação expressa de não se fazer uso do nifurtimox.

Já na fase crônica com manifestações clínicas cardíacas, o tratamento pode vir a ser realizado apenas com benzonidazol, nos casos de cardiopatia chagásica em fase inicial, quando há alterações no eletrocardiograma (ECG),

porém com fração de ejeção acima de 40% e ausência de insuficiência cardíaca congestiva (ICC) e arritmias graves, caso contrário, em qualquer faixa etária, o tratamento é desaconselhado. Terapêuticas mais eficazes, mais seguras e de menor duração são urgentemente necessárias para a doença de Chagas.

## **Epidemiologia**

Segundo dados da OMS e da Organização Pan-americana de Saúde (OPAS), a DC acomete 21 países da América do Sul e Central e a OMS estima que 6-7 milhões de pessoas estejam infectadas mundialmente pela doença, contabilizando 30.000 novos casos e 12.000 mortes por ano (WHO, 2024b).

No Brasil, os casos suspeitos de doença de Chagas na fase aguda são de notificação compulsória às autoridades locais, segundo a Portaria SVS/MS no 204, de 17 de fevereiro de 2016, sendo que a notificação em casos crônicos deve ser fortemente considerada (ESTE, 2016). A DC se destaca entre as doenças crônicas, com 3,4 mortes por 100 mil habitantes (MARTINS-MELO *et al.*, 2014), sendo a quarta causa de morte entre as doenças infecto-parasitárias nas faixas etárias acima dos 45 anos (GERAIS; BRASIL, 2009). Atualmente, a situação epidemiológica da DC no Brasil apresenta conformação já bastante diferente da apresentada há algumas décadas, tal mudança, significativa, se deu por meio das ações voltadas para o controle da disseminação da doença, em grande parte voltadas para o controle do vetor transmissor, as quais envolveram transformações ambientais, consciência ambiental e de ordem econômica e social (GONÇALVES *et al.*, 2023).

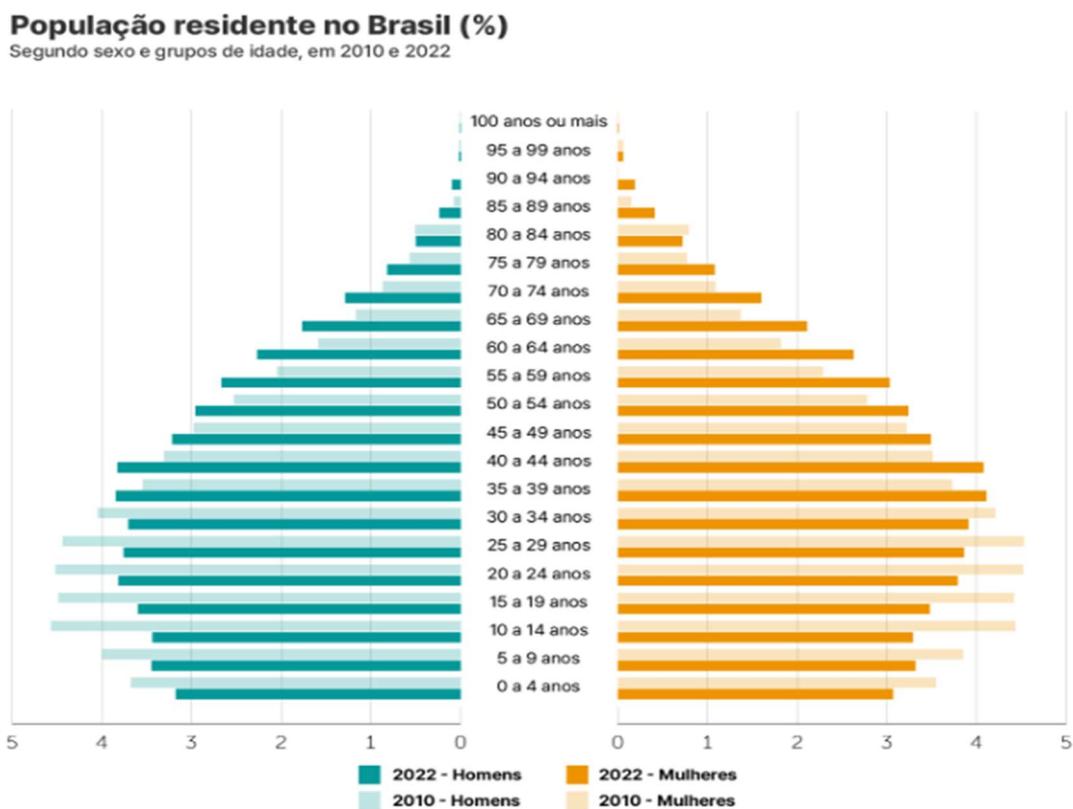
A DC tem grande impacto socioeconômico, pois afeta jovens, adultos em fase laborativa e, devido ao envelhecimento da população brasileira, também idosos, além de ser responsável por muitas internações hospitalares por insuficiência cardíaca (IC), representando, assim, gasto expressivo dos recursos voltados para saúde pública (ABUHAB *et al.*, 2013).

A melhoria da qualidade dos dados sobre a prevalência das formas clínicas da DC, nomeadamente o desenvolvimento de inquéritos epidemiológicos abrangentes, é crucial para a atualização das estimativas globais da carga da doença e da mortalidade. Há uma necessidade de desenvolvimento contínuo de projetos epidemiológicos destinados a refinar as estimativas da carga de doenças e mortalidade por DC (NASCIMENTO *et al.*, 2024).

### Envelhecimento

O Brasil possui a quinta maior população do mundo e tem registrado uma das taxas mais rápidas de envelhecimento da população (DEPARTMENT OF ECONOMIC AND SOCIAL AFFAIRS, POPULATION DIVISION, 2015).

**Figura 4.** Pirâmide etária comparativa entre os anos de 2010 e 2022, segundo dados do IBGE.



(IBGE, [s. d.])

Existem grandes estudos longitudinais desenvolvidos em vários países das Américas, Europa, Ásia, direcionados à investigar os determinantes sociais e biológicos do envelhecimento e o impacto dessa mudança demográfica para o indivíduo e para a sociedade (LATIN; READY, [s. d.]). Os estudos, embora tenham seus parâmetros definidos de acordo com a realidade local, se baseiam nos pilares para o envelhecimento ativo, definidos pela OMS, sejam eles participação social, saúde e segurança, pontos importantes em todas as idades, porém com maior demanda na idade avançada. (WORLD HEALTH ORGANIZATION., 2002). Esses estudos evidenciam elevados níveis de desigualdade social, sendo os idosos mais pobres e/ou com menor nível de escolaridade os mais afetados. Essas desigualdades são observadas sob alguns aspectos, como a realização de atividades físicas (WORLD HEALTH ORGANIZATION., 2002), estado de saúde bucal (I, Fabíola Bof De Andrade *et al.*, 2018), limitações para a realização das atividades de vida diárias (APARECIDA *et al.*, 2018), controle adequado de hipertensão arterial sistêmica (HAS) (OLIVEIRA, Josélia *et al.*, 2018), subutilização de medicamentos por motivo financeiro (IGNÁCIO *et al.*, 2018), fonte de seus cuidados em saúde (I, James Macinko *et al.*, 2018) e capacidade de trabalho (MENEZES *et al.*, 2018).

Apesar de o SUS ser orientado pelo princípio da equidade, as disparidades em saúde se apresentam por região, nível de escolaridade, renda e origem social, além disso, existem evidências de que tais disparidades e desigualdades em saúde, relacionadas às incapacidades entre idosos brasileiros, tenham praticamente dobrado no período de 1998 e 2008 (I, Maria Fernanda Lima-costa, 2012).

### **A Doença de Chagas e os Idosos**

As manifestações clínicas sintomáticas da DC têm graus variáveis de severidade e surgem em geral de 10 a 30 anos após a infecção e ocorrem em 35% a 40% dos casos. Vários estudos têm demonstrado uma redução progressiva da soropositividade para DC em faixas etárias jovens,

consequentemente, grande parte dos indivíduos com DC encontra-se na velhice, ou entrará nesta fase da vida em breve, tornando imprescindível que se dê importância à associação entre a DC e o processo de envelhecimento de seus portadores (GUARIENTO; ALLIEGRO; ALMEIDA, 2009). O aumento da sobrevivência das pessoas infectadas pelo *T. cruzi* levou ao surgimento de associações e interações com outras doenças crônicas, como HAS, diabetes melitus, HIV/aids e outras condições imunossupressoras, como os transplantes, que levam à reativação da DC, que somam-se aos distúrbios cardíacos e/ou digestivos decorrentes da progressão da DC (OLIVEIRA, Bruna Guimarães, 2007). Essas associações aumentam a morbidade dessa população e geram uma demanda aumentada por serviços de saúde e medicamentos, comprometendo sua qualidade de vida e envelhecimento (TIEKO; KUSANO, 2007).

No Brasil, o aumento da prevalência de DC entre indivíduos com idade mais avançada pode ser atribuído a grandes mudanças no perfil demográfico brasileiro, com substancial envelhecimento da população como resultado da queda da taxa de mortalidade associada ao rápido e acentuado declínio da taxa de fecundidade (PEREIRA, Laíse dos Santos *et al.*, 2015). Somado ao declínio fisiológico que ocorre com o avanço da idade, o processo de envelhecer com essa doença pode ter especificidades que precisam ser mais conhecidas.

A DC está associada a um maior risco de progressão para cardiomiopatia em idosos. A ocorrência de novas anormalidades no ECG, apesar de outros fatores que poderiam causar lesões cardíacas e promover anormalidades no ECG associadas ao envelhecimento, em pacientes com DC prediz um maior risco de morte (OLIVEIRA, Bruno *et al.*, 2023). Resta, ao sistema de saúde, o desafio de prestar assistência aos idosos infectados com DC na sua fase crônica.

## JUSTIFICATIVA

A DC é uma condição heterogênea com ampla variação em seu curso clínico e prognóstico. A maioria dos indivíduos infectados permanece assintomática ao longo da vida. Apesar dos esforços para controlar a doença no Brasil, a prevalência da infecção pelo *T. cruzi* permanece alta. Esse parasito estabelece infecções persistentes devido à sua capacidade de escapar continuamente dos mecanismos mediados pelas respostas imunológicas do hospedeiro vertebrado. As adaptações que permitem ao *T. cruzi* causar infecções crônicas não são bem compreendidas. É possível que entre as estratégias utilizadas pelo parasito para sobreviver no organismo do hospedeiro, ocorra o estabelecimento de sítios de latência.

Há pouca informação sobre a história natural dos indivíduos com DC na velhice. Nesse contexto, realizar testes sorológicos para a detecção de anticorpos IgG contra o *T. cruzi* nas amostras de soro de idosos é uma abordagem investigativa de grande relevância.

## OBJETIVOS

### Geral

O objetivo deste estudo foi determinar a prevalência de anticorpos IgG contra o *T. cruzi* nas amostras de soro de idosos do grupo de estudos ProTeGer - Prognósticos e Terapêuticas em Geriatria.

### Específicos

1. Detectar anticorpos IgG contra o *T. cruzi* nas amostras de soros de idosos e determinar a prevalência da DC entre os pacientes acompanhados;
2. Comparar as características clínicas e bioquímicas séricas em jejum dos idosos com sorologia positiva e negativa para DC;
3. Comparar a concentração de proteína C reativa (PCR) e de citocinas nos soros dos indivíduos com sorologia positiva e negativa para DC.

## METODOLOGIA

### **Tipo de estudo**

Foi realizado um estudo retrospectivo com um total de 865 amostras de soro de uma população de idosos do Estudo ProTeGer - Prognósticos e Terapêuticas em Geriatria.

### **Amostras, análises bioquímicas e avaliação clínica**

As amostras de soro foram obtidas de biorrepositórios mantidos sob responsabilidade do nosso grupo (ALVES *et al.*, 2022; FREITAS *et al.*, 2011; TONET *et al.*, 2008).

As amostras biológicas foram coletadas do sangue periférico dos pacientes em jejum de 8 a 12 horas, com soro coletado, inativado a 56°C durante 30 min e armazenado em alíquotas a -20°C até a sua utilização. Os ensaios bioquímicos incluíram determinação de glicemia (glicose, triglicerídeos, colesterol total e frações - lipoproteínas de baixa e alta densidade), hemoglobina glicada (Hb1Ac), insulina, proteína C reativa (PCR), creatinina e hormônio estimulador da tireoide (TSH). Os testes foram realizados seguindo análises clínicas de rotina com reagentes da Boehringer Mannheim (Alemanha) e processados em equipamento AutoHumalyzer (Human GMBH, Alemanha) ou nefelômetro (DadeBehring, Alemanha). A depuração de creatinina (CC) foi determinada com a equação de Cockcroft-Gault, enquanto o índice de avaliação do modelo homeostático de resistência à insulina (HOMA-IR) foi calculado como insulina em jejum/glicemia de jejum C 22,5. A concentração de PCR foi medida por meio de um ensaio turbidimétrico de alta sensibilidade (0,05 mg/L; BioTécnica®, Varginha, MG, Brasil).

A avaliação clínica dos pacientes foi realizada seguindo protocolo padronizado e os dados foram coletados no momento da abordagem ao paciente, e, portanto, em momento anterior a este estudo. A pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) foi medida de acordo com as recomendações atuais das Diretrizes Brasileiras de Hipertensão (BARROSO, Weimar Kunz

Sebba; ET AL., 2021). A hipertensão arterial sistêmica (HAS) foi definida pela pressão arterial sistólica (PAS)  $\geq 130$  mmHg, pressão arterial diastólica (PAD)  $\geq 85$  mmHg ou uso de anti-hipertensivo relatado durante entrevista clínica. O diagnóstico de diabetes tipo 2 (DM2) foi determinado pela presença de um dos três critérios, a saber: hemoglobina glicada tipo A1c (Hb1Ac)  $\geq 6,5\%$ , glicemia plasmática em jejum  $\geq 126$  mg/dL ou uso de medicamento(s) antidiabético(s) (CARE; SUPPL, 2021). O índice de massa corporal (IMC, em kg/m<sup>2</sup>) e a circunferência da cintura (CC, em cm) foram avaliados com pacientes com roupas leves e descalços, com estatura medida com estadiômetro fixado na parede.

### **Análise quantitativa das citocinas séricas**

Os níveis séricos das citocinas interleucina (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, fator de necrose tumoral (TNF)- $\alpha$  e IL-12p70 foram medidos em amostras de todos os pacientes. As citocinas séricas foram quantificadas utilizando o kit *Cytometric Bead Array (CBA) I* (Becton Dickinson, BD-USA) para dosagem de citocinas inflamatórias humanas, de acordo com as instruções do fabricante para dosagem em soro/plasma.

Resumidamente, 50  $\mu$ l das Esferas de Captura mistas (preparadas usando o procedimento descrito em Preparação de Esferas de Captura de Citocinas Inflamatórias Humanas Mistas para Análise de Amostras de Soro e Plasma) foram adicionados aos tubos de ensaio apropriados. Em seguida, foram adicionados 50  $\mu$ l das diluições padrão de citocinas inflamatórias humanas aos tubos de ensaio de controle e 50  $\mu$ l de cada amostra de teste aos tubos de ensaio. Os tubos de ensaio foram incubados durante 1h 30 min à temperatura ambiente e protegidos da exposição direta à luz. Ao término desse período, 1 ml de tampão de lavagem foi adicionado a cada tubo e os tubos centrifugados a 200  $\times$  g durante 5 min. O sobrenadante foi cuidadosamente aspirado e descartado, deixando aproximadamente 100  $\mu$ l de líquido em cada tubo de ensaio. Adicionou-se 50  $\mu$ l do reagente de detecção de PE de citocinas inflamatórias

humanas aos tubos de ensaio. Os tubos de ensaio foram agitados suavemente para ressuspender o sedimento e incubados durante 1h 30 min à temperatura ambiente e protegido da exposição direta à luz. Ao término desse período, o procedimento de lavagem foi repetido: adição de 1 ml de tampão de lavagem a cada tubo e os tubos centrifugados a  $200 \times g$  durante 5 min. O sobrenadante foi cuidadosamente aspirado e descartado. Adicionou-se 300  $\mu$ l de tampão de lavagem a cada tubo de ensaio para ressuspender o pellet de esferas.

A aquisição de dados foi realizada por citometria de fluxo utilizando um citômetro de fluxo FACSVerse (BD-USA) e analisada no software BD FACSArray, onde os valores foram expressos em pg.ml<sup>-1</sup> para cada citocina.

### **Ensaio de Chagas recombinante Biolisa®**

O ensaio Biolisa Chagas é um imunoenensaio enzimático para a determinação qualitativa de anticorpos IgG contra *T. cruzi* em soro ou plasma humano. O ensaio utiliza antígenos recombinantes de *T. cruzi*. O ensaio foi realizado em 865 amostras de acordo com as instruções do fabricante, incluindo o branco e os controles positivo e negativo.

Resumidamente, antes do início do ensaio, todos os reagentes, amostras e controles foram colocados para estabilizarem em temperatura ambiente, por 40 min. Em cada placa sensibilizada com antígeno recombinante de *T. cruzi*, foram realizados os seguintes controles: branco, controle negativo (Soro inativado, não reativo para *T. cruzi*) e controle positivo (Soro inativado, contendo anticorpos anti *T. cruzi*).

Para iniciar o teste, 200  $\mu$ L de Diluente de Amostra (Solução Tampão fornecida no kit) foram adicionados em todas os poços da placa. Em seguida, foram adicionados 10  $\mu$ L de controle negativo, controle positivo, e das amostras nos poços previamente determinados. A placa foi homogeneizada gentilmente durante 30 seg e incubada durante 30 min a 37°C. Após esse período, o conteúdo foi descartado e os poços da placa foram lavados 5 vezes com uma

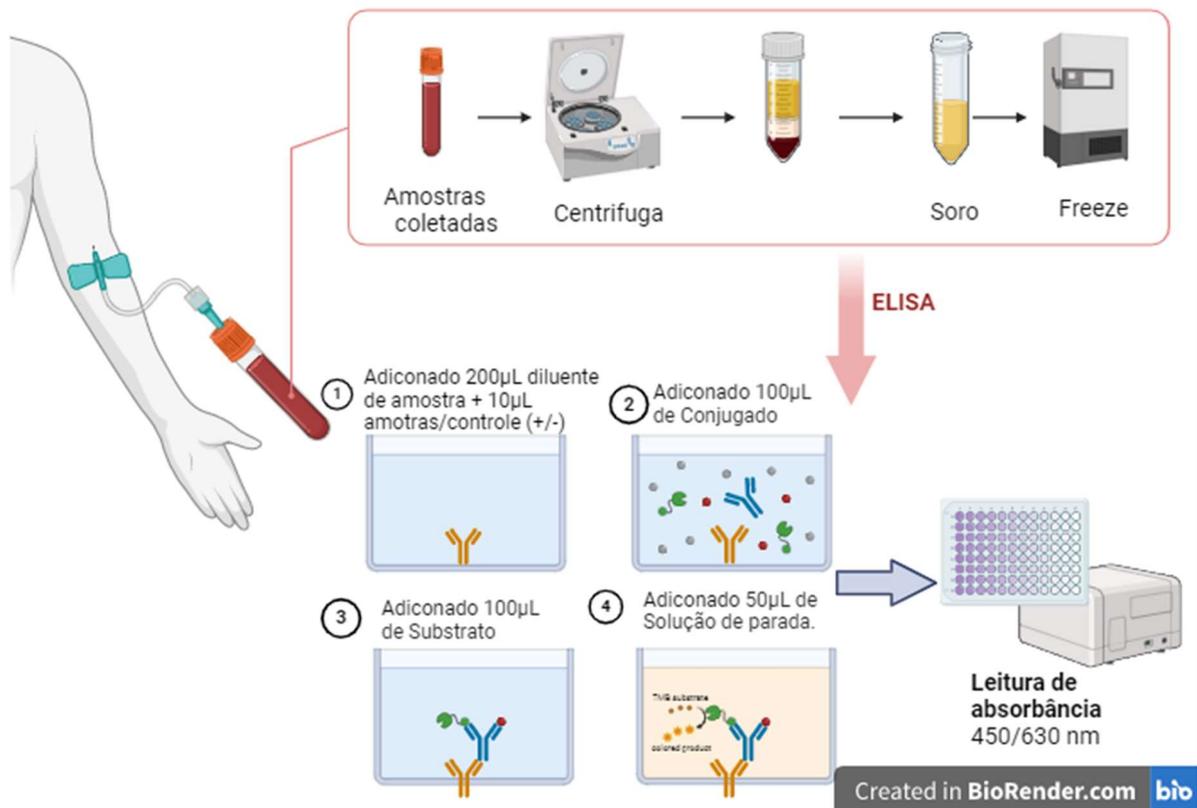
solução de lavagem. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, a placa foi batida por alguns segundos em papel absorvente.

Em seguida, foram adicionados 100  $\mu$ L de conjugado (Conjugado anti-IgG ligado a Peroxidase e estabilizante) em cada poço, exceto na cavidade do branco. A placa foi homogeneizada gentilmente durante 30 seg e incubada durante 30 min a 37°C. Após esse período, o conteúdo foi descartado e os poços da placa foram lavados 5 vezes com uma solução de lavagem.

Após a última lavagem e secagem da placa, 100  $\mu$ L de Substrato (Solução contendo Peróxido de Hidrogênio e Tetrametilbenzidina) foram adicionados a todos os poços, a placa foi homogeneizada gentilmente durante  $\pm$  30 seg. Incubou-se por exatamente 30 min a temperatura ambiente. Adicionou-se 50  $\mu$ L de Solução de Parada (Ácido Sulfúrico 1M) em todos os poços, e a placa foi homogeneizada gentilmente durante 30 seg.

A absorbância foi lida a 450/630 nm (excitação/emissão) utilizando a leitora de placas EnSpire Multimode (PerkinElmer). A interpretação dos resultados seguiu os parâmetros indicados, sendo IgG negativo  $<0,9$ , IgG positivo  $\geq 1,1$  e indeterminado  $\geq 0,9$  e  $<1,1$ .

**Figura 5.** Ensaio de Chagas recombinante Biolisa®



(MORAIS, 2024a)

### Análise estatística

As variáveis analisadas neste estudo foram: idade, circunferência de cintura, sexo, IMC, PAS, PAD, HAS, TSH, Glicose, insulina, HOMA-IR, DM2, TGL, CT, HDL, LDL, VLDL e os mediadores imunológicos: PCR, IL1, IL6, IL8, IL10, IL12 e TNF. As variáveis contínuas foram apresentadas como média  $\pm$  desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil, de acordo com o perfil de distribuição dos dados, avaliado através do teste de Kolmogorov-Smirnov e dos gráficos de probabilidade normal. O teste t de Student foi utilizado para dados paramétricos, enquanto o teste de Mann-Whitney foi utilizado para características não paramétricas. As características categóricas são expressas como frequências (%), tendo sido utilizado o teste do qui-quadrado para comparar as proporções entre grupos.

Foi utilizado um modelo de regressão linear para testar em que medida uma sorologia positiva para a doença de Chagas estava associada a características clínicas e laboratoriais clássicas (nomeadamente idade, CC, PAS, HOMA, TSH, TGL, HDL, VLDL e depuração da creatinina), sendo o estado sorológico apresentado como uma característica contínua, substituindo um resultado negativo ou positivo por 0 ou 1, respetivamente. Esta análise de regressão revelou que uma sorologia positiva para a DC foi responsável por cerca de 10% da variância nas pontuações glicêmicas ( $F = 16,7$ ,  $\beta = 0,31$ ,  $P < 0,001$ ), tal como expresso pelo índice HOMA. Por conseguinte, as análises de covariância (ANCOVA) com os mediadores imunitários utilizaram o HOMA como covariável para controlar as estatísticas desta característica de confusão, sendo os dados não paramétricos transformados logaritmicamente em conformidade.

O poder do estudo foi calculado para detectar uma alteração líquida mínima de 50% nos níveis de qualquer um dos mediadores imunitários avaliados. Considerando que o desvio padrão global destas variáveis não paramétricas era da ordem dos 150%, a diferença padronizada era de 0,33. Assim, seriam necessários 550 participantes para detectar essa diferença, com um poder de 95%. Valores de  $p \leq 0,05$  nos testes de hipóteses bilaterais foram considerados estatisticamente significativos. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa SPSS for Windows versão 18.0.

### **Critérios de inclusão e exclusão**

Os critérios de inclusão foram pacientes com idade igual ou superior a 60 anos, não institucionalizados, que procuraram espontaneamente a atenção primária ou secundária por eventos circulatórios. Os pacientes foram recrutados em ambulatórios de geriatria da Universidade de Brasília (UnB) e da Universidade Católica de Brasília (UCB), Brasil. Não foi realizada busca ativa de pacientes com alguma condição específica. Os critérios de exclusão incluíram a terapêutica da DM2 com inibidor da DPP4, doença inflamatória ativa e/ou infecciosa, neoplasia de qualquer tipo (no atendimento ou nos últimos 2 anos antes do atendimento), disfunção renal maior, doença autoimune, doença

pulmonar obstrutiva crónica, infecções crónicas ou recorrentes, doenças hepáticas, fração de ejeção do ventrículo esquerdo < 50% ou uso de anti-inflamatórios esteroides ou não esteroides nos últimos 30 dias.

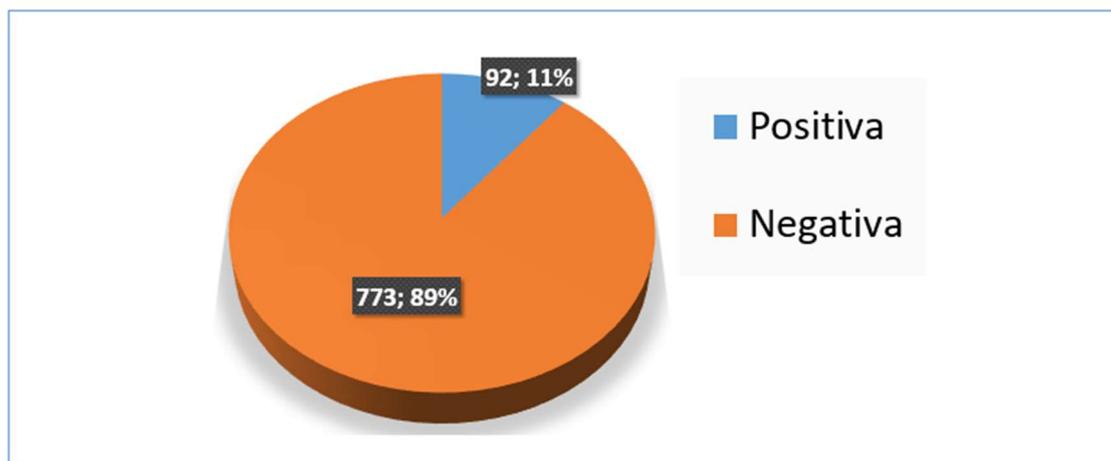
### **Declaração de aprovação ética**

Foi obtido o consentimento informado por escrito de todos os indivíduos antes de os incluir nos estudos originais. Este estudo foi realizado em total conformidade com a aprovação do comité de ética institucional (CEP-FM nº 5.728.483) conforme determina a Resolução nº 466/12 e a Resolução n. 510/16.

## RESULTADOS

Neste estudo, um total de 865 amostras de soro humano de indivíduos idosos foram incluídos para um levantamento da infecção pelo *T. cruzi*. Os resultados e os dados clínicos e da bioquímica sérica de jejum relativos aos indivíduos cujos soros foram incluídos neste trabalho estão apresentados na Tabela 1. Dentre todas as amostras de soro analisadas 92/865 (10,6%) foram positivas para anticorpos IgG anti-*T. cruzi*, enquanto 773/865 (89,4%) foram negativas. Feita esta análise primordial, quanto a sorologia para DC de cada indivíduo, os demais resultados foram expressos de maneira comparativa entre os grupos com sorologia positiva e negativa para DC. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos com relação à média de idade ( $p = 0,722$ ), nem em relação à circunferência abdominal (WC, cm;  $p = 0,097$ ). Em ambos os grupos, a porcentagem de idosos do sexo feminino foi maior que do sexo masculino, sendo 64,2% no grupo negativo e 67,4% no grupo positivo.

**Figura 6.** Prevalência de teste positivo para Doença de Chagas entre idosos do estudo.



Entre os pacientes com sorologia positiva, 77,8% apresentavam hipertensão arterial sistêmica, com intervalo entre 139,9 mmHg  $\pm$  23,5 mmHg de pressão arterial sistólica e entre 80,0 mmHg  $\pm$  12,6 mmHg de pressão arterial diastólica, não havendo diferença estatisticamente significativa com o grupo com

sorologia negativa. Em relação aos índices lipídicos, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, embora o HDL total (57 mg.dl-1 [46,3, 65,0]) tenha sido ligeiramente maior entre os indivíduos com sorologia positiva (Tabela 1).

Os valores de glicemia, o índice HOMA-IR e o percentual de indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 (T2DM) foram estatisticamente diferentes entre os grupos, sendo menores entre os idosos positivos (Tabela 1).

**Tabela 1.** Comparação de características clínicas e bioquímicas sérica em jejum em idosos com sorologia positiva ou negativa para doença de Chagas.

Variáveis	Sorologia negativa (n = 773)	Sorologia positiva (n = 92)	P value
Idade	72.7 ± 10.4	73.0 ± 8.5	0.722
CC, cm	93.9 ± 11.7	91.1 ± 11.4	0.097
Sexo masculino	35.8	32.6	0.567
IMC, kg.m <sup>-2</sup>	27.0 ± 4.6	26.1 ± 4.7	0.107
PAS, mm Hg	141.1 ± 23.0	139.9 ± 23.5	0.662
PAD, mm Hg	80.3 ± 13.0	80.0 ± 12.6	0.830
HAS, %	80.7	77.8	0.553
CC (ml.min <sup>-1</sup> )	63.2 ± 24.6	66.1 ± 25.0	0.266
TSH, mIU.l <sup>-1</sup>	2.0 [1.3, 3.4]	2.1 [1.3, 3.1]	0.804
Glicose, mg.dl <sup>-1</sup>	98.0 [89.0, 109.0]	93.0 [85.0, 102.8]	<b>0.002</b>
Insulina, mUI.l <sup>-1</sup>	7.5 [4.2, 11.5]	6.0 [4.3, 10.3]	0.253
HOMA-IR, index	1.8 [1.0, 3.0]	1.4 [0.8, 2.5]	<b>0.048</b>
DMT2, %	19.8	8.7	<b>0.010</b>
TGL, mg.dl <sup>-1</sup>	131.0 [94.0, 170.5]	121.0 [90.0, 162.0]	0.237
CT, mg.dl <sup>-1</sup>	205.0 [174.0, 235.0]	211.5 [179.8, 242.8]	0.193
HDL, mg.dl <sup>-1</sup>	53.0 [44.0, 62.0]	57.0 [46.3, 65.0]	0.062
LDL, mg.dl <sup>-1</sup>	122.0 [94.0, 146.0]	121.5 [100.0, 154.5]	0.194
VLDL, mg.dl <sup>-1</sup>	28.0 [19.2, 36.0]	25.0 [17.3, 32.9]	0.079

Os dados são expressos como média ± DP, com proporção de grupo (%) ou mediana [intervalo interquartil]. Dados mostram valores para: Idade; CC: circunferência da cintura; Sexo masculino; IMC (índice de massa corporal); PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; HAS: hipertensão arterial sistêmica; TSH: hormônio estimulante da tireoide; Glicose; Insulina; HOMA-IR; ;DMT2: diabetes mellitus tipo 2; TGL: triglicerídeos; CT: colesterol total; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade. Limiar de significância fixado em P ≤ 0,05.

Quanto aos mediadores químicos de imunidade dos idosos incluídos neste estudo, os níveis séricos de IL-6 encontrados nos idosos com sorologia positiva para DC foram significativamente menores do que os encontrados no

grupo negativo. Os níveis de PCR, IL1 $\beta$ , IL8, IL10, IL12p70 e TNF não apresentaram diferença estatística entre os grupos testados (Tabela 2).

**Tabela 2.** Análise dos mediadores imunitários em idosos com sorologia positiva ou negativa para a doença de Chagas.

<b>Variáveis</b>	<b>Sorologia negativa (n = 773)</b>	<b>Sorologia positiva (n = 92)</b>	<b><i>P value</i></b>
<b>PCR, pg.ml<sup>-1</sup></b>	1.2 [0.6, 2.6]	1.6 [1.0, 2.9]	0.082
<b>IL1<math>\beta</math>, pg.ml<sup>-1</sup></b>	1.0 [0.0, 2.9]	0.9 [0.0, 2.0]	0.344
<b>IL6, pg.ml<sup>-1</sup></b>	2.0 [0.0, 15.9]	0.6 [0.0, 4.7]	<b>0.023</b>
<b>IL8, pg.ml<sup>-1</sup></b>	13.0 [1.6, 36.1]	9.0 [4.0, 36.0]	0.866
<b>IL10, pg.ml<sup>-1</sup></b>	1.3 [0.0, 2.6]	0.8 [0.0, 2.2]	0.300
<b>IL12p70, pg.ml<sup>-1</sup></b>	0.0 [0.0, 4.0]	0.0 [0.0, 1.6]	0.087
<b>TNF, pg.ml<sup>-1</sup></b>	0.0 [0.0, 2.0]	0.0 [0.0, 1.2]	0.832

Dados expressos como médias  $\pm$  DP ou mediana [intervalo interquartil]. PCR: proteína C-reativa; IL: interleucina; TNF: fator de necrose tumoral. Limiar de significância estabelecido em  $P \leq 0,05$ .

## DISCUSSÃO

A DC é uma doença complexa, com formas clínicas cardíaca e digestiva, causada pelo parasito *T. cruzi* e de difícil manejo. Assim como para outras doenças infecto-parasitárias, como malária, esquistossomose, e leishmanioses, não existem vacinas disponíveis, estando, portanto, os fármacos para seus tratamentos e as medidas de controle dos vetores no centro do controle destas doenças (DIAS *et al.*, 2009).

Este estudo descreve elevada taxa de positividade do teste sorológico anti-*T. cruzi* em idosos. Os dados limitados de acompanhamento dos idosos com sorologia positiva anti-*T. cruzi* continuam a ser um desafio no Brasil, embora a DC se configure como a segunda maior causa de mortalidade em idosos brasileiros, dentre as doenças infecto-parasitárias, o que ocorre devido ao seu potencial para ocasionar complicações cardíacas graves (BARROSO, Natália Duarte, 2014).

Em nosso estudo, a prevalência da infecção pelo *T. cruzi* foi de 10,6% na população analisada. A alta prevalência encontrada em nosso estudo pode estar relacionada ao local de realização do estudo, a cidade de Brasília, que, por sua localização geográfica central e por ser a capital do país, tornou-se um reduto de migrantes oriundos de regiões endêmicas para DC no Brasil, os estados de Minas Gerais e Bahia.

Este estudo obteve dados semelhantes aos de outros estudos sobre a DC no Brasil, como idade média dos pacientes que permaneceu entre  $73,0 \pm 8,8$  anos para o grupo positivo vs  $72,7 \pm 10,4$  para o grupo negativo, e a predominância do sexo feminino, que foi de 76,4% entre os portadores da DC, em comparação a 32,6% de indivíduos do sexo masculino. Estudo semelhante, realizado no estado da BA, 2014, revelou média de idade de 67,9 anos e predominância de 65,8% de indivíduos do sexo feminino (BARROSO, Natália Duarte, 2014). Já no estado do Pará, um estudo retrospectivo de 2020, com dados entre 2012 e 2017, mostrou 34,68% de prevalência de DC entre idosos na faixa etária de 70 a 79 anos, sendo a faixa etária mais acometida do estudo,

e 51,66% de predomínio de pessoas do sexo feminino no estudo (PORFÍRIO *et al.*, 2020). Vizzoni e colaboradores, em 2018, caracterizaram o perfil clínico e epidemiológico dos pacientes acompanhados no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, no Rio de Janeiro, Brasil. Os pacientes com mais de 65 anos representaram 38% da população analisada, e a hipertensão (56%), a dislipidemia (42%) e o diabetes mellitus (30%) estiveram presentes nos pacientes analisados. Não houve diferenças quanto ao sexo, raça, frequência de comorbidades ou local de origem entre as formas clínicas da DC. A maior parte da população idosa era originária dos estados da Bahia, Minas Gerais e Pernambuco, enquanto a maioria dos pacientes mais jovens nasceu nos estados do Ceará, Paraíba e Rio de Janeiro (VIZZONI *et al.*, 2018).

O aumento progressivo da idade média dos pacientes nos estudos, mostra uma diminuição da incidência de casos de DC, uma consequência dos programas de controle da DC ao longo do tempo (ALMEIDA *et al.*, 2007) (LIMA *et al.*, 2001). Em relação à predominância feminina, a relação de pior prognóstico da DC associada ao sexo masculino já está bem evidenciada na literatura, onde o homem atua como fator de risco para piores desfechos entre os portadores crônicos dessa doença, desse modo, os homens tendem a morrer mais jovens e não chegar à velhice (LUIZ; RIBEIRO; ROCHA, 1998) (RASSI, Gustavo G *et al.*, 2006).

Outro fato inesperado neste estudo, além da alta taxa de prevalência, são os dados relativos à proporção de DM2 entre os grupos analisados. Observou-se que a glicemia, o índice HOMA-IR, o percentual de indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 (T2DM) e a IL-6 se relacionaram negativamente à infecção pelo *T. cruzi*. É comum encontrar uma prevalência média de 29,9% para DM2 entre os pacientes chagásicos (VIZZONI *et al.*, 2018). Dada a possibilidade de os pacientes com DC produzirem menos insulina e constituírem em seu organismo um ambiente inflamatório, o qual poderia levar ao aumento da resistência à insulina (RI), foi levantada a hipótese de que a DC estaria relacionada ao desenvolvimento do DM2 (RESENDE *et al.*, 2021). No entanto, um estudo recente de Rezende *et al.*, 2021, trouxe uma prevalência de 20,5% de DM entre indivíduos com sorologia positiva para DC, e 17,2% naqueles com sorologia negativa para DC. O estudo concluiu não haver correlação entre as

comorbidades analisadas, ou seja, a presença de sorologia positiva para DC não atua como agente agravante ou acelerador do desenvolvimento do DM, como se poderia supor. Nosso estudo corrobora essa conclusão, pois encontramos uma baixa prevalência de DM2 (8,7%) entre os indivíduos com DC, bem como Barroso e seus colaboradores, que detectaram 25,2% de indivíduos com DM entre os pacientes portadores de DC (PEREIRA, Mariane Barroso *et al.*, 2016). Entretanto, esse dado de 8,7% de pacientes com DC e DM2, representa menos da metade da prevalência de DM2 entre os pacientes não chagásicos (19,8%) do presente estudo, mostrando uma diferença muito significativa no número de casos de DM2 entre pacientes chagásicos e não chagásicos. Os valores mais baixos de glicemia e HOMA-IR em pacientes com DC em comparação com pacientes sem DC podem estar relacionados a uma menor expectativa de vida dos pacientes com DC e DM2 concomitantemente, associada à alta média de idade neste estudo, o que poderia ser considerado como um viés de sobrevivência, tendo sido selecionados, naturalmente, apenas indivíduos resistentes a coexistência de DC e DM.

Nosso estudo mostrou que os níveis de expressão de IL-6 estavam significativamente reduzidos em idosos com sorologia positiva anti-*T. cruzi* em comparação com aqueles com sorologia negativa. A regulação diferencial da síntese de citocinas parece desempenhar um papel importante no desenvolvimento da cardiomiopatia chagásica (CC) na forma crônica da DC (POVEDA *et al.*, 2014). A mudança no perfil de citocinas anti-inflamatórias/pró-inflamatórias encontrada entre pacientes com CC comparada com aqueles infectados, mas que ainda não desenvolveram CC, é compatível com a hipótese de que a progressão da DC humana de formas assintomáticas para formas graves está relacionada com a falta de modulação imunológica adequada (POVEDA *et al.*, 2014). A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória e, embora uma resposta inflamatória apropriada seja benéfica nas fases iniciais da infecção, a falta de controle desta resposta pode resultar no estabelecimento de danos nos tecidos. López e colaboradores (2006) correlacionaram a presença de níveis elevados de IL-6 em pacientes com CC com a gravidade do dano ao miocárdio em populações peruana e colombiana (MACEDO *et al.*, 2004). Um perfil pró-inflamatório está associado aos pacientes com CC e um perfil anti-inflamatório

aos pacientes sem CC. Como nossa amostra era composta de idosos sem CC, IL-6 reduzida corrobora com essa observação.

Outro fato a se considerar é que os níveis de citocinas podem variar para pacientes infectados com diferentes DTUs do parasito, sugerindo uma resposta imune específica, provavelmente associada às DTUs. Poveda e colaboradores (2014) sugeriram a possibilidade de utilização de IL-6, IL-12, IFN- $\gamma$  e IL-1 como biomarcadores prognósticos da DC (POVEDA *et al.*, 2014). Mais estudos devem ser realizados a fim de validar essas citocinas como biomarcadores.

Lima-Costa e colaboradores (2008) analisaram o funcionamento cognitivo de 1.449 pessoas com idade  $\geq 60$  anos de uma área endêmica brasileira (BambuÍ). Os fatores de risco hipotéticos foram infecção por *T. cruzi*, anormalidades eletrocardiográficas (ECG) relacionadas à DC e uso de medicação digoxina, e os potenciais fatores de confusão incluíram sintomas depressivos, tabagismo, acidente vascular cerebral, hemoglobina, colesterol HDL, glicemia, pressão arterial sistólica e uso de medicação psicoativa. Eles observaram uma prevalência da infecção por *T. cruzi* de 37,6%, superior à que observamos, e associação graduada e independente entre infecção e o escore do MEEM (*Mini-Mental State Examination*), fornecendo evidências epidemiológicas de uma associação entre infecção por *T. cruzi* e comprometimento cognitivo em idosos (LIMA-COSTA; UCHÔA, 2009).

Devido à migração para áreas urbanas e o aumento da expectativa de vida, a maioria dos pacientes com DC, atualmente idosos, vivem em áreas urbanas. No entanto, os desafios logísticos e econômicos restringem o acesso ao acompanhamento da infecção pelo *T. cruzi*, especialmente para estas faixas etárias mais vulneráveis. Diante do ônus causado pela DC na vida dos portadores e de seu impacto na sociedade, o controle, o tratamento e o desenvolvimento de novas estratégias para o monitoramento da doença são prioridades para a OMS no intuito de promover a melhoria da qualidade de vida dos portadores, e, conseqüentemente, melhorar a qualidade do envelhecimento desses indivíduos. Os nossos resultados sublinham a necessidade de desenvolver estratégias para melhorar a monitorização da infecção pelo *T. cruzi*, com atenção especial aos pacientes idosos.

## CONCLUSÕES

A prevalência de anticorpos IgG contra o *T. cruzi* encontrados nas amostras de soro de idosos do grupo ProTeGer - Prognósticos e Terapêuticas em Geriatria, analisados neste estudo, foi de 10,6%, demonstrando uma alta taxa de prevalência.

Quanto às características clínicas e bioquímicas séricas em jejum dos idosos, observou-se que os valores de glicemia, o índice HOMA-IR e o percentual de indivíduos com T2DM se relacionaram negativamente à infecção por *T. cruzi*, o que foi evidenciado pelos valores significativamente mais baixos nos indivíduos com sorologia positiva para DC, em comparação aos casos negativos.

Com relação a concentração de proteína C reativa (PCR) não houve diferença significativa entre os grupos comparativos, enquanto a concentração da citocina IL-6 apresentou-se bastante diminuída no grupo positivo para DC.

Há, ainda, a necessidade de mais estudos que detectem e esclareçam as possíveis correlações entre a DC e as comorbidades para atuar preventivamente e minimizar os danos à saúde desses pacientes e o impacto no processo de envelhecimento.

## PERSPECTIVAS

Em estudos futuros, é importante avaliar os efeitos do envelhecimento em pacientes com sorologia positiva anti-*T. cruzi* visando retardar tanto quanto for possível a progressão para uma forma grave da DC.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUHAB, Abrão; TRINDADE, Evelinda; AULICINO, Gabriel Barros; FUJII, Sandra; BOCCHI, Edimar Alcides; BACAL, Fernando. Chagas ' cardiomyopathy : The economic burden of an expensive and neglected disease. **International Journal of Cardiology**, 2013. DOI 10.1016/j.ijcard.2013.01.262. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.01.262>.

ADEMAR, Policarpo; JUNIOR, Sales; MOLINA, Israel; MARIA, Silvane; MURTA, Fonseca; SALVADOR, Fernando; CORR, Rodrigo. Review Article Experimental and Clinical Treatment of Chagas Disease : A Review. vol. 97, no. 5, p. 1289–1303, 2017. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0761>.

ALMEIDA, Eros Antonio De; NETO, Ruy Madsen Barbosa; GUARIENTO, Maria Elena; WANDERLEY, Silva; LOPES, Milton. Apresentação clínica da doença de Chagas crônica em indivíduos idosos Clinical presentation of chronic Chagas disease in elderly individuals. vol. 40, no. 3, p. 311–315, 2007. .

ALVES, E. S.; TONET-FURIOSO, A. C.; ALVES, V. P.; MORAES, C. F.; PÉREZ, D. I.V.; BASTOS, I. M.D.; CÓRDOVA, C.; NÓBREGA, O. T. A haplotype in the dipeptidyl peptidase 4 gene impacts glycemic-related traits of Brazilian older adults. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, vol. 55, p. 2–10, 2022. <https://doi.org/10.1590/1414-431X2022e12148>.

APARECIDA, Yeda; DUARTE, De Oliveira; ROBERTO, Paulo; SOUZA, Borges De; TORRES, Juliana Lustosa; LIMA-COSTA, Maria Fernanda; CRISTINA, Flavia; ANDRADE, Drumond. Inequalities in basic activities of daily living among older adults : , p. 1–9, 2018. .

BARROSO, Natália Duarte. UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA Aspectos clínicos e laboratoriais da Doença de Chagas em idosos. 2014. .

BARROSO, Weimar Kunz Sebba; ET AL. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. vol. 116, no. 3, p. 516–658, 2021. .

BERN, Caryn. Chagas' Disease. **The new england journal o f medicine**, vol. 373(5), p. 456–66, 2015. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1410150>.

BONNEY, Kevin M; ENGMAN, David M. Chagas Heart Disease Pathogenesis : One Mechanism or Many ? no. iii, p. 510–518, 2008. .

BRASIL, Ministério da Saúde; SUS, Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Doença de Chagas. **Relatório de Recomendação**, vol. 397, p. 1–141, 2018. .

BRASIL, Pedro E A A; CASTRO, Liane De; HASSLOCHER-MORENO, Alejandro M; SANGENIS, Luiz H C; BRAGA, José U. ELISA versus PCR for diagnosis of chronic Chagas disease : systematic review and meta-analysis. 2010. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-10-337>.

BRENER, Z.; ANDRADE, Z.A.; BARRAL-NETO, M. **Trypanossoma cruzi e Doença de Chagas**. 2nd ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

CANCINO-FAURE, Beatriz; FISA, Roser; RIERA, Cristina; BULA, Ibeth; GIRONA-LLOBERA, Enrique; JIMENEZ-MARCO, Teresa. Evidence of meaningful levels of Trypanosoma cruzi in platelet concentrates from seropositive blood donors. **Transfusion**, vol. 55, no. 6, p. 1249–1255, 2015. <https://doi.org/10.1111/trf.12989>.

CARE, Diabetes; SUPPL, S S. 2 . Classification and Diagnosis of Diabetes : Standards of Medical Care in Diabetes d 2021. vol. 44, no. January, p. 15–33, 2021. <https://doi.org/10.2337/dc21-S002>.

CARLOS, João; DIAS, Pinto; PRATA, Aluizio; CORREIA, Dalmo. Problems and perspectives for Chagas disease control : in search of a realistic analysis Problemas e perspectivas para o controle da doença de Chagas : a busca de uma análise realística. vol. 41, no. 2, p. 193–196, 2008. .

CARRASCO, J; SEGOVIA, Maikell; LLEWELLYN, Martin S; MOROCOIMA, Antonio; MARTI, Clara E; GARCIA, Carlos; URDANETA-MORALES, Servio; MARTI, Cinda; NOYA, A De; DI, Zoraida; HERRERA, Leidi; FITZPATRICK, Sinead; YEO, Matthew; MILES, Michael A; FELICIANGELI, M Dora. Geographical Distribution of Trypanosoma cruzi Genotypes in Venezuela. vol. 6, no. 6, 2012. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001707>.

CICORA, Federico; ESCURRA, Verónica; SILGUERO, Sergio;

GONZÁLEZ, Ignacio M.; ROBERTI, Javier E. Use of kidneys from trypanosoma cruzi-infected donors in naive transplant recipients without prophylactic therapy: The experience in a high-risk area. **Transplantation**, vol. 97, no. 1, p. 2013–2014, 2014. <https://doi.org/10.1097/01.TP.0000437673.86339.82>.

CRUZ, Israel; RODRI, Mercedes; NIETO, Javier; FRANCO, Elena; GA, Teresa. ´ n de te ´ cnicas serolo ´ gicas convencionales y no convencionales Comparacio ´ stico de la enfermedad de Chagas importada en Espan ~ a para el diagno. vol. 28, no. 5, p. 284–293, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2009.07.005>.

DA CUNHA, Marcela Lemes Marquez; LIMA, Luís Henrique da Silva; RIBEIRO, Luana Oliveira; PIRES, Thaisla Mendes; CEMBRANELLI, Sibeli Bonafé Santos; NUNES, Poliana Lucena; OLIVEIRA, Sandra Maria Alkmim. Distribuição Geográfica de DTUs do Trypanosoma cruzi Isolado de Infecções Humanas no Brasil: Revisão Sistemática / Geographical Distribution of DTUs from Trypanosoma cruzi Isolated from Human Infections in Brazil: Systematic Review. **Brazilian Journal of Development**, vol. 8, no. 2, p. 13334–13348, 2022. <https://doi.org/10.34117/bjdv8n2-324>.

DE NOYA, Belkisyolé Alarcón; DÍAZ-BELLO, Zoraida; COLMENARES, Cecilia; RUIZ-GUEVARA, Raiza; MAURIELLO, Luciano; ZAVALA-JASPE, Reinaldo; SUAREZ, José Antonio; ABATE, Teresa; NARANJO, Laura; PAIVA, Manuel; RIVAS, Lavinia; CASTRO, Julio; MÁRQUES, Juan; MENDOZA, Iván; ACQUATELLA, Harry; TORRES, Jaime; NOYA, Oscar. Large urban outbreak of orally acquired acute chagas disease at a school in Caracas, Venezuela. **Journal of Infectious Diseases**, vol. 201, no. 9, p. 1308–1315, 2010. <https://doi.org/10.1086/651608>.

DE SOUZA, Wanderley; DE CARVALHO, Tecia Maria Ulisses; BARRIAS, Emile Santos. Review on Trypanosoma cruzi: Host cell interaction. **International Journal of Cell Biology**, vol. 2010, 2010. <https://doi.org/10.1155/2010/295394>.

DEPARTMENT OF ECONOMIC AND SOCIAL AFFAIRS, POPULATION DIVISION, UNITED STATES. World population prospects: the 2015 revision. **New York**, , p. <https://www.un.org/development/desa/publications/w>, 2015. .

DIAS, Luiz C; FÍSICA, Instituto De; CARLOS, De São; PAULO, Universidade De São; SP, São Carlos. Revisão. vol. 32, no. 9, p. 2444–2457, 2009. .

ESTE, Ncia. **ADVERTÊNCIA Este texto não substitui o publicado no Diário Oficial da União.** [S. l.: s. n.], 2016.

FREITAS, Wladimir M.; QUAGLIA, Luiz A.; SANTOS, Simone N.; SOARES, Alexandre A.S.; JAPIASSÚ, André V.T.; BOAVENTURA, Vinicius; DOS SANTOS BARROS, Edilberto; CÓRDOVA, Cláudio; NÓBREGA, Otávio T.; SPOSITO, Andrei C. Association of systemic inflammatory activity with coronary and carotid atherosclerosis in the very elderly. **Atherosclerosis**, vol. 216, no. 1, p. 212–216, 2011. DOI 10.1016/j.atherosclerosis.2011.01.040. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2011.01.040>.

GERAIS, De Minas; BRASIL, No. Editorial. vol. 22, no. 4, p. 189–191, 2009. .

GONÇALVES, Gustavo; FRARIAS, Melissa Alves; KMETIUK, Louise Bach; PINTO, Gabriel Luís Brucinski; BIONDO, Alexandre Welker; FIGUEIREDO, Fabiano Borges. Frequência de anticorpos anti-Trypanosoma cruzi em população carcerária feminina e agentes penitenciárias do Paraná, Brasil. 2023. **58º Congresso Brasileiro de Medicina Tropical** [...]. [S. l.: s. n.], 2023. p. <https://medtrop2023.com.br/evento/medtrop2023/trab>.

GUARIENTO, Maria Elena; ALLIEGRO, Fernando Canola; ALMEIDA, Eros Antonio De. Doença de Chagas associada a doenças crônicas em pacientes assistidos em ambulatório de hospital universitário \*. no. 19, p. 84–88, 2009. .

I, Fabíola Bof De Andrade; LEOPOLDO, José; ANTUNES, Ferreira; ROBERTO, Paulo; SOUZA, Borges De. Life course socioeconomic inequalities and oral health status in later life : ELSI-Brazil. , p. 1–11, 2018. .

I, James Macinko; BOF, Fabíola; II, De Andrade; ROBERTO, Paulo; SOUZA, Borges De; IV, Junior. Primary care and healthcare utilization among older Brazilians ( ELSI-Brazil ). , p. 1–9, 2018. .

I, Maria Fernanda Lima-costa. Mudanças em dez anos das desigualdades sociais em saúde dos idosos brasileiros Changes in ten years of social Brazilians ( 1998-2008 ). vol. 46, p. 100–107, 2012. .

IBGE. Pirâmide Etária. [s. d.]. **Conheça o Brasil - População**. Available at: <https://educa.ibge.gov.br/jovens/conheca-o-brasil/populacao/18318-piramide-etaria.html>. Accessed on: 15 Jun. 2024.

IGNÁCIO, Antônio; FILHO, De Loyola; OLIVEIRA, Josélia; FIRMO, Araújo; MELO, Juliana Vaz De. Subutilização de medicamentos por motivos financeiros em adultos mais velhos : ELSI-Brasil. , p. 1–11, 2018. .

JABARI, Samir; DE OLIVEIRA, Enio C.; BREHMER, Axel; DA SILVEIRA, Alexandre B.M. Chagasic megacolon: Enteric neurons and related structures. **Histochemistry and Cell Biology**, vol. 142, no. 3, p. 235–244, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00418-014-1250-x>.

KUN, Heather; MOORE, Anne; MASCOLA, Laurene; STEURER, Frank; LAWRENCE, Gena; KUBAK, Bernard; RADHAKRISHNA, Suman; LEIBY, David; HERRON, Ross; MONE, Tom; HUNTER, Robert; KUEHNERT, Matthew. Transmission of *Trypanosoma cruzi* by Heart Transplantation. vol. 30341, 2009. <https://doi.org/10.1086/598931>.

LATIN, Is; READY, America. **Population Aging**. [S. l.: s. n.], [s. d.].

LAVOPIERRE, M M J; DICKERSON, G; GORDON, R M. Annals of Tropical Medicine & Parasitology Studies on the Methods of Feeding of Blood-sucking Arthropods. vol. 4983, no. May, 2017. <https://doi.org/10.1080/00034983.1959.11685921>.

LIMA-COSTA, M Fernanda; UCHÔA, Elizabeth. A Population-Based Study of the Association between *Trypanosoma cruzi* Infection and Cognitive Impairment in Old Age ( The Bambuí Study ). , p. 122–128, 2009. <https://doi.org/10.1159/000182819>.

LIMA, M F F; BARRETO, S M; GUERRA, H L; FIRMO, J O A; UCHOA, E; VIDIGAL, P G. Ageing with *Trypanosoma cruzi* infection in a community where the transmission has been interrupted : the Bambuí Health and Ageing Study (

BHAS ). , p. 887–893, 2001. .

LUIZ, Antonio; RIBEIRO, Pinho; ROCHA, Costa. Forma indeterminada da doença de Chagas : considerações acerca do diagnóstico e do prognóstico Indeterminate form of Chagas ' disease : considerations about diagnosis and prognosis. vol. 31, no. 3, p. 301–314, 1998. .

LUQUETTI, Alejandro O.; DO NASCIMENTO TAVARES, Suelene Brito; DA ROCHA SIRIANO, Liliane; DE OLIVEIRA, Rozângela Amaral; CAMPOS, Dayse Elizabeth; DE MORAIS, Cicilio Alves; DE OLIVEIRA, Enio Chaves. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in central Brazil. A study of 1,211 individuals born to infected mothers. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, vol. 110, no. 3, p. 369–376, 2015. <https://doi.org/10.1590/0074-02760140410>.

MACEDO, Andréa M; MACHADO, Carlos R; OLIVEIRA, Riva P; PENA, Sérgio D J. *Trypanosoma cruzi* : Genetic Structure of Populations and Relevance of Genetic Variability to the Pathogenesis of Chagas Disease. vol. 99, no. February, p. 1–12, 2004. .

MACHADO, Fabiana S; DUTRA, Walderez O; ESPER, Lisia; GARG, Nisha J. Current understanding of immunity to *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas disease. , p. 753–770, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00281-012-0351-7>.

MARTINS-MELO, Francisco Rogerlândio; NOVAES, Alberto; JR, Ramos; HENRIQUE, Carlos; HEUKELBACH, Jorg. Acta Tropica Prevalence of Chagas disease in Brazil : A systematic review and meta-analysis. **Acta Tropica**, vol. 130, p. 167–174, 2014. DOI 10.1016/j.actatropica.2013.10.002. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.10.002>.

MENDES, Barbosa; LIMA, Josiane; MANCUSSI, Ana Cristina. A situação social do idoso no Brasil : uma breve consideração \*. vol. 18, no. 4, p. 422–426, 2005. .

MENEZES, Camila; CASTRO, Sabino De; I, Maria Fernanda Lima-costa; COMINI, Cibele; II, César; FERREIRA, Rosana; VI, Sampaio. Curso da vida e capacidade para o trabalho entre adultos mais velhos : , p. 1–11, 2018. .

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Recomendações sobre o diagnóstico parasitológico, sorológico e molecular para confirmação da doença de Chagas aguda e crônica. **Revista de Patologia Tropical**, vol. 42, no. 4, p. 475–478, 2013. Available at: <http://revistas.ufg.br/index.php/iptsp/article/viewFile/28060/15821>.

MORAIS, Siliana. **Ensaio de Chagas recombinante Biolisa**. [S. l.: s. n.], 2024a.

MORAIS, Siliana. **Formas de transmissão do T. Cruzi**. [S. l.: s. n.], 2024b.

NASCIMENTO, Bruno Ramos; DIAS, André; NABACK, Nassar; PENA, Marino; GEISSBÜHLER, Yvonne; DEMACQ, Caroline. Articles Prevalence of clinical forms of Chagas disease : a systematic review and meta-analysis – data from the RAISE study. **The Lancet Regional Health - Americas**, vol. 30, no. February, p. 100681, 2024. DOI 10.1016/j.lana.2024.100681. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lana.2024.100681>.

OLIVEIRA, Bruna Guimarães. Representações , mitos e comportamentos do paciente submetido ao implante de marcapasso na doença de Chagas Representations , myths , and behaviors among Chagas disease patients with pacemakers. vol. 23, no. 7, p. 1624–1632, 2007. .

OLIVEIRA, Bruno; BRITO, Figueiredo; LIMA, Emilly Malveira; SOLIMAN, Elsayed Z; SILVA, Fernandes; LIMA-COSTA, Maria Fernanda; LUIZ, Antonio; RIBEIRO, Pinho. The evolution of electrocardiographic abnormalities in the elderly with Chagas disease during 14 years of follow-up : The Bambui Cohort Study of Aging. vol. 89, p. 1–16, 2023. DOI 10.1371/journal.pntd.0011419. Available at: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0011419>.

OLIVEIRA, Josélia; FIRMO, Araújo; VAZ, Juliana; MAMBRINI, De Melo; I, Sérgio Viana Peixoto. Controle da hipertensão arterial entre adultos mais velhos : ELSI-Brasil. , p. 1–11, 2018. .

ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DA SAÚDE. DOENÇA DE CHAGAS Guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de Chagas

aguda transmitida por alimentos. **Journal of Chemical Information and Modeling**, , p. 51–57, 2009. Available at: [https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_prevencao\\_doenca\\_chagas.pdf](https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_prevencao_doenca_chagas.pdf).

PAULO, S. Neglected tropical diseases in Brazil. vol. 51, no. 5, p. 247–253, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652009000500003>.

PEIXOTO, Solange; BELINTANI, Tiago; ROCHA, Dayse; FONTES, Felipe; FROTA, Natália; GALVÃO, Cleber. Characterization of *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Hemiptera: Heteroptera, Reduviidae) from Residual Foci in the States of Bahia and Rio Grande do Sul, Brazil, Using Geometric Morphology. 2023. .

PEREIRA, Laíse dos Santos; FREITAS, Erlane Chaves; FIDALGO, Arduína Sofia Ortet de Barros Vasconcelos; ANDRADE, Mônica Coelho; CÂNDIDO, Darlan da Silva; DA SILVA FILHO, José Damião; MICHAILOWSKY, Vladimir; OLIVEIRA, Maria de Fátima; QUEIROZ, José Ajax Nogueira. Perfil clínico e epidemiológico de pacientes idosos com doença de Chagas atendidos entre 2005-2013 por um serviço de atenção farmacêutica no estado do Ceará, nordeste do Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, vol. 57, no. 2, p. 145–152, 2015. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000200008>.

PEREIRA, Mariane Barroso; BATISTA, Angélica Martins; AGUIAR, Camila; MARCON, Elisete Barbosa; MARTINS, Luiz Cláudio; GUARIENTO, Maria Elena; CECÍLIA, Sandra; COSTA, Botelho; ALMEIDA, Eros Antonio De. The detection of *Trypanosoma cruzi* by nested-PCR in elderly patients: relationship to the clinical and epidemiological profile. **Pathogens and Global Health**, vol. 110, no. 6, p. 1–5, 2016. DOI 10.1080/20477724.2016.1232850. Available at: <http://dx.doi.org/10.1080/20477724.2016.1232850>.

PÉREZ-MOLINA, José A; MOLINA, Israel. Chagas disease. vol. 391, p. 82–94, 2018. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31612-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31612-4).

PORFÍRIO, Danillo Monteiro; LOBATO, Eduarda Souza Dacier; TRINDADE, Gabriela Pereira da; ARAÚJO FILHO, Gilson Guedes de; ALVES,

Juliana Valente; LADISLAU, Kleber Pinto; FURTADO JUNIOR, Lucival Seabra; COELHO, Maria Emília da Silva; SOUZA, Wellington Oliveira de; GONÇALVES, Taciane Silva. Prevalência de Doença de Chagas em Idosos no Estado do Pará: Uma Análise Retrospectiva. **Brazilian Journal of Health Review**, vol. 3, no. 4, p. 9142–9152, 2020. <https://doi.org/10.34119/bjhrv3n4-154>.

POVEDA, Cristina; FRESNO, Manuel; GIRONÉS, Núria; MARTINS-FILHO, Olindo A.; RAMÍREZ, Juan David; GUHL, Felipe; ET AL. Cytokine Profiling in Chagas Disease: Towards Understanding the Association with Infecting *Trypanosoma cruzi* Discrete Typing Units ( A BENEFIT TRIAL Sub-Study). vol. 9, no. 3, p. 1–8, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091154>.

RAO, Srinivasa P S; BARRETT, Michael P; DRANO, Glenn; FARADAY, Christopher J; GIMPELEWICZ, Claudio R; HAILU, Asrat; JONES, Catherine L; KELLY, John M; LAZDINS-HELDS, Janis K; MENGEL, Jose; MOTTRAM, Jeremy C; MOWBRAY, Charles E; SACKS, David L; TARLETON, Rick L; SPECTOR, Jonathan M; DIAGANA, Thierry T; SCOTT, Phillip; SPA, Gerald F. Drug Discovery for Kinetoplastid Diseases: Future Directions. 2019. <https://doi.org/10.1021/acscinfecdis.8b00298>.

RASSI, Anis; RASSI, Anis; MARIN-NETO, José Antonio. Chagas disease. **The Lancet**, vol. 375, no. 9723, p. 1388–1402, 2010. DOI 10.1016/S0140-6736(10)60061-X. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60061-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60061-X).

RASSI, Anis; REZENDE, Joffre Marcondes de; LUQUETTI, Alejandro O.; JR., Anis Rassi. **27 Clinical Phases and Forms of Chagas Disease**. [S. l.: s. n.], 2010. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384876-5.00027-7>.

RASSI, Gustavo G; HASSLOCHER-MORENO, Alejandro; SOUSA, Andrea S; PH, D; SCANAVACCA, Maurício I; PH, D. Development and Validation of a Risk Score for Predicting Death in Chagas' Heart Disease. , p. 799–808, 2006. .

REQUENA-MÉNDEZ, Ana; ALDASORO, Edelweiss; DE LAZZARI, Elisa; SICURI, Elisa; BROWN, Michael; MOORE, David A.J.; GASCON, Joaquim; MUÑOZ, Jose. Prevalence of Chagas Disease in Latin-American Migrants Living

in Europe: A Systematic Review and Meta-analysis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, vol. 9, no. 2, p. 1–16, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003540>.

RESENDE, Bruna A.M.; BELEIGOLI, Alline M.R.; RIBEIRO, Antonio Luiz Pinho; DUNCAN, Bruce; SCHMIDT, Maria Inês; MILL, José Geraldo; GOULART, Alessandra C.; PEREIRA, Alexandre da Costa; BARRETO, Sandhi Maria; DINIZ, Maria De Fátima Haueisen Sander. Chagas disease is not associated with diabetes, metabolic syndrome, insulin resistance and beta cell dysfunction at baseline of Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). **Parasitology International**, vol. 85, no. March 2020, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2021.102440>.

SANTIAGO, Paula B; ARAÚJO, Carla N De; CHARNEAU, Sébastien; PRAÇA, Yanna R; BASTOS, Izabela M D; RIBEIRO, José M C; SANTANA, Jaime M. The Pharmacopea within Triatomine Salivary Glands. **Trends in Parasitology**, , p. 1–16, 2020. DOI 10.1016/j.pt.2019.12.014. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.12.014>.

SCHMUNIS, G.A. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, vol. 1, p. 75–85, 2007. .

SCHMUNIS, Gabriel A; YADON, Zaida E. Acta Tropica Chagas disease : A Latin American health problem becoming a world health problem. **Acta Tropica**, vol. 115, no. 1–2, p. 14–21, 2010. DOI 10.1016/j.actatropica.2009.11.003. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.11.003>.

TANOWITZ, Herbert B.; MACHADO, Fabiana S.; SPRAY, David C.; FRIEDMAN, Joel M.; WEISS, Oren S.; LORA, Jose N.; NAGAJYOTHI, Jyothi; MORAES, Diego N.; GARG, Nisha Jain; NUNES, Maria Carmo P.; RIBEIRO, Antonio Luiz P. Developments in the management of Chagas cardiomyopathy. **Expert Review of Cardiovascular Therapy**, vol. 13, no. 12, p. 1393–1409, 2015. <https://doi.org/10.1586/14779072.2015.1103648>.

TARLETON, Rick L; REITHINGER, Richard; URBINA, Julio A; KITRON,

Uriel; GÜRTLER, Ricardo E. The Challenges of Chagas Disease — Grim Outlook or Glimmer of Hope? vol. 4, no. 12, 2007. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0040332>.

TERMS, Full. World Health Organization : Declaration of Interests for Who Experts. vol. 3525, no. March, p. 1–4, 2016. <https://doi.org/10.1179/107735202800338821>.

TIEKO, Liana; KUSANO, Evangelista. Diagnosis and control of polypharmacy in the elderly Diagnóstico e controle da polifarmácia no idoso. vol. 41, no. 6, p. 1049–1053, 2007. .

TONET, A C; KARNIKOWSKI, M; MORAES, C F; GOMES, L; KARNIKOWSKI, M G O. Association between the -174 G / C promoter polymorphism of the interleukin-6 gene and cardiovascular disease risk factors in Brazilian older women. vol. 41, no. 2, 2008. .

VIGILÂNCIA, Secretaria De. Boletim Epidemiológico Territorialização e vulnerabilidade para doença de Chagas crônica. 2022. .

VIGILÂNCIA, Secretaria De. Epidemiológico. vol. 46, 2015. .

VIZZONI, Alexandre Gomes; VARELA, Margareth Catoia; SANGENIS, Luiz Henrique Conde; HASSLOCHER-MORENO, Alejandro Marcel; DO BRASIL, Pedro Emmanuel Alvarenga Americano; SARAIVA, Roberto Magalhães. Ageing with Chagas disease: An overview of an urban Brazilian cohort in Rio de Janeiro. **Parasites and Vectors**, vol. 11, no. 1, 19 Jun. 2018. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2929-y>.

WEGNER DH, Rohwedder RW. The effect of nifurtimox in acute Chagas' infection. **Arzneimittelforschung**, vol. 22(9), p. 1624–35, 1972. .

WHO. **First WHO report on neglected tropical diseases: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases**. Geneva: [s. n.], 2010.

WHO. World Chagas Disease Day 2024: urging early diagnosis and care for life. 2024a. Available at: <https://www.who.int/news/item/11-04-2024-world->

chagas-disease-day-2024-urging-early-diagnosis-and-care-for-life. Accessed on: 30 Apr. 2024.

WHO, World Health Organization. World Chagas Disease Day 2024: urging early diagnosis and care for life. 2024b. Available at: <https://www.who.int/news/item/11-04-2024-world-chagas-disease-day-2024-urging-early-diagnosis-and-care-for-life>. Accessed on: 10 May 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Active ageing: a policy framework. **World Health Organization**, , p. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/67215>, 2002. .

YAMAGATA, Yoichi; NAKAGAWA, Jun. Control of Chagas Disease. vol. 61, no. 05, 2006. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(05\)61004-4](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(05)61004-4).

ZANARD, Alessandro; FERREIRA, Lopes; NUNES, Carla; ARA, De; CUNHA, Isabela; CARDOSO, Costa; STEPHANIE, Karen; MANGABEIRA, De Souza; ROCHA, Amanda Pereira; CHARNEAU, S; SANTANA, Jaime Martins; MARQUES, Izabela; BASTOS, Dourado. Metacyclogenesis as the Starting Point of Chagas Disease. , p. 1–21, 2024. .

ZINGALES, B; ANDRADE, S G; CAMPBELL, D A; CHIARI, E; FERNANDES, O; GUHL, F. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature : second revision meeting recommends TcI to TcVI. vol. 104, no. November, p. 1051–1054, 2009. .

ZINGALES, Bianca. *Trypanosoma cruzi* genetic diversity: Something new for something known about Chagas disease manifestations, serodiagnosis and drug sensitivity. **Acta Tropica**, vol. 184, p. 38–52, 2018. DOI 10.1016/j.actatropica.2017.09.017. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.09.017>.