

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisas René Rachou
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde



Belo Horizonte
Fevereiro/2014

**Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisas René Rachou
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde**

**DOENÇA DE CHAGAS EM BAMBUÍ:
ESTADO ATUAL E VIGILÂNCIA**

por

Christiane Santos Matos

**Tese apresentada com vistas à obtenção
do título de Doutora em Ciências, na área
de concentração Doenças Infecciosas e
Parasitárias.**

Orientação: Dr. João Carlos Pinto Dias

**Belo Horizonte
Fevereiro/2014**

Catálogo-na-fonte
Rede de Bibliotecas da FIOCRUZ
Biblioteca do CPqRR
Segemar Oliveira Magalhães CRB/6 1975

M425d Matos, Christiane Santos.
2014

Doença de Chagas em Bambuí: estado atual e vigilância / Christiane Santos Matos. – Belo Horizonte, 2014.

XX, 116 f.: il.; 210 x 297mm.

Bibliografia: f.: 115 - 136

Tese (Doutorado) – Tese para obtenção do título de Doutor(a) em Ciências pelo Programa de Pós - Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisas René Rachou. Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

1. Doença de Chagas/epidemiologia 2. *Trypanosoma cruzi*/parasitologia 3. Vigilância Epidemiológica/utilização I. Título. II. Dias, João Carlos Pinto (Orientação).

CDD – 22. ed. – 616.936 3

**Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisas René Rachou
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde**

**DOENÇA DE CHAGAS EM BAMBUÍ:
ESTADO ATUAL E VIGILÂNCIA**

por

Christiane Santos Matos

Foi avaliada pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof Dr. João Carlos Pinto Dias (Presidente)

Prof Dr. José Rodrigues Coura

Profa Dra. Eliane Dias Gontijo

Profa Dra. Vanessa Peruhype Magalhães Pascoal

Profa Dra. Juliana Vaz de Melo Mambrini

Suplente: Prof Dr. Antônio Ignácio de Loyola Filho

Tese defendida e aprovada em: 21/02/2014

Oração ao tempo

*“...Compositor de destinos
Tambor de todos os ritmos
Tempo tempo tempo tempo
Entro num acordo contigo
Tempo tempo tempo tempo*

*De modo que o meu espírito
Ganhe um brilho definido
Tempo tempo tempo tempo
E eu espalhe benefícios
Tempo tempo tempo tempo...”*

Caetano Veloso

DEDICATÓRIAS

À todos os pacientes portadores da enfermidade de Chagas residentes no município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil.

AGRADECIMENTOS

Ao *Centro de Pesquisas René Rachou*, em especial aos profissionais da Secretaria de Pós-Graduação, da Biblioteca e todos os Professores, por contribuírem para a minha formação durante o curso de Doutorado.

Ao meu mestre *Dr. João Carlos Pinto Dias*, pela oportunidade de aprendizado, amizade, apoio e inspiração. A convivência saudável e respeitosa, além de seus ensinamentos, ficaram registrados como exemplo de vida. Com carinho e grande respeito, meus sinceros agradecimentos pela honra de ter sido sua aluna.

Ao meu amigo *José Eloy dos Santos Júnior* e seus Pais, *Sueli Viega* e *José Eloy*, que compartilharam todos os momentos de alegria e dificuldades ao longo desse período, contribuindo para tornar esta caminhada mais leve. Em especial, ao *Dr. José Eloy dos Santos Júnior*, agradeço pela colaboração em todas as etapas deste trabalho: sem a sua dedicação, este trabalho não teria o mesmo brilho. Obrigada por compartilhar seus saberes, pela parceria nas atividades de campo e laboratório, pela paciência e carinho. Você é co-autor desse trabalho em todas as dimensões.

À *equipe do Posto Avançado de Estudos Emmanuel Dias*, em Bambuí, pelo apoio constante e colaboração durante todo trabalho de campo. O apoio das Farmacêuticas *Nádia Coutinho* e *Amanda Paulinelli* e sua equipe na triagem e condução dos pacientes para os exames laboratoriais foi de fundamental importância. De forma especial, agradeço a *Paulo Lamounier* pelo auxílio nas amostragens de campo em Bambuí. Minha gratidão também aos funcionários do PAEED *Marcelo*, *Eliana* e *Rose* que ajudaram na triagem dos pacientes.

À *equipe da Policlínica Maria Adélia Cardoso* em Bambuí agradeço pelo importante trabalho na execução dos exames radiológicos dos pacientes portadores da doença de Chagas crônica.

AGRADECIMENTOS

Aos colegas do Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da doença de Chagas pela colaboração e aprendizado nestes quatro anos do curso de doutorado e à Dra. *Liléia Diotaiuti* pelo apoio neste período. Deixo um abraço especial aos colegas do LATEC: *Sílvia Barbosa, Aline Rosa, Ademilson e Rose, Marinely Bustamante, Jorge Spinoza*, aos colegas contemporâneos do Curso de Pós-graduação do CPqRR e para minhas colegas e amigas do IOC/Fiocruz-RJ *Catarina Macedo e Simone Freitas* pela parceria e amizade.

Um agradecimento especial fica à minha amiga *Sarah Giarola da Silva*, a quem tive o prazer de co-orientar o seu trabalho de iniciação científica por dois anos juntamente com o Dr. José Eloy e sob a supervisão do Dr. João Carlos Pinto Dias. Obrigada Sarah pelo excelente trabalho desenvolvido que contribuiu diretamente para a minha tese.

À equipe da Dra. *Marta de Lana*, do Laboratório de Doença de Chagas – Universidade Federal de Ouro Preto e os colegas *Evandro Machado, Girley Francisco e Maycon Tavares* pela parceria na análise molecular das amostras dos pacientes com doença de Chagas.

Agradeço às minhas amigas *Isabel Rossiter, Valéria Tassara e Daniela Fürho* por terem estado ao meu lado, seja em pensamento ou nos momentos de encontro, principalmente na reta final do Doutorado, sempre com uma palavra de carinho e incentivo.

Ao meu grande amigo *Francisco dos Anjos Fonseca*, grata pela amizade sincera, torcida e conselhos do bem.

Com muito carinho e amor, agradeço esta conquista aos meus Pais, minhas irmãs, sobrinhos e à *Alfredo Macedo Neto*, por sempre acreditarem em mim e, em sua simplicidade de viver, comemoraram comigo cada vitória em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao CPqRR por ter financiado a minha bolsa de estudos durante os quatro anos do Curso de Doutorado e pelo suporte para as atividades de campo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (processo 19298/2011-2) referente à concessão de bolsa de estudos para o subprojeto: “Avaliação da mortalidade por doença de Chagas no Brasil e no Estado de Minas Gerais, com ênfase no município de Bambuí”, trabalho executado pela bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq), Sarah Giarola da Silva no LATEC/CPqRR.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo financiamento ao projeto de pesquisa do Doutorado (processo APQ-02662-09).

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xvi
RESUMO.....	xix
ABSTRACT.....	xx
1 INTRODUÇÃO	21
1.1 Doença de Chagas – aspectos gerais.....	21
1.2 Epidemiologia, profilaxia e vigilância da doença de Chagas	27
2 OBJETIVOS.....	36
2.1 Objetivo Geral	36
2.2 Objetivos Específicos	36
3 REVISÃO DE LITERATURA	37
3.1 Doença de Chagas – breve histórico	37
3.2 O município de Bambuí.....	39
3.3 Bambuí no contexto da doença de Chagas.....	39
4 METODOLOGIA	46
4.1 Área de estudo	46
4.2 Delineamento do estudo.....	48
4.2.1 ETAPA I – Submissão do projeto ao Comitê de Ética em Pesquisa do CPqRR/Fiocruz-MG.....	48
4.2.2 ETAPA II – Descrição do panorama geral da infecção chagásica no município de Bambuí.....	49
4.2.3 ETAPA III - Avaliação clínica e laboratorial dos indivíduos estudados no inquérito sorológico	51
4.2.4 ETAPA IV - Caracterização dos grupos de <i>Trypanosoma cruzi</i> nos pacientes crônicos identificados no inquérito	54
4.2.5 ETAPA V - Caracterização dos principais indicadores de morbi-mortalidade associados à infecção chagásica no município.....	58

5 RESULTADOS	60
5.1 Descrição do panorama geral da infecção chagásica no município de Bambuí	60
5.2 Avaliações laboratorial e clínica dos indivíduos estudados em inquérito sorológico atual	64
5.2.2 Avaliação laboratorial	64
5.2.3 Avaliação clínica	66
5.3 Caracterização dos grupos de <i>Trypanosoma cruzi</i> nos pacientes crônicos identificados no inquérito	72
5.4 Caracterização dos principais indicadores de morbi-mortalidade associados à infecção chagásica no município	76
5.4.1 Avaliação da mortalidade	76
5.4.2 Avaliação da morbidade	78
6 DISCUSSÃO	80
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	93
7.1 Descrição atual do panorama geral da infecção chagásica no município de Bambuí	93
7.2 Avaliação clínica e laboratorial dos indivíduos estudados em inquérito sorológico atual	94
7.3 Caracterização dos grupos de <i>Trypanosoma cruzi</i> nos pacientes crônicos identificados no inquérito	95
7.4 Caracterização dos principais indicadores de morbi-mortalidade associados à infecção chagásica no município	96
8 ANEXOS	97
8.1 Folha de rosto – Projeto de Pesquisa enviado ao CEP/MS	97
8.2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	99
8.3 Termo de Informação para Crianças e Adolescentes	102
8.4 Termo de Compromisso das Instituições Parceiras	105
8.5 Publicações	108
9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115

LISTA DE FIGURAS

Figura da capa: Casa de pau-à-pique, município de Bambuí. Fonte: Arquivos fotográficos das atividades de campo no município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil - Matos CS, 2011-2012.....	i
Figura 1 - Esquema do ciclo biológico do parasito <i>Trypanosoma cruzi</i> . Os números 1 e 2 indicam o ciclo do protozoário no vetor e os números de 3 a 7, o ciclo no hospedeiro humano (Fonte: adaptado de Rassi et al 2010).....	23
Figura 2 - Distribuição geográfica da enfermidade de Chagas nas Américas de acordo com a situação de transmissão pelo principal vetor de cada área em 2011. Fonte: Organização Pan-Americana de Saúde.....	28
Figura 3 - Ficha do primeiro caso agudo de doença de Chagas no município de Bambuí, casuística do Posto Avançado de Estudos Emmanuel Dias – PAEED. Fonte: Arquivos históricos do PAEED, Museu Emmanuel Dias.....	40
Figura 4 - (A) Mapa do Brasil com destaque para o Estado de Minas Gerais. (B) Mapa do Estado de Minas Gerais mostrando a localização de Bambuí em relação à capital mineira Belo Horizonte.....	46
Figura 5 - Paisagem característica da região estudada no município de Bambuí, localidade rural Pedrinhas, com áreas desmatadas, predomínio de pastagens, fragmentos do Cerrado no topo dos morros e anexo próximo à mata. Fonte: Arquivos fotográficos das atividades de campo no município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil - Matos CS, 2011-2012.....	47
Figura 6 - Coleta de sangue nas dependências do PAEED (A e B) e na zona rural (C e D). Fonte: Arquivos fotográficos das atividades de campo no município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil - Matos CS, 2011-2012.....	50
Figura 7 - Número de voluntários participantes do inquérito segundo naturalidade..	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 8 - Número de homens (A) e mulheres (B) com sorologia reagente ou não-reagente para <i>Trypanosoma cruzi</i> . As barras em cinza indicam os pacientes com sorologia não-reagente e as coloridas (azul e vermelho), os pacientes com sorologia reagente para o parasito.....	63
Figura 9 - Perfis de DNA obtidos pela genotipagem de isolados de <i>Trypanosoma cruzi</i> provenientes de pacientes do município de Bambuí/MG, obtidos pela amplificação da região 3' do gene 24Sα rDNA. PM = Peso molecular, Controles (TCI a VI), amostras (42 a 49, 51 e 52)	72
Figura 10 - Perfis de DNA obtidos pela genotipagem de isolados de <i>Trypanosoma cruzi</i> provenientes de pacientes do município de Bambuí/MG, por meio da análise do polimorfismo do gene da subunidade II da Citocromo Oxidase (COII). PM = Peso molecular, Controles (TCI, TCII e TCIII), amostras (42 a 49)	73
Figura 11 - Perfis de DNA obtidos pela genotipagem de isolados de <i>Trypanosoma cruzi</i> provenientes de pacientes do município de Bambuí/MG, obtidos pela amplificação da região 3' do gene 24Sα rDNA. PM = Peso molecular, Controles (TCI a VI), amostras (42 a 49, 51 e 52)	74
Figura 12 - Número de óbitos por doença de Chagas obtidos nas diferentes faixas etárias avaliadas no período de 1980 a 2011.....	76
Figura 13 - Taxa de mortalidade (/1000 hab.) observada no período avaliado (1980-2011) organizada por triênios para o município de Bambuí.....	77
Figura 14 - Internações por doença de Chagas em Bambuí segundo faixa etária no período entre 1984 a 2007.....	78
Figura 15 - Internações hospitalares por doença de Chagas em Bambuí no período compreendido entre 1984 a 2007.....	79

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - INICIATIVAS PARA O CONTROLE E PROFILAXIA DA DOENÇA DE CHAGAS.....	31
TABELA 2 - CRITÉRIOS DE CLASSIFICAÇÃO DOS ISOLADOS DE <i>Trypanosoma cruzi</i> NOS DTU(S) TCI AO TCVI, SEGUNDO D'ÁVILLA E COLABORADORES (2009)	58
TABELA 3 - NÚMERO DE PACIENTES COM SOROLOGIA REAGENTE SEGUNDO NATURALIDADE E FAIXA ETÁRIA.....	62
TABELA 4 - DESEMPENHO DOS TESTES SOROLÓGICOS PARA AVALIAÇÃO DA INFECÇÃO PELO <i>Trypanosoma cruzi</i>	64
TABELA 5 - RESULTADO DOS EXAMES COMPLEMENTARES REALIZADOS NOS PACIENTES COM SOROLOGIA REAGENTE PARA <i>Trypanosoma cruzi</i>	65
TABELA 6 - RESULTADOS DOS EXAMES PARASITOLÓGICOS DE FEZES REALIZADOS NO GRUPO DE PACIENTES COM SOROLOGIA REAGENTE PARA <i>Trypanosoma cruzi</i>	65
TABELA 7 - RESULTADO DOS EXAMES DE HEMOCULTURA REALIZADOS NO GRUPO DE PACIENTES CRÔNICOS.....	66
TABELA 8 - CLASSIFICAÇÃO DOS PACIENTES SEGUNDO FORMA CLÍNICA DA DOENÇA DE CHAGAS E SEXO.....	67
TABELA 9 - CLASSIFICAÇÃO DOS PACIENTES PORTADORES DA DOENÇA DE CHAGAS SEGUNDO FAIXA ETÁRIA E FORMA CLÍNICA.....	67
TABELA 10 - RELAÇÃO DE CO-MORBIDADES DIAGNOSTICADAS EM PACIENTES COM INFECÇÃO POR <i>Trypanosoma cruzi</i>	69

LISTA DE TABELAS

TABELA 11 - IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS DE <i>Trypanosoma cruzi</i> ISOLADOS DE PACIENTES DO MUNICÍPIO DE BAMBUÍ/MG.....	75
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%	Percentual
®	Marca registrada
°C	Graus centígrados
♀	Mulher
♂	Homem
AMCHA	Iniciativa dos Países Amazônicos para a Vigilância e Controle da Enfermidade de Chagas
B.O.D	Demanda Bioquímica de Oxigênio
BHC	Benzeno hexa-clorado
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CEPMCh	Centro de Estudos e Profilaxia da Moléstia de Chagas
CID	Classificação Internacional de Doenças
CID-BR-10	Classificação Internacional de Doenças – Brasil, décima revisão
CID-BR-9	Classificação Internacional de Doenças – Brasil, nona revisão
COX II	Citocromo Oxidase subunidade II
CPqRR	Centro de Pesquisa René Rachou
Datasus	Departamento de Informática do SUS
DCA	Doença de Chagas aguda
DCh	Doença de Chagas
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTP	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
DTT	Dithiothreitol
DTU	Discret Typing Unit
EFCB	Estrada de Ferro Central do Brasil
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
Funed	Fundação Ezequiel Dias
GAL	Gerenciador de Ambiente Laboratorial
H ₂ O	Água
HAI	Hemaglutinação indireta
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
IgG	Imunoglobulina G

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Incosul	Iniciativa dos Países do Cone Sul
IND	Indeterminado
IOC	Instituto Oswaldo Cruz
IPA	Iniciativa dos Países Andinos de Controle da Transmissão Vetorial e Transfusional da Enfermidade de Chagas
IPCA	Iniciativa dos Países da América Central para o Controle da Transmissão Vetorial, Transfusional e Atenção Médica à Enfermidade de Chagas
KCl	Cloreto de sódio
LATEC	Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas
LIT	<i>Liver Infusion Tryptose</i>
MG	Estado Minas Gerais
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
min.	Minuto
mL	Mililitros
mM	Milimolar
MS	Ministério da Saúde
ng	Nanograma
NR	Não-reagente
Opas	Organização Pan-Americana da Saúde
p	Significância estatística
PAEED	Posto Avançado de Estudos Emmanuel Dias
pb	Pares de base
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
pH	Potencial hidrogeniônico
PNCDC	Programa Nacional de Controle da Doença de Chagas
R ²	Coeficiente de determinação
rDNA	Ácido desoxiribonucléico
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RPM	Rotações por minuto
RS	Estado Rio Grande do Sul

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

s	Segundos
SIH	Sistema de Internação Hospitalar
SIM	Sistema de Informação de Mortalidade
SL-IL	Espaçador intergênico do mini-exon
Sucam	Superintendência de Campanhas de Saúde Pública
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
<i>T. cruzi</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
Taq	Enzima polimerase derivada da bactéria <i>Thermus aquaticus</i>
TcI	<i>Trypanosoma cruzi</i> I
TcII	<i>Trypanosoma cruzi</i> II
TcIII	<i>Trypanosoma cruzi</i> III
TcIV	<i>Trypanosoma cruzi</i> IV
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TcTOX	Proteína lítica secretada pelo <i>Trypanosoma cruzi</i>
TcV	<i>Trypanosoma cruzi</i> V
TcVI	<i>Trypanosoma cruzi</i> VI
Tris-HCl	Trisaminometano
U	Unidade
UFOP	Universidade Federal de Ouro Preto
US\$	Dólar
USA	<i>United State of America</i>
VE	Vigilância Epidemiológica
WHO	<i>World Health Organization</i>
X ²	Qui-quadrado
α	alfa
μL	microlitro

RESUMO

Cenário de importantes atividades no controle da doença de Chagas (DCh), Bambuí foi o primeiro município brasileiro a alcançar a vigilância epidemiológica em 1974. O presente trabalho buscou caracterizar a atual situação epidemiológica da doença de Chagas no município de Bambuí, identificando principais grupos afetados, formas clínicas predominantes e grupos do parasito circulantes nos pacientes. Foram amostrados 1.782 indivíduos, dos quais 138 (7,7%) foram soro-reagentes para *T. cruzi*. Para ambos os gêneros predominaram soros positivos acima dos 60 anos de idade, sendo detectadas duas mulheres mais jovens (32 e 40 anos) infectadas. Nos pacientes clinicamente avaliados, foi possível diagnosticar as formas clínicas digestiva (7/101), indeterminada (14/101), cardíaca (30/101) e cardiodigestiva (50/101), bem como a presença do grupo DTU TcII, excetuando apenas dois casos de infecção mista (DTU TcI e TcII). Dos 5.429 óbitos ocorridos em Bambuí ao longo de 31 anos, 638 (11,8%) foram devido à DCh, sendo 54,5% (348/638) referente ao sexo masculino, 45,1% (288/638) ao sexo feminino e 0,3% (2/638) tiveram registro de sexo ignorado. A faixa etária na qual se registrou o maior número de óbitos no município foi de 60 a 69 anos. Com relação à morbidade, observou-se um total 22 registros de internações em Bambuí pelo Sistema Único de Saúde no período de 1984 a 2007, sendo 7 (31,82%) referentes à homens e 15 (38,69%) à mulheres. Este trabalho pode servir como um alerta ao cuidado dos pacientes crônicos que ainda requerem atenção médica especializada e reforça a necessidade de constantes medidas de vigilância epidemiológica à endemia chagásica no município de Bambuí.

ABSTRACT

Recognising the importance of Chagas disease (Chd) in Brazil, Bambuí set up epidemiological surveillance in 1974 and was the first municipality to do so. This study aimed to characterize the current epidemiological situation of Chd in Bambuí, identifying main groups affected, the predominant clinical forms and the parasite groups circulating in patients. We sampled 1.782 individuals, of which 138 (7.7%) were tested positive for *Trypanosoma cruzi*. Both genders above 60 years of age were seropositive for Chagas disease, also being detected in two younger women (32 and 40 years of age). In patients clinically evaluated it was possible to diagnose digestive (7/101), undetermined (14/101), cardiac (30/101) and cardiodigestive clinic forms (50/101), as well as the presence of DTU TCII groups, except in only two cases of mixed infection (DTU TcI and TCII). Out of the 5.429 deaths occurring in Bambuí over 31 years, 638 (11.8%) were due to Chd, being 54.5% (348/638) for males, 45.1% (288/638) for females and 0.3% (2/638) had unknown sex registry. The age range at which the highest number of deaths in the municipality were registered was 60 to 69 years. With respect to morbidity, there was a total of 22 records of hospitalizations in Bambuí by the Brazilian Unified Health System during the period of 1984-2007, with 7 (31.82%) related to men and 15 (38.69%) to women. This study can be useful as a warning for the care of chronic patients who still require specialized medical attention and reinforces the need for constant surveillance measures for Chd in Bambuí.

1 INTRODUÇÃO

“Proliferavam nas habitações pobres, nas choupanas de paredes não rebocadas e cobertas de capim, atacando o homem à noite, depois de apagadas as luzes, e ocultando-se, durante o dia, nas frestas das paredes, nas coberturas das casas, em todos os esconderijos...”

Carlos Chagas, 1909

1.1 Doença de Chagas – aspectos gerais

A doença de Chagas (DCh) é uma infecção parasitária causada pelo protozoário hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*. O mecanismo natural de transmissão da doença acontece através da via vetorial, ou seja, pelo contato do hospedeiro vertebrado com fezes e/ou urina do inseto vetor contaminadas com as formas tripomastigotas metacíclicas do *T. cruzi*. Os vetores são insetos hematófagos da ordem Hemiptera, família Reduviidae e subfamília Triatominae, popularmente conhecidos como “barbeiros” (Coura 2007).

A DCh se caracteriza por uma fase aguda (na maior parte das vezes, oligossintomática) e quando não tratada adequadamente, pode evoluir para uma fase crônica. Trata-se de uma antroponose complexa, que inclui mais de 150 espécies de mamíferos como reservatórios e mais de 140 espécies de triatomíneos potencialmente transmissoras do parasito (Costa et al 2006, Galvão & Ângulo 2006, Costa & Felix 2007, Coura 2007, Martínez et al 2007, Sandoval et al 2007).

O *T. cruzi* apresenta um complexo ciclo vital e se apresenta em três principais estágios de desenvolvimento, distinguíveis morfológicamente: a forma infectante, tripomastigota metacíclico (eliminado pelo triatomíneo infectado) ou sanguíneo (presente no hospedeiro vertebrado) e formas replicativas, amastigotas e epimastigotas. Em geral, o ciclo tem início quando vetores triatomíneos infectados praticam hematofagia em mamíferos e depositam suas fezes e/ou urina contendo as formas tripomastigotas metacíclicas. A irritação decorrente da picada do inseto induz o indivíduo a

coçar o local, o que permite que o parasita atravesse a epiderme lesionada e invada as células hospedeiras. O *T. cruzi* também pode infectar o hospedeiro pela invasão de mucosas e potencialmente todos os tipos de células nucleadas, que apresentam, entretanto, distintos graus de susceptibilidade à infecção. Logo após a entrada, a forma tripomastigota habita o interior de um vacúolo parasitóforo, de onde sai para o citosol após 1-2 horas, devido à ação de proteína lítica, TcTOX, secretada pelo parasita, e se diferenciam para a forma amastigota que, após um período de latência de aproximadamente 24 horas, se replica por fissão binária, com uma duplicação a cada 12 horas. Após a multiplicação, os amastigotas se diferenciam para tripomastigotas, que emergem da célula hospedeira rompida, à proporção de 500 parasitos para cada um internalizado, para infectar células adjacentes ou alcançar a corrente sanguínea. O ciclo replicativo intracelular leva de 3 a 5 dias (Brener & Andrade 1979).

Os tripomastigotas não sobrevivem por muito tempo no sangue, pois não infectam hemácias nem se multiplicam, então se disseminam atravessando a barreira endotelial do sistema circulatório do vertebrado e infectando células de outros órgãos ou, eventualmente, são ingeridos por insetos triatomíneos durante a alimentação sanguínea, dando continuidade ao ciclo de vida. Os tripomastigotas ingeridos pelo triatomíneo são conduzidos à porção anterior do estômago, onde se diferenciam em epimastigotas. Neste novo ambiente, multiplicam-se sucessivamente por divisão binária, aderindo às membranas perimicrovilares. Em seguida, os epimastigotas se desprendem e migram para o intestino posterior, onde iniciam o processo de diferenciação em tripomastigotas metacíclicos (Figura 1), capazes de infectar células de mamíferos. O processo inteiro de desenvolvimento no triatomíneo leva de 10 a 15 dias (Dias 1933, Brener 1973).

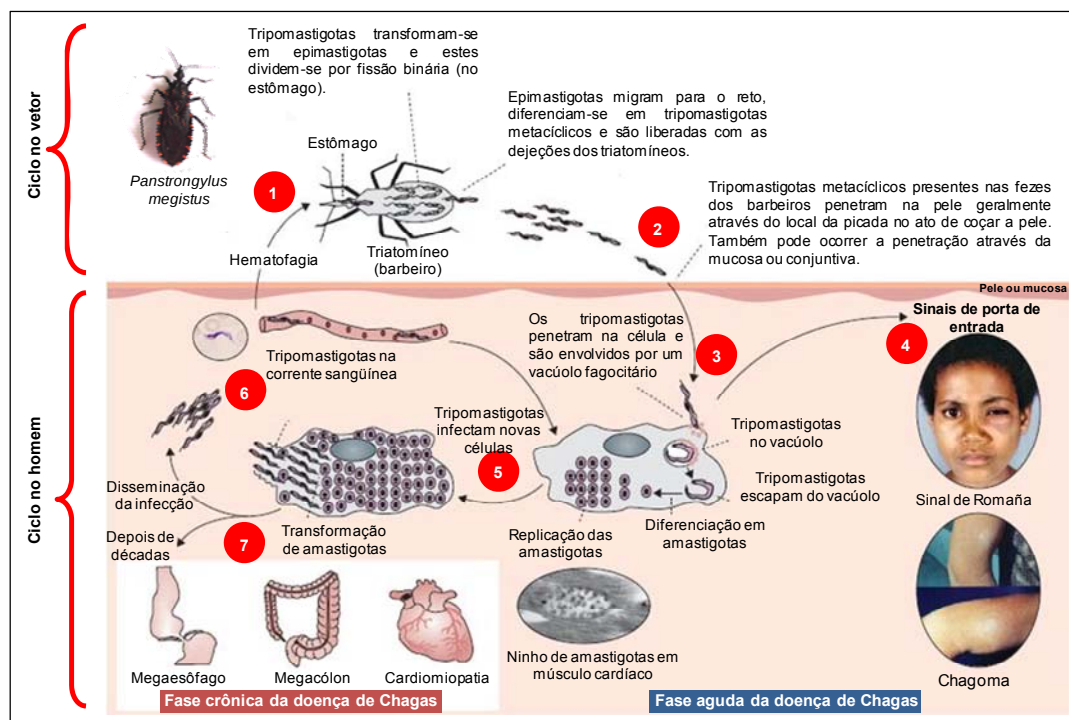


Figura 1 - Esquema do ciclo biológico do parasito *Trypanosoma cruzi*. Os números 1 e 2 indicam o ciclo do protozoário no vetor e os números de 3 a 7, o ciclo no hospedeiro humano (Fonte: adaptado de Rassi et al 2010).

Além da via vetorial, o *T. cruzi* pode ser transmitido através da via oral, congênita, transfusional, transplantes de órgãos e/ou acidentes laboratoriais. Atualmente, a via oral tem apresentado grande importância epidemiológica para a transmissão do *T. cruzi* no Brasil. Esta via, de caráter habitual no ciclo enzoótico primitivo, ocorre de maneira esporádica e circunstancial no ambiente utilizado pelo homem. Desde o relato de Mazza e colaboradores (1936), sobre transmissão por leite materno, outros trabalhos relatam casos da transmissão via oral, como em Teutônia/RS (Silva et al 1968), em Santa Catarina (Steindel et al 2008) e surtos ocorridos na região Amazônica e outras localidades das regiões norte e nordeste. Verifica-se que surtos de DCh relacionados à ingestão de alimentos contaminados (caldo de cana, açaí, bacaba, entre outros) e casos isolados por transmissão vetorial extradomiciliar vem ocorrendo especialmente na Amazônia Legal (Coura et al 1999, Dias 2006b).

Uma vez infectado pelo *T. cruzi*, um indivíduo pode apresentar diferentes manifestações clínicas. Dessa forma, a análise de aspectos clínicos e laboratoriais de pacientes portadores da doença de Chagas permite classificar a infecção em duas fases: aguda e crônica. A fase aguda é o período inicial da doença, sendo geralmente assintomática e de curso benigno, sendo caracterizada pela relativa facilidade com que se evidencia o *T. cruzi* no sangue periférico. Manifestações sistêmicas como febre, mal estar, astenia, edema subcutâneo, linfadenomegalia, esplenomegalia, hepatomegalia, miocardite e meningoencefalite podem ser observadas nesta fase (Prata 1990, Rezende & Rassi 1994). Além disso, podem ocorrer manifestações inflamatórias locais quando o *T. cruzi* penetra na conjuntiva (sinal de Romaña) ou na pele (chagoma de inoculação), aparecendo dentro de 4 a 10 dias após a infecção, regredindo em um ou dois meses (Brener et al 2000). Em certos casos graves, sobretudo em crianças, pode sobrevir a morte, devido à um ataque intensivo dos parasitos aos órgãos e tecidos mais nobres do corpo, como o coração e sistema nervoso central. A mortalidade nesses casos pode alcançar níveis de 2 a 8%, especialmente em crianças, quando não tratadas adequadamente (Coura & Castro 2002).

Segundo Dados da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS/MS), no período de 2000 a 2011, foram registrados no Brasil 1.252 casos de doença de Chagas aguda (DCA) (Ministério da Saúde, 2011). A notificação dos casos suspeitos deve obedecer ao que está estabelecido na Portaria SVS/MS nº 104, de 25 de janeiro de 2011. Todo caso de DCA é de notificação obrigatória às autoridades locais de saúde (Ministério da Saúde 2011, 2012).

A evolução da fase aguda para a fase crônica é acompanhada pelo gradativo desaparecimento das manifestações clínicas e redução da parasitemia, ocorrendo cerca de dois a quatro meses após o final da fase aguda (Dias et al 1945). Observa-se também a elevação de anticorpos específicos da classe IgG, com o subsequente decréscimo dos mesmos ao longo da cronificação da doença. Mais de 90% dos pacientes com manifestações clínicas da fase aguda sobrevivem à infecção inicial. Pouco a

pouco, os parasitos tornam-se escassos no sangue periférico, a sintomatologia se atenua e após algum tempo, em média 2 a 4 meses, a doença entra em um período de latência clínica e torna-se crônica. Após permanecerem assintomáticos por vários anos, cerca de 30% dos pacientes chagásicos podem apresentar sintomatologias relacionadas com os sistemas cardiocirculatório (forma cardíaca), digestivo (forma digestiva) ou ambos (forma cardiodigestiva ou mista) (Prata 1990). A cardiopatia chagásica constitui a manifestação clínica mais comum e de maior morbimortalidade na doença de Chagas, podendo ser silenciosa ou se apresentar com alguma das três formas clínicas: com sinais e sintomas de insuficiência cardíaca, com presença de arritmias complexas e com manifestações cardioembólicas. São comuns na fase avançada os grandes edemas nas pernas e outras partes do corpo, as sensações de fraqueza e de “canseira”, as frequentes palpitações, intensa “falta de ar”, dentre outros sintomas.

Os comprometimentos digestivos, menos comuns, se traduzem, geralmente pelo aumento de calibre do esôfago ou das proporções finais do intestino. No primeiro caso, resulta uma dificuldade progressiva em realizar-se a deglutição, inicialmente para os alimentos mais duros e secos e depois para qualquer alimento, mesmo os líquidos. É o que, popularmente, se conhece como “mal do engasgo”, “embuchamento” ou “empazinamento”. O comprometimento intestinal geralmente acarreta fortes constipações intestinais, que podem durar alguns dias, algumas semanas, ou mesmo meses, levando o doente a um intenso sofrimento por não conseguir evacuar (Rezende 1956, Rezende-Filho 1989, Castro 2009).

No Brasil, estudos em áreas endêmicas têm evidenciado que a distribuição das formas clínicas pode variar segundo a cepa infectante, nas diferentes regiões. Na Bahia predominam as formas cardíacas; em Goiás, megaesôfago e megacólon; Minas Gerais, formas mistas (cardíaca e digestiva); no Rio Grande do Sul e no Rio de Janeiro, a maioria dos infectados desenvolvem a forma indeterminada. Estas variações também foram observadas em outros países da América Latina, como o Panamá e Venezuela, onde só existe a forma cardíaca; na Argentina e Chile, presença de diversas

formas clínicas distribuídas regionalmente. Estas diferenças sugerem que fatores genéticos relacionados ao parasito e hospedeiro poderiam estar associados às manifestações clínicas observadas (Coura et al 1983).

Acredita-se que as manifestações patológicas, tanto na fase aguda quanto na fase crônica da doença de Chagas, sejam consequência de mecanismos multifatoriais relacionados tanto ao parasito quanto ao hospedeiro vertebrado. Dentre os fatores relacionados ao *T. cruzi*, análises em camundongos revelaram a variabilidade das cepas, o tropismo e o tamanho do inóculo como aspectos considerados de alta relevância. Quanto ao hospedeiro, é importante ressaltar a faixa etária, o sexo e especialmente as características imunológicas e genéticas (Laranja et al 1956, Dias & Kloetzel 1968, Andrade 2000, Vitelli-Avelar 2006, Rassi et al 2010).

O diagnóstico da infecção pelo *T. cruzi* deve ser apoiado pela epidemiologia e pela clínica e, confirmado, quanto à etiologia, pelo diagnóstico laboratorial. A presença dos sinais de porta de entrada (sinal de Romaña e/ou chagoma de inoculação) acompanhados de febre irregular, adenopatia-satélite ou generalizada, hepatoesplenomegalia, taquicardia, edema generalizado ou dos pés, fazem suspeitar da fase aguda da doença. As alterações cardíacas com sinais de insuficiência cardíaca confirmada pelo eletrocardiograma e alterações no esôfago e cólon (reveladas por radiografia) levam à suspeita da fase crônica (Brenner et al 2000, Lana & Tafuri 2000). Elementos importantes para a suspeita da etiologia chagásica são: a) região de procedência do paciente, b) estadia em casas onde havia triatomíneos e c) transfusões sanguíneas, mesmo fora das áreas endêmicas (Ministério da Saúde 2005).

Não há drogas ideais para o tratamento etiológico da DCh. Aquelas hoje disponíveis, Benzonidazol e Nifurtimox, permitem a cura parasitológica na fase aguda (inclusive congênita), em casos de infecção recente e de baixa idade e são menos eficazes em casos crônicos antigos, a maioria dos infectados hoje no Brasil. O tratamento é de longa duração (30-60 dias) e apresenta, com o seu uso contínuo, toxicidade dose-dependente, podendo ocasionar a não adesão dos pacientes. Diferentes estudos têm sido realizados com outras

drogas, como o alopurinol, cetoconazol, itraconazol, fluconazol e o posaconazol, com resultados insatisfatórios (Campos et al 1992, Coura & Castro 2002, Coura 2009, Apt et al 2013, Diniz et al 2013, Perez-Mazliah et al 2013).

1.2 Epidemiologia, profilaxia e vigilância da doença de Chagas

Ainda hoje, a DCh se caracteriza como uma endemia de importante distribuição no continente Latino-Americano, onde cerca de 8 milhões de indivíduos encontram-se infectados, sendo aproximadamente 2 a 3 milhões apenas no Brasil (Coura & Viñas, 2010, Rassi-Jr et al 2010).

Tratava-se em princípio de uma endemia rural, de populações pobres e de pouca cultura, que vivem em casebres de má qualidade, nos quais se domicíliam, com relativa facilidade, algumas das espécies do inseto vetor. No Brasil, sua maior dispersão e incidência parecem ter ocorrido na primeira metade do século XX, para isto concorrendo basicamente a transmissão vetorial. A partir da década de 40, pelas mudanças nos sistemas de produção, nota-se progressiva urbanização da endemia, como fruto das crescentes migrações das populações rurais para as cidades e também do crescimento do número de casos produzidos pela via transfusional, inclusive para países não-endêmicos (Dias 2000b, WHO 2002). Por exemplo, desses 2 a 3 milhões de infectados existentes no Brasil, pelo menos 60% vivem em espaço urbano, proporção que pode ser similar na Argentina, no Uruguai e na Venezuela. Disto resulta a maior demanda de atenção médica nos centros maiores, o que acarreta maior interesse de clínicos e cirurgiões pela doença. Neste contexto, o custo médico e social da DCh é muito alto (Dias & Coura 1997, WHO 2002), podendo-se estimar que cause a perda de cerca de 750 mil anos de vida por ano nos sete países americanos do Cone Sul, correspondendo a US\$ 1.201.800,00 milhão/ano. Similarmente, o absenteísmo mínimo estimado de 75 mil trabalhadores/ano apenas no Brasil poderia representar uma perda de mais de US\$ 5.625.000,00 milhão/ano (Carlier et al 2002).

Pode-se dizer que a DCh se encontra em diferentes estágios de progressão, segundo o país ou a região. Em países como a Argentina, Brasil, Chile, Uruguai e Venezuela, há uma forte tendência à queda da incidência, em decorrência das ações dos Programas de Controle (principalmente direcionados ao vetor) e também de esvaziamento populacional e/ou melhoria de condições de vida de populações rurais. Em outros países como a Bolívia, Paraguai e parte do Peru, há elevadas prevalência e incidência da endemia. Na Colômbia, Equador, América Central e México os índices de prevalência são relativamente altos em algumas regiões (Carlier et al 2002, Pan-American Health Organization, 2013) (Figura 2).

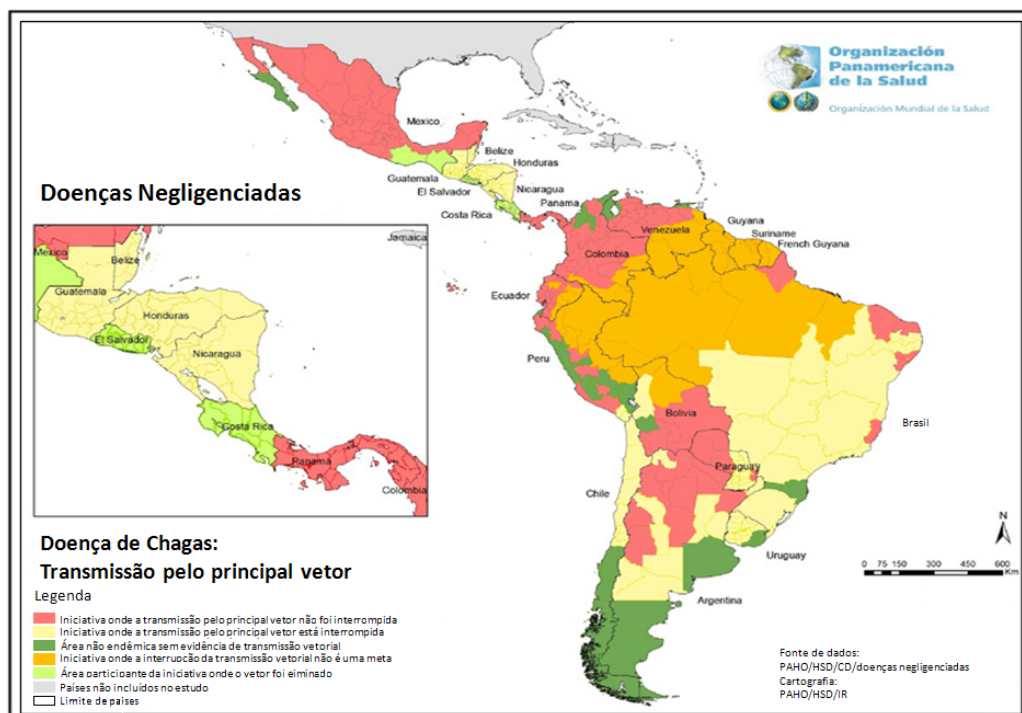


Figura 2 – Distribuição geográfica da enfermidade de Chagas nas Américas de acordo com a situação de transmissão pelo principal vetor de cada área em 2011. Fonte: Pan-American Health Organization, 2013.

Neste contexto, segundo Carlier et al (2002), as características epidemiológicas básicas presentes em cada país permite classificá-los em quatro grupos distintos:

- Grupo I – Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Equador, Honduras, Paraguai, Peru, Uruguai e Venezuela caracterizam-se por apresentarem ciclos domésticos com zonas de alta prevalência da doença humana. Há predomínio de cardiopatia crônica chagásica e ocorrência de formas digestivas. São observados ciclos silvestres importantes em diversos ambientes naturais, sendo o ciclo relacionado ao *T. infestans* restrito a algumas regiões da Bolívia. Com exceção do Brasil, Chile e Uruguai, os Programas de Controle Vetorial têm como objetivo a eliminação de *T. infestans* e *R. prolixus* (espécies basicamente domiciliares).
- Grupo II – Colômbia, Costa Rica e México caracterizam-se por apresentarem ciclos domésticos, indivíduos com cardiopatia chagásica e doadores de sangue infectados. Os Programas de Controle nestas regiões são ausentes ou incipientes.
- Grupo III – El Salvador, Guatemala, Nicarágua e Panamá caracterizam-se por apresentarem ciclos domésticos e silvestres, Programas de Controle em seu início de desenvolvimento. Há poucas informações clínicas sobre os pacientes infectados.
- Grupo IV – Antilhas, Bahamas, Belize, Cuba, Estados Unidos, Guianas, Haiti, Jamaica e Suriname apresentam ciclo silvestre, com casos humanos autóctones e poucas informações clínicas dos pacientes. Principalmente nos Estados Unidos, há grande número de imigrantes sul-americanos infectados, o que aumenta a chance de transmissão transfusional. Nestes Países não há programas de controle ou os mesmos ainda são muito incipientes.

Com o intuito de acelerar o controle e desenvolver medidas de prevenção para a DCh, foram instituídas 4 iniciativas sub-regionais em diferentes países da América Central e do Sul: a) Iniciativa dos Países

Amazônicos para a vigilância e controle da enfermidade de Chagas (AMCHA); b) Iniciativa dos Países Andinos de controle da transmissão vetorial e transfusional da enfermidade de Chagas (IPA); c) Iniciativa dos Países da América Central para o controle da transmissão vetorial, transfusional e atenção médica à enfermidade de Chagas (IPCA) e d) Iniciativa dos Países do Cone Sul (INCOSUL) (Tabela 1). Estas iniciativas contribuíram de forma importante para reduzir a carga da DCh nas Américas Central e Sul.

TABELA 1 – INICIATIVAS PARA O CONTROLE E PROFILAXIA DA DOENÇA DE CHAGAS.

Iniciativa/ ano de criação	Países participantes	Objetivos
INCOSUL/1991	Chile	- Eliminação do <i>T. infestans</i> do domicílio e do peridomicílio em áreas endêmicas;
	Argentina	- Redução e eliminação de infestações domésticas de outras espécies de triatomíneos que ocorrem nas mesmas zonas ocupadas por <i>T. infestans</i> ;
	Brasil	- Redução e eliminação da transmissão transfusional, por meio do fortalecimento da Rede de Bancos de sangue e seleção efetiva de doadores de sangue.
	Uruguai	
	Paraguai	
	Peru	
	Bolívia	
IPCA/1997	Honduras	- Eliminação de <i>R. prolixus</i> ;
	Nicarágua	- Diminuição da infestação intradomiciliar por <i>T. dimidiata</i> ;
	Panamá	- Eliminação da transmissão transfusional;
	Costa Rica	- Atenção Médica à pacientes com DCh (incorporado no ano de 2005)
	El Salvador	
	Guatemala	
IPA/1997	Colômbia	- Eliminação de <i>T. infestans</i> e outros vetores da DCh no domicílio e no peridomicílio;
	Equador	- Interrupção da transmissão transfusional.
	Peru	
	Venezuela	
AMCHA/2005	Brasil (Região Amazônica)	- Implementação de um sistema de vigilância epidemiológica regular e com o máximo de aproveitamento dos recursos, serviços e programas de saúde existentes;
	Colômbia	- Desenvolvimento de métodos e técnicas de controle ajustados aos mecanismos de transmissão já conhecidos (transmissão vetorial no domicílio e peridomicílio e transmissão via oral);
	Equador	- Produção de novos conhecimentos sobre epidemiologia da DCh.
	Guianas	
	Peru	
	Suriname	
	Venezuela	

Devido ao trabalho de profilaxia realizado ao longo dos anos, o Brasil foi declarado pela OPAS, em 2006, formalmente livre de transmissão da doença de Chagas pelo *T. infestans* e pela via transfusional. Em decorrência do virtual desaparecimento deste vetor e das mudanças sócio-ambientais dos últimos anos, houve necessidade de uma revisão das estratégias e metodologia da vigilância epidemiológica (VE) no País. Atualmente, o risco de transmissão depende, entre outros fatores, da persistência de focos residuais (raros) de *T. infestans* e da ocorrência de triatomíneos silvestres ocupando o ambiente domiciliar (Ministério da Saúde 2005, Dias 2006, Ferreira & Silva 2006).

Ao longo do processo de controle de *T. infestans*, diferentes espécies silvestres de triatomíneos assumiram importância na transmissão doméstica do *T. cruzi* ao homem. Atualmente, um quadro epidemiológico mais diversificado se apresenta no Brasil, ao contrário da predominância demonstrada por *T. infestans* no século passado. Desta maneira, diferentes espécies de triatomíneos podem ser encontradas ocupando o ambiente doméstico, como *Triatoma rubrovaria*, espécie autóctone do Rio Grande do Sul, onde tem sido encontrado tanto no ambiente peridomiciliar (em muros de pedras), como intradomiciliar (Almeida et al 2000, Martins et al 2006). No Espírito Santo, embora não ocorra frequente domiciliação de barbeiros, *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859), têm sido demonstrados consideráveis índices de infecção natural por *T. cruzi* tornando-se um risco potencial para a transmissão da doença de Chagas no Estado (Santos et al 2005).

O barbeiro *Triatoma sordida* (Stal, 1859), presente em 13 Estados brasileiros (Bahia, Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Maranhão, Minas Gerais, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo), está associado, principalmente, ao bioma Cerrado. Comumente são encontradas colônias peridomiciliares da espécie em galinheiros. Embora apresente baixos índices de infecção, o estabelecimento de grandes populações no ambiente artificial tem alertado sobre sua importância epidemiológica no risco de transmissão do parasito ao homem (Pires et al 1999). A espécie *Triatoma brasiliensis* (Neiva, 1911) apresenta seu hábitat natural nas zonas semiáridas e de clima quente, sob o domínio da

Caatinga (Forattini 1980). Encontra-se distribuída em 10 Estados brasileiros (Alagoas, Minas Gerais, Bahia, Ceará, Goiás, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe) (Carcavallo et al 1999). Esta espécie pode habitar diferentes ecótopos domésticos e peridomésticos, sendo também encontrada largamente em ecótopos naturais (frestas entre pedras). Atualmente é considerada a principal espécie do nordeste brasileiro (Diotaiuti 2008).

A espécie *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835), embora apresente uma ampla distribuição no território brasileiro (encontrada em 20 Estados do País), demonstra maior importância epidemiológica nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Bahia, Alagoas e Pernambuco, onde é considerada a principal espécie autóctone transmissora do *T. cruzi* (Diotaiuti 2008). No ambiente natural, este triatomíneo se encontra associado a diferentes animais silvestres, tais como roedores e, principalmente, gambás (*Didelphis* sp.) colaborando assim com a manutenção do ciclo natural do *T. cruzi* (Carcavallo et al 1999).

Atualmente encontram-se no Brasil dois cenários epidemiológicos para a doença de Chagas: a) a região originalmente de risco para a transmissão vetorial, onde ações de vigilância epidemiológica, entomológica e ambiental devem ser concentradas, com vistas à manutenção e sustentabilidade da interrupção da transmissão da doença pelo *T. infestans* e por outros vetores passíveis de domiciliação e b) a região da Amazônia Legal, onde a DCh não era reconhecida como problema de saúde pública. As ações de vigilância devem ser estruturadas e executadas de forma extensiva e regular na região por meio de: detecção de casos febris, apoiada na vigilância da malária; identificação e mapeamento de marcadores ambientais, a partir do reconhecimento dos ecótopos preferenciais das diferentes espécies de vetores prevalentes e na investigação de situações em que há evidências ou suspeita de invasão domiciliar ou mesmo domiciliação de alguns vetores presentes no entorno silvestre (Ministério da Saúde 2005).

O Brasil não dispõe de um Programa de Controle da DCh de âmbito nacional com os graus de cobertura e a continuidade das ações que o caracterizaram entre 1975 e 2000. Com o advento da descentralização das ações de saúde, após o sucesso do controle vetorial alcançado a partir de 2000, sua gerência nacional foi reduzida à um grupo técnico no MS com as atribuições de monitorar a etapa da vigilância epidemiológica, na qual o País se encontra, restando como um dos principais desafios à manutenção e aprimoramento desta vigilância. Com a transferência das responsabilidades do controle das endemias para os Estados e municípios, algumas entidades municipais passaram a enfrentar dificuldades na execução das atividades de controle da DCh. Apesar dos desafios, principalmente pela diversidade geográfica, política e cultural do País, juntamente com recursos cada vez mais escassos para continuidade e aprimoramento da vigilância epidemiológica, o Ministério da Saúde tem mantido esforços para estimular Estados e municípios à manutenção do controle, tarefa difícil e que tem apresentado graus insatisfatórios de resposta (Dias 1982, Villela 2007, 2008).

O presente estudo se justifica pelo fato de Bambuí apresentar importante contexto histórico no controle e vigilância epidemiológica da DCh. Assim, o presente trabalho busca avaliar a situação atual da infecção chagásica e seus determinantes num município típico da primitiva área endêmica brasileira.

Neste contexto, quatro questionamentos norteiam este trabalho:

- a) Ainda há transmissão ativa no município de Bambuí?
- b) Mesmo com um sistema de transfusão de sangue adequado, há possibilidade de transmissão às novas gerações?
- c) Considerando os índices significativos de morbi-mortalidade, incidência e prevalência da DCh no município desde a década de 40, qual o peso clínico-social da DCh humana atualmente e até que ponto se justifica a manutenção da vigilância da DCh em Bambuí a curto-médio prazo?

d) Quais grupos do parasito são encontrados nos pacientes ainda infectados e qual a influência do ciclo silvestre nestas infecções?

Considerando esses pressupostos, procurou-se averiguar em Bambuí evidências e possibilidades de transmissão do *T. cruzi* e descrever a situação clínica-epidemiológica na população ainda infectada.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Caracterizar a atual situação epidemiológica da doença de Chagas no município de Bambuí, identificando principais grupos afetados, formas clínicas predominantes e grupos do parasito circulantes nos pacientes.

2.2 Objetivos Específicos

- Descrever o panorama geral da infecção chagásica no município de Bambuí;
- Avaliar clínica e laboratorialmente os indivíduos estudados no inquérito sorológico atual;
- Caracterizar os grupos de *T. cruzi* nos pacientes crônicos identificados no inquérito sorológico atual;
- Caracterizar os principais indicadores de morbi-mortalidade associados à infecção chagásica no município.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Doença de Chagas – breve histórico

Designados por Oswaldo Cruz para combater uma epidemia de malária que paralisava a construção da Estrada de Ferro Central do Brasil (EFCB), Carlos Chagas e Belisário Penna seguem à Lassance, região norte de Minas Gerais, em meados de 1907. Ao pernoitarem num rancho naquela região, Belisário Penna mostra à Carlos Chagas diversos insetos sugadores de sangue que coletara na ocasião, conforme havia lhes relatado Cantarino Mota, chefe dos engenheiros da EFCB. Eram insetos muito comuns na região, popularmente conhecidos como “barbeiros”. Conhecedor da importância dos insetos hematófagos como elo de transmissão de doenças ao homem, Carlos Chagas examinou os barbeiros coletados e encontrou em seu intestino um protozoário em forma de tripanossoma, o qual imaginou ser o *Trypanosoma minasense*, protozoário já observado em macacos da região.

Por não dispor de condições laboratoriais adequadas para avançar em suas investigações, Chagas enviou barbeiros (identificados como *Conorhinus megistus*) à Oswaldo Cruz no Rio de Janeiro para dar prosseguimento às investigações. Após o contato destes barbeiros com macacos (*Callithrix penicillata*) em laboratório, Oswaldo Cruz observou o adoecimento dos primatas e a presença de um tripanossoma no sangue, comunicando Carlos Chagas sobre os resultados das suas experiências.

De volta ao Rio de Janeiro, Chagas concluiu que o parasito em questão não era o *T. minasense*, mas uma nova espécie de tripanossoma, a qual foi nomeada de *T. cruzi*, em homenagem ao seu Mestre, Oswaldo Cruz (Chagas 1909). Após estudar o ciclo evolutivo do *T. cruzi*, Chagas retorna à Lassance com o intuito de verificar se este era um parasito patogênico para o homem. Após diversos estudos com animais domésticos, acha o mesmo tripanossoma num gato e evidencia-o como reservatório doméstico. Em 14 de Abril de 1909, encontra finalmente, o *T. cruzi* no sangue de uma criança febril, de dois anos de idade, de nome Berenice. Este foi considerado o primeiro caso humano

descrito da “Tripanossomíase Americana”, mais tarde popularmente batizada por “doença de Chagas”, em homenagem ao seu descobridor.

Com a colaboração de outros pesquisadores, Chagas dedicou-se à estudar a nova entidade mórbida em seus diversos aspectos: características biológicas do vetor e do parasito, seus reservatórios, as manifestações clínicas e a evolução da doença, bem como os métodos de diagnóstico, possíveis terapêuticas e profilaxia, além de discorrer sobre os aspectos sociais da enfermidade. Descreveu mais de 28 casos agudos da doença e outros inúmeros casos crônicos (Chagas 1909, Chagas 1911a e b, Chagas & Villela 1922, Brener & Andrade 1979, Dias 2000b, Kropf et al 2000).

Atualmente, sabe-se que as evidências mais remotas da infecção humana parecem relacionar-se à domiciliação de triatomíneos nas moradias de alguns povos andinos, que mantiam em suas dependências para alimento um roedor regional (“cuey”), que podem apresentar infecção natural por *T. cruzi*. A infecção pelo parasito foi comprovada na população Chinchorro da Costa do Pacífico há 9.000 anos (Aufderheide et al 2004) e aqui no Brasil em grupos pré-históricos de Minas Gerais, há 7.000 anos (Lima et al 2008).

No Brasil, desde o período colonial, já ocorria uma doença de caráter endêmico que acometia populações rurais de determinadas áreas geográficas, (principalmente no Nordeste), caracterizada pela dificuldade de deglutir os alimentos e por isso, popularmente denominada de “mal de engasgo”. Estudos posteriores vieram a confirmar que se tratava de uma manifestação crônica da DCh (Chagas 1916, Neiva e Pena 1916, Rezende 1956, Köerbele 1961).

3.2 O município de Bambuí

Reputa-se ao Padre Toledo e ao mestre de campo Inácio Correia Pamplona, a organização da expedição oficial que culminou com a conquista da região de Bambuí, sendo este último considerado por alguns historiadores, o fundador de Bambuí. Acredita-se que o nome da cidade, Bambuí, foi dada pelos negros que viviam na região e pertenciam à federação do Quilombo do Campo Grande. Essa hipótese é reforçada pela existência de uma cidade de nome Bambuí em Camarões, na África. Outra interpretação do nome da cidade diz que *bambuy* é uma palavra indígena que quer dizer “Rio das águas sujas” (Costa e Pinto, 2008).

A povoação de Bambuí cresceu após a guerra com os quilombos e com os caiapós, desenvolvendo-se lentamente nas décadas seguintes. Em 1768 foi criada a “freguesia de Bambuí”, tendo como padroeira Sant’ana, mãe de Maria Santíssima. O estabelecimento oficial da freguesia só se efetivou, no entanto, em 23 de janeiro de 1816 com a concessão do Alvará. Em 10 de julho de 1886 a Lei nº 307 conferiu à “Vila de Bambuí” o foro de cidade. Em 1911, a chegada da estrada de ferro na cidade impulsionou seu desenvolvimento (Costa e Pinto, 2008).

3.3 Bambuí no contexto da doença de Chagas

A descrição do primeiro caso agudo de doença de Chagas em Bambuí é atribuída ao Dr. Antônio Torres Sobrinho, em setembro de 1940, cuja elucidação do quadro clínico foi evidenciado com o exame de gota espessa positiva (Figura 3).

DOENÇA DE CHAGAS

Data *24-1-45* *Srma do Antonio Allio* Foto *27-9-44*

Nome *Maria Albina da Silva*

Cor *br* Idade *16* Residência *Lagoa dos Monjolos*

Período inicial *Setembro de 1940 (ao 11 anos)*

Lesão inicial *Olho inchado à esquerda*

Observações *Gota espessa positiva em 9-10-40*

11-7-46: Peso 45 kg. 1,53 - Radiografia 17/1/46 HEC 8-7-46

extenuist. c. morte 20-5-50

Radiografia em 7-47 XENO + Out. 1940 (14-1-41) +

Xenos *negativos (3-3-43; 1-8-43; 5-6-44; 22-1-45) 17-1-51*

17-1-51: Neg. (4. pos. 27-4-49); X. 461 (30-6-51) neg. 5. inf. 3. pos. 26-9-8

Fixação compl. *Positiva 1-8-43; a. pos. ali. 1/800 (13-10-51)*

Soro *sem 22-7-49 (2479) s. (X. 222 - 2898 (23-2-52)*

ECG *Normal (1-4-45); 2-6-5-46; 11-1-47; 27-4-49; 10-9-40;*

20-5-50 - 12-1-51 4/10/45 + 12/1/47 + 11/1/47 + 7/2/50

R. W. Neg. R. K. Neg., Chapa 272, 10-11-52

Caso publ. M. G. 1942. E. Dias - C. E. P. M. C. Bambuí - 1945

Tratado em Out. Nov. 1940 c/ 36 cc sol. 3% Bayer 7602 em 14 dias (Torres Solis)

Figura 3 – Ficha do primeiro caso agudo de doença de Chagas no município de Bambuí, casuística do Posto Avançado de Estudos Emmanuel Dias – PAEED. Fonte: Arquivos históricos do PAEED, Museu Emmanuel Dias, Bambuí, Minas Gerais, Brasil.

Na sequência, os estudos de Martins e colaboradores (1940), permitiram a detecção de mais 24 casos agudos na região. O sinal de Romaña foi considerado característica patognomônica da infecção nos casos estudados e contribuiu para a detecção da maioria dos pacientes, ocorrendo em 15 destes.

Devido o elevado número de casos agudos da doença de Chagas no município, as más condições de moradia e grande infestação domiciliar por barbeiros, em novembro de 1943 foi instalado o Posto do Instituto Oswaldo Cruz em Bambuí, inicialmente sediado em uma casa alugada, posteriormente em sua sede própria, construída em 1950 e situada à Rua Ezequiel Dias, número 11, no centro de Bambuí, intitulado “Centro de Estudos e Profilaxia da Moléstia de Chagas” (CEPMCh). Vinculado inicialmente à Divisão de Estudos de Endemias do IOC, o CEPCh foi organizado e dirigido pelo Dr. Emmanuel Dias até a sua morte em 1962 (Dias 1945).

Desde a sua fundação, uma série de diferentes estudos foram desenvolvidos pelo Dr. Emmanuel Dias e sua equipe, permitindo que o município ficasse conhecido internacionalmente pela sua prevalência de casos da nova tripanossomíase. Após o censo inicial da cidade e os primeiros ensaios de profilaxia ofensiva em 1943-44, o CEPMCh possibilitou o desenvolvimento de trabalhos importantes nas áreas de clínica, diagnóstico, terapêutica e epidemiologia (Dias 1956).

Os estudos clínicos sistematizados da fase aguda da infecção humana, permitiram o registro de mais de 300 casos, sendo fundamental a sua contribuição na sistematização da forma crônica cardíaca. Estes estudos possibilitaram uma série de correlações clínico-anatomopatológicas e a reprodução experimental da doença em laboratório. Coube ainda ao CEPMCh estudar e chamar atenção sobre a forma crônica indeterminada, conforme observado por Laranja e colaboradores em 1956 e Dias (1982a).

Os estudos epidemiológicos demonstraram a extensão e a gravidade da endemia, caracterizando-a como um problema de saúde pública a exigir providências imediatas das autoridades sanitárias, não somente no Brasil, como em toda a América Latina. O CEPMCh desenvolveu os primeiros estudos sobre profilaxia vetorial, em 1943, e estabeleceu as bases não apenas na luta ativa contra os barbeiros no domicílio, como estudou profundamente a questão da melhoria habitacional. Foi pioneiro no estudo do “Gammexane P.530” em 1947-48 e promoveu as primeiras campanhas profiláticas em larga escala contra os triatomíneos que se tem notícia.

Em Bambuí, as ações de destriatomização já se mostravam relativamente eficazes em 1944, quando os trabalhos do CEPMCh contribuíram para desaparecer os casos agudos ao nível urbano e suburbano através da captura intensiva de triatomíneos, aliada ao emprego intensivo de piretrinas e querosene, e ainda à melhoria das habitações através do reboco. Ao longo dos anos, importa notar que Bambuí recebeu um expurgo geral com BHC em 1956-58, outro parcial, e um último geral em 1969-70, entrando em 1974 em vigilância epidemiológica anti-triatomínica, com participação da comunidade e

da Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (Sucam), mantendo-se desde então com níveis muito baixos de infestação domiciliar (Dias 1945a e 1945b, Dias & Pellegrino 1948, Dias 1957, Dias 1982a).

Paralelamente à luta anti-vetorial, foram desenvolvidos trabalhos pioneiros como os a) inquéritos soro-eletrocardiográficos de campo em populações não-selecionadas; b) estudo sistematizado das condições de habitação; c) quantificação da densidade vetorial nas habitações por meio de dissecação; d) rotina acerca da ocorrência dos principais triatomíneos da região, resultando inclusive na descoberta de uma nova espécie de *Rhodnius* em palmeiras, posteriormente denominado *R. neglectus*; e) avaliação contínua sobre a presença das principais espécies de barbeiros nos domicílios, sua distribuição anual, taxas de infecção natural pelo *T. cruzi*, seu potencial de transmissão ao homem; f) estudo sistemático de reservatórios domésticos e silvestres de *T. cruzi*; g) avaliações acerca da dinâmica de transmissão, da morbi-mortalidade na população infectada e do peso social da DCh; h) estudos sobre a transmissão transfusional; i) avaliação da transmissão congênita e j) estudos sobre participação comunitária no controle da DCh, determinantes sociais da DCh, inclusive aspectos previdenciários e trabalhistas (Dias 1982b, Vinhaes & Dias 2000).

Na época de instalação do CEPCh, foi observada uma rápida mudança na composição de espécies de triatomíneos domiciliados, quando comparado ao período dos primeiros casos da doença de Chagas no município conforme estudos de Martins e colaboradores em 1940. Em 1943, a espécie *T. infestans* já ocorria na maioria das casas infestadas, reduzindo consideravelmente a presença de *P. megistus* (encontrado em menos de 20% das moradias). Não somente em Bambuí, na segunda metade da década de 40, *T. infestans* predominava em grande parte dos municípios mineiros. Um levantamento triatomínico em 155 municípios de Minas Gerais entre 1946 e 1948 (abrangendo 40% dos municípios da época), demonstrou que 70% das capturas domiciliares foram representadas por *T. infestans*. Considerando a rota de expansão a partir de São Paulo, observa-se Bambuí situada no limite norte da dispersão da espécie no sudoeste mineiro (Pellegrino 1948, 1950).

Entre 1944 e 1947, o CEPMCh realizou diversas pesquisas no intuito de controlar a infestação doméstica dos triatomíneos. Entre os métodos aplicados, pode-se destacar o uso de lança-chamas (contando com o auxílio de um “carro de bombeiro”, para possíveis imprevistos), gás cianídrico, borrifações de querosene e pó Fly-tox. Com o decorrer dos expurgos de BHC, além da redução imediata de *T. infestans*, observou-se nitidamente a diminuição das taxas de infecção natural dos triatomíneos, de aproximadamente 40% para 4% (Dias 1982a).

Somadas a estas atividades, foram realizadas melhorias nas cafuas (rebocamento das paredes com cal, barro e areia) e promovidas mudanças dos hábitos próprios da zona rural, como juntar quinquilharias e criar animais (cães, gatos e galinhas) dentro ou embaixo das casas. Estas atividades contribuíram para a redução do barbeiro no ambiente doméstico, levando ao desaparecimento dos casos agudos da doença de Chagas nas áreas urbana e suburbana de Bambuí em 1944 (Dias 1945, Dias 1982a).

Após incansáveis pesquisas, Dias & Pellegrino (1948) demonstraram o uso do inseticida Gammexane P.530 (BHC) na eliminação e contenção das infestações e reinfestações domésticas de triatomíneos, por um período aproximado de 2 meses (tempo de ação residual do produto). O método e a técnica preconizada por Dias & Pellegrino foram utilizados experimentalmente em áreas limitadas, tanto no Brasil como na Argentina e no Chile, evidenciando sua exequibilidade e eficácia. A maior experiência foi adquirida em 1950, na região de Uberaba, no Triângulo Mineiro, e em 1958, estudos posteriores como os de Pedreira de Freitas e Rocha da Silva culminaram com a priorização da Campanha em São Paulo nos fins da década de 60, observando-se o mesmo para o Brasil, a partir de 1982.

As diversas e bem sucedidas atividades de pesquisa realizadas pelo CEPMCh, serviram de base na elaboração do Programa Nacional de Controle da Doença de Chagas - PNCDCh (Moreno & Baracho 2000), o qual obteve alcance nacional a partir da década de 70, quando coordenado pela Sucam. Considerado o berço do controle vetorial da doença de Chagas, Bambuí foi o

primeiro município brasileiro a implantar a vigilância epidemiológica, iniciada em 1974.

Segundo Dias (1965), o município de Bambuí ficou praticamente livre de triatomíneos (principalmente por *T. infestans*) entre 1957 e 1961, resultante do expurgo geral realizado por iniciativa do Dr. Emmanuel Dias entre 1956 e 1958. A partir do início da década de 60, foi observada a diminuição das populações de *T. infestans*, tornando-se esporádicas ao longo do tempo, até sua última notificação entre 1977-78. Com o controle desta espécie, as populações de *P. megistus* voltaram a colonizar o ambiente domiciliar. Observava-se que na maioria das casas com *T. infestans*, não era comum a presença de *P. megistus*, sendo raro o encontro das duas espécies na mesma residência (<4%). Dias & Dias (1968) consideraram esta característica como uma possível competição biológica entre as espécies, entretanto não observaram esta característica em colônias mantidas em laboratório.

Entre os anos de 1944 e 1950, foram computados pelo CEPMCh 112.844 exemplares de *T. infestans* e 7.961 de *P. megistus* (Dias, 1955). Outras inspeções realizadas na região, entre abril e junho de 1963, detectaram 59 focos de triatomíneos, e a espécie responsável pelo maior número de notificações foi *P. megistus* (68% dos focos), seguida de *T. infestans* (28% dos focos). O trabalho de Dias (1965) assinalou os possíveis fatores que colaboraram para a re-população dos triatomíneos no ambiente doméstico, e, dentre esses, os focos silvestres e a reinfestação dada por municípios vizinhos foram, provavelmente, os que mais contribuíram. A partir da década de 80 o CEPMCh passa a se chamar “Posto Avançado de Estudos Emmanuel Dias” (PAEED).

Posteriormente, Pereira e colaboradores (1995) demonstraram que *T. infestans* apresentava uma maior eficiência na obtenção de alimento, o que lhe conferia vantagem competitiva sobre *P. megistus*.

A presença de *P. megistus* no ambiente natural de Bambuí pode ser caracterizada pelas freqüentes visitas dos insetos adultos nas residências,

durante os meses mais quentes do ano, e pela grande dispersão do barbeiro no município (Villela et al 2005). Ainda em 1960, foi observado um aumento de *P. megistus* no ambiente domiciliar. Inicialmente as capturas foram compostas por adultos, ocorrendo um aumento gradual do encontro de ninfas até 1964, onde os dois estágios estavam equivalentes (Dias & Dias 1968).

Neste contexto, o presente estudo pode contribuir para complementar o entendimento dos câmbios epidemiológicos ocorridos em várias décadas de acompanhamento e para o aperfeiçoamento de estratégias de vigilância epidemiológica sobre a enfermidade de Chagas.

4 METODOLOGIA

4.1 Área de estudo

O presente estudo foi realizado no município de Bambuí, localizado na região oeste do Estado de Minas Gerais (Brasil), próximo à Serra da Canastra, a uma latitude de 20°00'21" Sul, longitude de 45°58'37" Oeste e altitude de 706 m (Figura 4). O município tem uma área total de 1.455,82 km², 22.734 habitantes, dista 270 km da capital Mineira e se encontra inserido no contexto do bioma Cerrado. Atualmente está dividido em 203 localidades, a maioria rurais, baseando sua economia na produção de leite e no plantio do café, arroz, milho e soja (Figura 5). Mais recentemente a agricultura tem sido movimentada pela instalação de uma grande usina de álcool e açúcar, levando muitos agricultores à monocultura da cana-de-açúcar (IBGE 2010).



Figura 4 – (A) Mapa do Brasil com destaque para o Estado de Minas Gerais. (B) Mapa do Estado de Minas Gerais mostrando a localização de Bambuí em relação à capital mineira Belo Horizonte.



Figura 5 – Paisagem característica da região estudada no município de Bambuí, localidade rural Pedrinhas, com áreas desmatadas, predomínio de pastagens, fragmentos do Cerrado no topo dos morros e anexo próximo à mata. Fonte: Arquivos fotográficos das atividades de campo no município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil - Matos CS, 2011-2012.

Da área total do município, 62% está relacionada aos estabelecimentos agropecuários, sendo 6% desta área utilizada como lavouras permanentes. Na pecuária, o município conta com cerca de 79.362 cabeças de bovinos, gerando uma produção de aproximadamente 42 mil litros de leite/ano. A área de pastagem abrange em torno de 44% do município (IBGE 2010).

4.2 Delineamento do estudo

O presente estudo foi organizado em 5 etapas. A metodologia correspondente à cada etapa será descrita a seguir.

4.2.1 ETAPA I – Submissão do projeto ao Comitê de Ética em Pesquisa do CPqRR/Fiocruz-MG.

O presente projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do CPqRR/Fiocruz-MG, com cadastrado no Comitê Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde, sob Certificado de Apresentação para Apreciação Ética número 0008.0.245.000-09 e folha de rosto número 356907 (Anexo 9.1).

Nesta etapa, ficou definido que todos os indivíduos que aceitassem participar do estudo deveriam ser esclarecidos quanto à natureza da pesquisa e solicitada a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 9.2) ou Termo de Informação (quando o participante da pesquisa for criança ou adolescente) (Anexo 9.3), cujos modelos foram aprovados pelo CEP. A assinatura do TCLE constituiu um critério de inclusão e a não assinatura deste termo, um critério de exclusão na pesquisa. Após os devidos esclarecimentos, os participantes foram convidados a responder um questionário e, posteriormente, à coleta de sangue. Ambos procedimentos foram realizados por funcionários do PAEED devidamente treinado para estas atividades e/ou pelos pesquisadores responsáveis pelo estudo.

Todas as informações pessoais coletadas foram preservadas, sendo utilizadas apenas para os objetivos do presente estudo.

Às Instituições parceiras (Policlínica Maria Adélia Cardoso, Secretaria de Saúde de Bambuí, Posto Avançado de Estudos Emmanuel Dias e Fundação Ezequiel Dias) que participaram da pesquisa também foi solicitada a assinatura do Termo de Compromisso das Instituições Parceiras (Anexo 9.4), mediante esclarecimento de todas as etapas da Pesquisa.

4.2.2 ETAPA II – Descrição do panorama geral da infecção chagásica no município de Bambuí

Esta etapa constituiu-se em um estudo transversal de base populacional, sendo avaliados indivíduos residentes no município de Bambuí/MG, entre fevereiro de 2012 e março de 2013.

- Cálculo amostral

Foi realizado um cálculo amostral, por meio do qual estimou-se o mínimo de 393 indivíduos a serem amostrados para o inquérito:

" $n_0 = 1 / E^2$ " e " $S = N \cdot n_0 / N + n_0$," onde:

n_0 = amostra inicial;

E = margem de erro (5%);

S = amostra;

N = população.

- População de estudo

Foram utilizadas duas estratégias para captação dos pacientes para o inquérito:

a) Sensibilização dos indivíduos usuários do Sistema Único de Saúde atendidos nas dependências do PAEED e;

b) Sensibilização dos moradores residentes em diferentes localidades rurais do município. Neste caso, foram pré-selecionadas as localidades no município de Bambuí que registraram notificação de triatomíneos de 2004 a 2010.

- Aplicação dos questionários

Os questionários foram elaborados para aplicação individual e contemplavam questões que abordavam basicamente os seguintes temas: a) identificação pessoal e local de residência; b) características da moradia e anexos peridomiciliares; c) presença da doença de Chagas na família.

Tais questionários foram aplicados em duas situações: aos pacientes residentes na zona rural e aos pacientes que apresentaram sorologia positiva quando atendidos pelo Sistema Único de Saúde do PAEED.

- Coleta de sangue

As coletas foram realizadas nas dependências do PAEED (Figura 6-A e B) ou nas residências de moradores das diferentes localidades rurais do município (Figura 6-C e D). Neste caso, a equipe do estudo levou todo o material necessário para realização adequada da coleta.



Figura 6 – Coleta de sangue nas dependências do PAEED (A e B) e na zona rural (C e D). Fonte: Arquivos fotográficos das atividades de campo no município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil - Matos CS, 2011-2012.

A coleta de sangue foi realizada em 24 meses, sendo realizadas viagens de 15 dias a cada 2 meses em diferentes localidades do município de estudo. Foram coletados 3 mL de sangue de cada paciente por punção venosa ou sistema a vácuo, de acordo com as recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (2010).

Cada amostra foi centrifugada a 1.500 rpm, retirando-se o soro, aliquotando-o e armazenando-o a -20°C. As amostras foram cadastradas no Programa *online* “Gerenciador de Ambiente Laboratorial” (GAL), vinculado ao *web site* da Fundação Ezequiel Dias (Funed) em Belo Horizonte/MG. Após cadastro, as alíquotas de soro eram enviadas ao Laboratório de Parasitologia da Funed para realização dos exames sorológicos convencionais (Reação de Imunofluorescência indireta, Hemaglutinação indireta e *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*).

4.2.3 ETAPA III - Avaliação clínica e laboratorial dos indivíduos estudados no inquérito sorológico

Todos os participantes da pesquisa que apresentaram como resultado, pelo menos, dois testes reagentes para infecção pelo *T. cruzi* foram notificados pessoalmente por um integrante do Projeto (funcionário do PAEED) e convidados a realizar nova coleta de sangue para confirmação do resultado, bem como para a realização de exames laboratoriais complementares de rotina (lipidograma, glicose, ácido úrico, hemograma, parasitológico de fezes e exame de urina), radiográficos (cólon, esôfago e tórax) e hemocultura.

De posse dos resultados desses exames, foi agendada a avaliação clínica com o médico do PAEED, Dr. João Carlos Pinto Dias. Com exceção dos exames de radiografia, que foram realizados em colaboração com a Policlínica Maria Adélia Cardoso, todos os demais exames foram realizados nas dependências do PAEED. Assim, no dia da consulta médica, os participantes fizeram o exame eletrocardiográfico, pesagem e aferição da pressão arterial.

- Procedimentos Laboratoriais

I - Testes sorológicos convencionais para avaliação da infecção por *Trypanosoma cruzi*

Foram realizados, para cada amostra, 3 testes sorológicos convencionais para investigação da infecção por *T. cruzi*, conforme descrição abaixo:

Hemaglutinação indireta (HAI), Hemacruzi[®] - Biomeriaux:

Este teste baseia-se na aglutinação de hemácias de aves estabilizadas e sensibilizadas com antígenos totais de *T. cruzi* (antígenos solúveis) quando estas são colocadas em contato com diluições de soros de cães infectados. A análise foi realizada de acordo com as especificações do fabricante, utilizando uma diluição 1:20 (10 µL do soro-teste + 200 µL do R2A) das amostras. Após a aplicação das amostras, a microplaca permaneceu em repouso por 1 h à temperatura ambiente. A interpretação dos resultados foi realizada da seguinte forma:

- Reação positiva: véu uniforme de hemácias recobrimdo toda a cavidade, podendo estar, às vezes, parcialmente retraído nas bordas;
- Reação fracamente positiva: véu pouco nítido, apresentando pequeno depósito de hemácias no fundo da cavidade;
- Reação negativa: botão compacto de hemácias no fundo da cavidade.

Reação de imunofluorescência indireta (IFI – Doença de Chagas[®], BioManguinhos)

Este teste consiste na reação de soros com parasitos (*T. cruzi*), fixados em lâminas de microscopia. Numa etapa seguinte, utiliza-se um conjugado fluorescente para evidenciação da reação. Previamente foi realizada a diluição dos soros-teste (1:40 e 1:80) e os controles positivos (1:40) e negativos (1:40) em PBS (*Phosphate Buffered Saline*). Para leitura e interpretação das reações, utilizou-se o microscópio de imunofluorescência e objetiva de 40x. Os títulos

1:80 foram considerados como reação positiva. A análise foi realizada segundo orientações do fabricante.

Ensaio Imunoenzimático (ELISA[®], BioManguinhos)

O teste imunoenzimático se baseia na reação de soros humanos com antígenos solúveis e purificados de *T. cruzi* obtidos à partir de cultura “*in vitro*”, que são previamente adsorvidos nas cavidades de microplacas, em presença de soro contendo anticorpos contra esse antígeno e revelados por compostos enzimáticos e seus respectivos substratos para a pesquisa do imunocomplexo. A reação final é mensurada por um espectrofotômetro que avalia a mudança de cor da solução do substrato. A amostra foi considerada reagente quando apresentava densidade ótica igual ou superior ao *cut-off* e não-reagente quando apresentava densidade ótica inferior ao *cut-off*. Em todos os testes foram incluídas amostras de soros controles positivo e negativo para a infecção pelo *T. cruzi*.

II – Hemocultura

O isolamento dos parasitos foi realizado por meio de hemocultura. No PAEED, foram coletados 30 mL de sangue de cada indivíduo em tubos heparinizados e processados de acordo com Chiari e colaboradores (1989), realizando a retirada do plasma e adição do meio *Liver Infusion Tryptose* (LIT) ao sedimento, no tempo máximo de 30 min. Posteriormente, as amostras foram transportadas para o Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas (LATEC) no CPqRR-Fiocruz/MG, onde foram armazenadas em estufa B.O.D à 28(±2)°C. A pesquisa de parasitos foi realizada com auxílio de microscópio óptico a cada 30 dias, por um período total de 120 dias. Após positividade da hemocultura, os parasitos foram mantidos em crescimento por 3 ou 4 repiques (volume 6 mL).

4.2.4 ETAPA IV - Caracterização dos grupos de *Trypanosoma cruzi* nos pacientes crônicos identificados no inquérito

- Isolamento e preparação de massa de parasitos

O isolamento dos parasitos foi realizado por meio da técnica de hemocultura. Verificada sua positividade, os parasitos foram mantidos em crescimento por 3 ou 4 repiques (volume 6 mL), conforme já explicitado anteriormente. Parte da cultura foi criopreservada (-196°C) e parte foi utilizada para preparação da massa úmida de parasitos.

Para a preparação da massa úmida, a cultura foi transferida para tubos de 15 mL (Falcon®) e centrifugada a 4.000 rpm, a 4°C (30 min). Após a centrifugação o sobrenadante foi desprezado cuidadosamente por inversão e, ao sedimento foi adicionado 10 mL de PBS estéril, homogenizada e realizada duas centrifugações (4.000 rpm – 10 min.), desprezando o sobrenadante depois de cada processo. Após este procedimento, o sedimento foi transferido para um tubo de microcentrifugação (1,5 mL) centrifugado a 4.000 rpm (5 min), descartado o sobrenadante e armazenado a -70°C até sua utilização.

- Identificação molecular das linhagens de *Trypanosoma cruzi*

Esta etapa do projeto foi realizada em colaboração com o Laboratório de Doença de Chagas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), sob a supervisão da Dra. Marta de Lana.

Além das amostras isoladas dos pacientes foram utilizados clones de referência das seis DTU(s) do *T. cruzi*, como controle positivo, os quais foram avaliados comparativamente aos isolados obtidos dos pacientes em todo o processo de caracterização molecular: TcI (P209 cl1, 92101601P cl1 e Cutia cl1), TcII (MAS cl1 e Tu18 cl2), TcIII (CM-17 e X-109/2), TcIV (CANIII cl1 e 92122102R), TcV (BUG2148 cl1 e SO3 cl5) e TcVI (P63 cl1 e Tula cl2).

A extração do DNA (ácido desoxirribonucléico) foi processada após descongelamento e homogeneização de cada massa úmida dos isolados. Para obtenção do DNA das amostras foi utilizado o kit de extração Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega®, Madison, WI, USA) seguindo as recomendações do fabricante. Durante a realização dessa etapa, um controle dos reagentes e uma amostra livre de DNA, foram processados em paralelo.

O método de caracterização empregado foi baseado na combinação da análise do polimorfismo do gene Mitocondrial Citocromo Oxidase subunidade II (COX II) (Freitas et al 2006), do espaçador intergênico do mini-exon (SL-IL) do *T. cruzi* (Burgos et al 2007) e LSU rDNA.

- Amplificação da região 3' do gene 24Sα rDNA (LSU rDNA)

Todas as amostras de DNA foram submetidas a três amplificações consecutivas através da realização da PCR (*Polymerase Chain Reaction*) do domínio divergente do gene D7 da subunidade 24Sα do rDNA (LSU rDNA), empregando a metodologia descrita por Souto e colaboradores (1996). A reação foi processada em um volume final de 15 µL contendo: 10 mM Tris-HCl pH 9,0; 50 mM KCl; 0,1 % Triton X-100 (Buffer B, Promega®, USA); 3,5 mM MgCl₂ (Promega®); 0,625 U TaqDNA Polimerase (Promega®), 0,2 mM de cada DNTP; 0,25 µM dos iniciadores D71 (3'-AAGGTGCGTCGACAGTGTGG-5') e D72 (5'-TTTTTCAGAATGGCCGAACAGT-3') e 50 µL de cada amostra. A PCR foi realizada no termociclador Biocycler MJ96G. Foi utilizado o seguinte protocolo de amplificação: uma etapa de desnaturação inicial a 94°C por 1 min., seguida de outra etapa com 30 ciclos contendo um passo de desnaturação por 30 s, um de anelamento a 60°C por 30 s e um de extensão a 72°C por 30 s. Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida a 6% corado pela prata utilizando a cuba marca MUPID/USA. Os resultados foram visualizados no transiluminador Vilbert Lourmat TFP-M/WL e fotografados com o auxílio do analisador de imagens Vilbert Lourmat SS20.

- Caracterização pela PCR do gene Mitocondrial Citocromo Oxidase subunidade II (COXII)

Para a amplificação da região gênica que compreende um fragmento da subunidade II da enzima mitocondrial Citocromo Oxidase (COXII), foi empregado o protocolo descrito por D'Ávila e colaboradores (2009). As amostras de *T. cruzi* foram submetidas a uma PCR composta de 10 mM Tris-HCl pH 8,4, 50 mM KCl, 0,1% Triton X-100, 1,5 mM MgCl₂, (Tampão 10x, InvitrogenTM, Brasil); 1U TaqDNA Polimerase Platinum (InvitrogenTM, USA); 250 µM de cada dNTP; 0,3 mM de cada um dos iniciadores TcMit10 (5'-CCATATATTGTT GCATTATT-3') e TcMit21 (5'-TTGTAATAGGAGTCATGTTT-3'); 50 µL de cada amostra e quantidade de H₂O Milli-Q estéril suficiente para 15 µL. Os ciclos de amplificação da PCR consistiram de uma desnaturação inicial a 94°C por 5 min, seguido de 40 ciclos contendo um passo de desnaturação a 94°C por 45 s, um anelamento a 45°C por 45 s e uma extensão dos iniciadores a 72°C por 1 min. Os produtos amplificados foram revelados em gel de agarose 1,5% corados pelo brometo de etídio. Os produtos da amplificação foram visualizados no transiluminador Vilbert Lourmat TFP-M/WL para confirmação da amplificação de cada amostra, e os produtos fotografados.

Posteriormente, 10 µL dos produtos amplificados foram submetidos à digestão empregando-se a enzima de restrição AluI (Invitrogen, USA, 4 a 12U/µ), durante 16 horas a 37°C. O mix do corte com a enzima ALUI foi realizado utilizando 3 µL de H₂O, 1,5 µL do tampão específico da enzima ALUI (Invitrogen, USA) contendo 100 mM Tris-HCl, pH 7,5, 100 mM MgCl₂, 10 mM Dithiothreitol (DTT), 0,5 µL da enzima de restrição ALUI (InvitrogenTM, USA, 4 a 12 U/µL), juntamente com 10 µL dos produtos amplificados do gene da Citocromo oxidase, subunidade II. Os fragmentos gerados foram visualizados em gel de poliacrilamida a 6% corado pela prata (Santos et al 1993) e fotografados.

- Espaçador intergênico dos genes mini-exon de *Trypanosoma cruzi* (SL-IR)

Para a amplificação da região intergênica dos genes de mini-exon foi utilizado o protocolo descrito por Burgos et al (2007). O DNA das amostras de *T. cruzi* foi submetido a uma PCR contendo 20 mM Tris-HCl pH 8,4, 50 mM KCl, (Tampão PCR, 10x, InvitrogenTM); 3 mM MgCl₂; 250 µM de cada dNTP; 3 µM de cada iniciador TcIII (5'-CTCCCCAGTGTGGCCTGGG-3') e UTCC (5'-CGTACCAATATAGTACAGAACTG-3'); 1U TaqDNA polimerase Platinum (InvitrogenTM, USA); 3 ng de DNA total e quantidade de H₂O Milli-Q estéril suficiente para completar 15 µL. Os ciclos de amplificação da PCR consistiram de uma etapa inicial de desnaturação a 94°C por 3 min., anelamento a 68°C por 1 min., extensão dos iniciadores e extensão a 72°C por 1 min. Nos ciclos subseqüentes o tempo de desnaturação foi reduzido a 1 min e a cada três ciclos, a temperatura de anelamento foi diminuída para 66, 64, 62 e 60°C seqüencialmente. Na última temperatura, o número de ciclos foi aumentado para 35, seguido de uma extensão final a 72°C por 10 min. A análise dos produtos amplificados foi realizada em gel de agarose 1,5% corados pelo brometo de etídio. Os mesmos foram visualizados e fotografados.

Na tabela 2 encontram-se os perfis de bandas em pares de bases e ou números de bandas, esperados para as seis DTU(s) do *T. cruzi* considerando todos os marcadores empregados nesse estudo.

TABELA 2 - CRITÉRIOS DE CLASSIFICAÇÃO DOS ISOLADOS DE *Trypanosoma cruzi* NOS DTU(S) TCI AO TCVI, SEGUNDO D'ÁVILLA E COLABORADORES (2009).

DTU(s)	24sa rDNA* (Souto et al 1996)	RFLP-COXII* (Freitas et al 2006)	SL-IR (Burgos et al 2007)
TcI	110pb	Haplótipo A (262pb + 81pb + 30pb)	~150/157pb
TcII	125pb	Haplótipo C (212pb + 81pb)	~150/157pb
TcIII	110pb	Haplótipo B (294pb + 81pb)	200pb
TcIV	~120pb	Haplótipo B (294pb + 81pb)	200pb
TcV	110pb + 125pb	Haplótipo B (294pb + 81pb)	~150/157pb
TcVI	125pb	Haplótipo B (294pb + 81pb)	~150/157pb

*Apresentação dos fragmentos em pares de bases ou número de bandas encontrados.

4.2.5 ETAPA V - Caracterização dos principais indicadores de morbimortalidade associados à infecção chagásica no município

- Coleta dos dados sobre mortalidade

Os dados referentes à mortalidade foram obtidos através do banco de dados *online* do Sistema de Informação de Mortalidade do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde - Ministério da Saúde (SIM/DATASUS/MS), disponível em <http://www.datasus.gov.br> (Ministério da Saúde 2011). Foram avaliados os dados disponíveis no período de 1980 a 2011 e as causas básicas da morte selecionadas foram “Tripanossomíase” e “doença de Chagas” codificadas pela Classificação Internacional de Doenças (CID), em suas nona (CID-BR-9) e décima revisões (CID-BR-10), respectivamente. Foram avaliados dados referentes ao município de Bambuí e calculadas as taxas de mortalidade. A análise compreendeu apenas óbitos por residência e foram analisadas as seguintes variáveis: ano do óbito, faixa etária, sexo e local do óbito. Os dados foram compilados em planilhas do software Microsoft Office – Excel, tratados estatisticamente através do programa BioEstat 5.0.

- Coleta dos dados sobre morbidade

Os dados referentes à morbidade foram obtidos através do banco de dados online do Sistema de Informação Hospitalar do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde-Ministério da Saúde (SIH/DATASUS/MS), disponível em <http://www.datasus.gov.br> (Ministério da Saúde 2012). Foram avaliados dados referentes ao município de Bambuí e analisadas as internações por doença de Chagas segundo ano, gênero e faixa etária. O período de estudo compreendeu os anos de 1984 a 2007, selecionando-se a variável “tripanossomíase” codificadas pela Classificação Internacional de Doenças (CID), em suas nona (CID-BR-9) e décima revisões (CID-BR-10), respectivamente.

5 RESULTADOS

Os resultados desse estudo serão apresentados a seguir em 4 grupos de dados que correspondem aos objetivos específicos propostos. Em síntese, será abordada a descrição do panorama geral da infecção chagásica, avaliação clínica e laboratorial dos pacientes, caracterização dos grupos de *T. cruzi* identificados nos pacientes crônicos e caracterização dos dados de morbimortalidade da infecção chagásica no município de Bambuí.

5.1 Descrição do panorama geral da infecção chagásica no município de Bambuí

A detecção da infecção por *T. cruzi* em moradores na área de estudo partiu de um inquérito sorológico em uma amostra de 1.782 pessoas residentes na microrregião de Bambuí, sendo 1.376 (77,2%) naturais deste município, 175 (9,8%) de municípios limítrofes, 165 (9,3%) de outros municípios do Estado e 66 (3,7%) de outras unidades federativas (Figura 7).

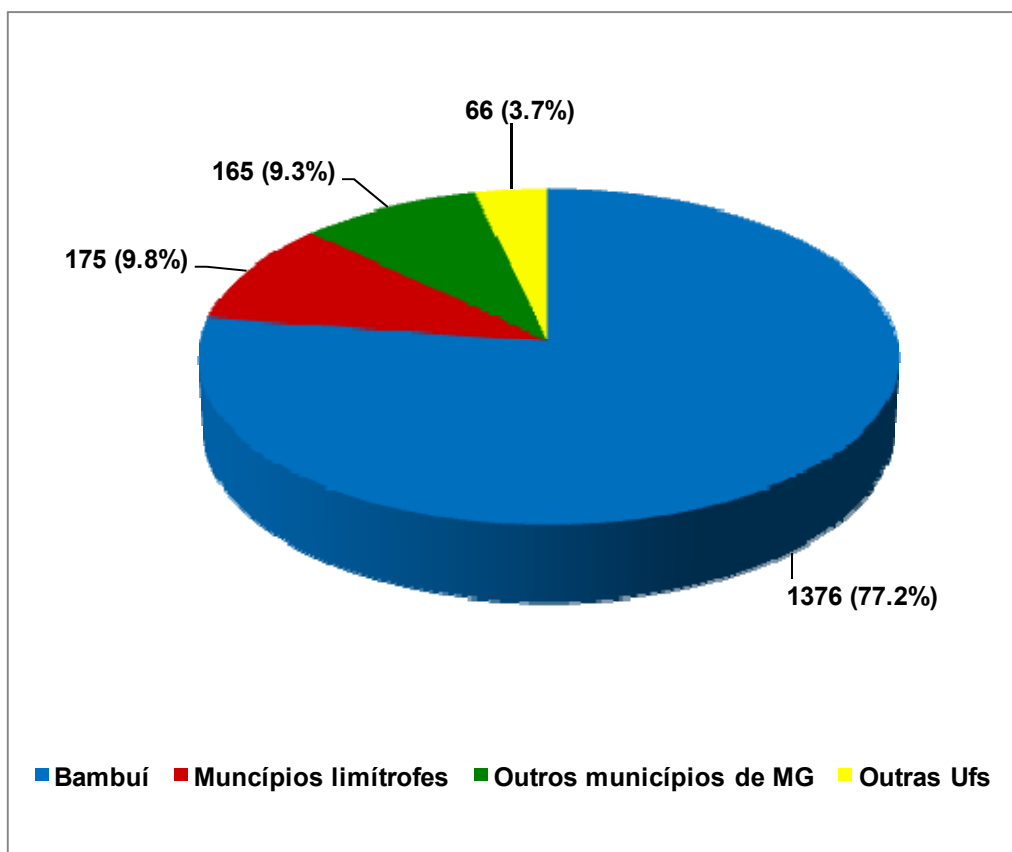


Figura 7 – Número de voluntários participantes do inquérito sorológico segundo naturalidade.

As mulheres compuseram 62,8% (1.119/1.782) da amostra e os homens 37,2% (663/1.782). Foram amostrados 49% (99/203) das localidades do município, abrangendo todas as localidades urbanas e 41,9% (75/179) das rurais. Foram analisados indivíduos entre 4 e 99 anos, sendo a mediana 49 (média=48±18,5). As 138 amostras reagentes para anticorpos anti-*T. cruzi* indicaram uma prevalência geral da infecção chagásica de 7,7%, sem diferença significativa entre os gêneros (87 ♀ e 51 ♂, $X^2 = 0,004$, $p = 0,94$) (Tabela 3).

TABELA 3 – NÚMERO DE PACIENTES COM SOROLOGIA REAGENTE SEGUNDO NATURALIDADE E FAIXA ETÁRIA.

	Naturalidade	Nº pacientes (%)	♂	♀	Número de indivíduos x Faixa etária (em anos)					
					30 a 39	40 a 49	50 a 59	60 a 69	70 a 79	80 ou >
	BambuÍ	106 (76,81%)	42	64	1	4	10	41	35	15
Municípios limítrofes	Medeiros	10 (7,25%)	1	9	-	-	-	4	6	-
	Iguatama	6 (4,35%)	2	4	-	1	2	1	1	1
	Córrego Danta	4 (2,90%)	2	2	-	-	-	1	2	1
	Tapiraí	3 (2,17%)	1	2	-	-	-	2	1	-
	Doresópolis	2 (1,45%)	1	1	-	-	-	2	-	-
	Luz	1 (0,72%)	1	-	-	-	-	-	1	-
	Piumhi	1 (0,72%)	1	-	-	-	-	1	-	-
	S. Roque de Minas	1 (0,72%)	-	1	-	-	-	1	-	-
Outros municípios de Minas Gerais	São Pedro da Ponte Firme	1 (0,72%)	-	1	-	-	-	1	-	-
	Janaúba	1 (0,72%)	-	1	-	1	-	-	-	-
	Monte Carmelo	1 (0,72%)	-	1	-	-	-	1	-	-
Outros Estados	Espírito Santo	1 (0,72%)	-	1	-	-	-	1	-	-
	TOTAL	138 (100%)	51	87	1	6	12	56	46	17

Em ambos os gêneros predominaram soros positivos acima dos 60 anos de idade, sendo detectadas duas mulheres mais jovens (32 e 40 anos) infectadas (Figura 8). Os resultados mostraram uma forte correlação positiva entre o aumento da idade e os casos de DCh tanto em homens ($r = 0.75$, $p = 0.008$), como em mulheres ($r = 0.73$, $p = 0.01$).

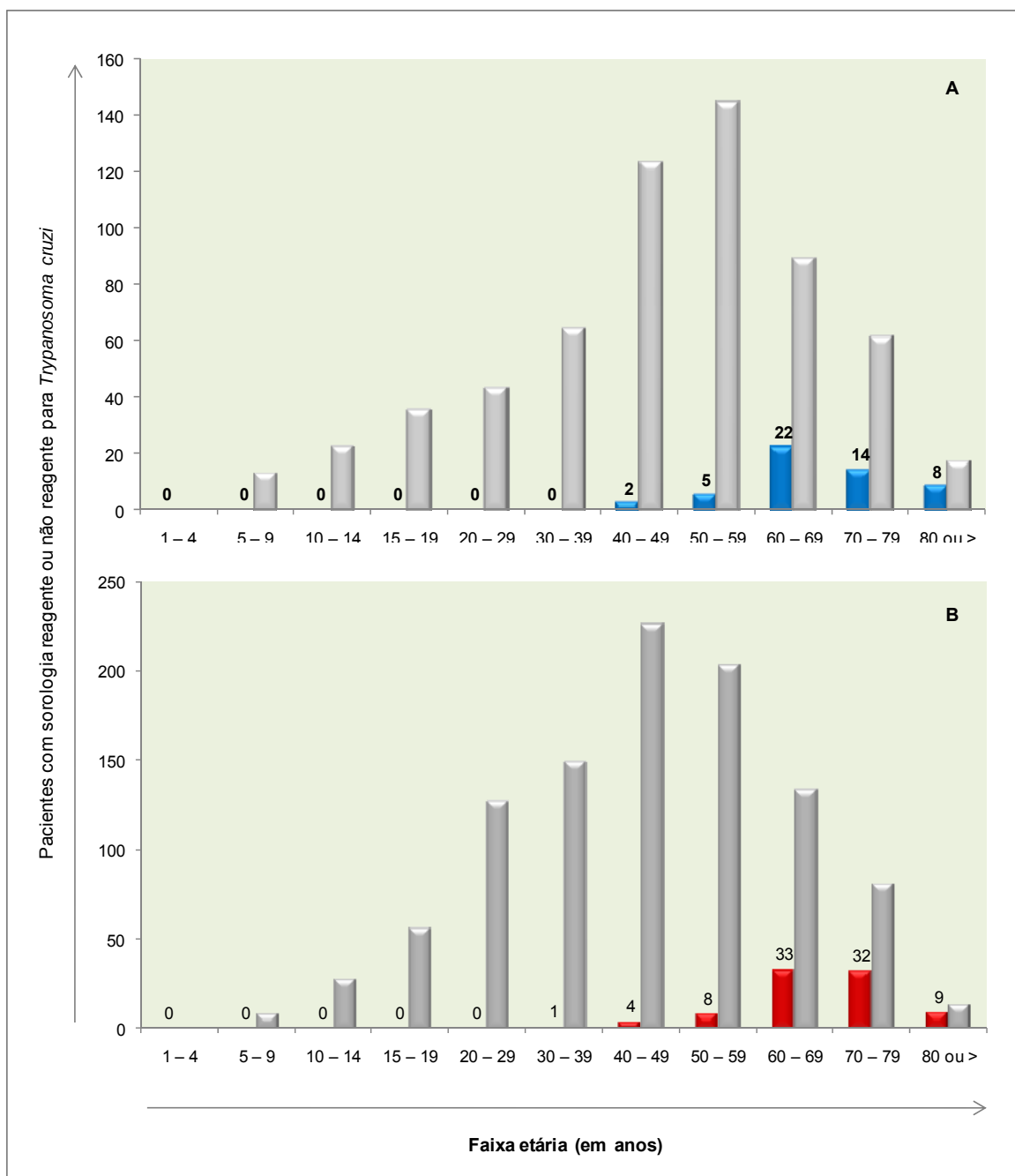


Figura 8 – Número de homens (A) e mulheres (B) com sorologia reagente ou não-reagente para *Trypanosoma cruzi*. As barras em cinza indicam os pacientes com sorologia não-reagente e as coloridas (azul e vermelho), os pacientes com sorologia reagente para o parasito.

Com relação ao desempenho dos testes sorológicos utilizados, observou-se pequeno número de resultados falso-positivos (21 amostras – 1.28%) e falso-negativos (9 amostras – 6.4%) quando comparado o ELISA ao HAI e apenas 5 amostras (0.3%) com resultados indeterminados (Tabela 4).

TABELA 4 – DESEMPENHO DOS TESTES SOROLÓGICOS PARA AVALIAÇÃO DA INFECÇÃO PELO *Trypanosoma cruzi*.

ELISA		RIFI			HAI		
		R	NR	IND	R	NR	IND
R	139 (7,8%)	125 (89,9%)	12 (8,6%)	2 (1,4%)	130 (93,5%)	9 (6,4%)	---
NR	1.639 (92%)	---	1.638 (99,9%)	1 (0,06%)	21 (1,28%)	1.617 (98,6)	1 (0,06%)
IND	4 (0.2%)	---	3 (75,0%)	1 (25,0%)	2 (50,0%)	2 (50,0%)	---
TOTAL	1.782 (100%)	1.782 (100%)			1.782 (100%)		

R = reagente; NR = não-reagente; IND = indeterminado.

5.2 Avaliações laboratorial e clínica dos indivíduos estudados em inquérito sorológico atual

5.2.2 Avaliação laboratorial

- Exames sanguíneos complementares

Foi possível observar que 111/138 (80,4%) dos pacientes apresentaram alterações nos exames complementares, notando-se maior alteração dos resultados em mulheres do que em homens (Tabela 5).

TABELA 5 – RESULTADO DOS EXAMES SANGUÍNEOS COMPLEMENTARES REALIZADOS NOS PACIENTES COM SOROLOGIA REAGENTE PARA *Trypanosoma cruzi*.

EXAMES		SEXO				TOTAL	
		Homens		Mulheres			
		Alterados	(%)	Alterados	(%)	Alterados	(%)
Hemograma	Hemoglobina	3	7,7	4	5,6	7	6,3
	Hematócrito	3	7,7	4	5,6	7	6,3
	Eritrograma	2	5,1	5	6,9	7	6,3
	Leucócitos	1	2,6	2	2,8	3	2,7
	Plaquetas	6	15,4	2	2,8	8	7,2
Lipidograma	Colesterol	7	17,9	11	15,3	18	16,2
	Triglicérides	1	2,6	10	13,9	11	9,9
	HDL	6	15,4	8	11,1	14	12,6
	LDL	6	15,4	13	18,1	19	17,1
	VLDL	1	2,6	10	13,9	11	9,9
Bioquímicos	Ácido úrico	1	2,6	1	1,4	2	1,8
	Glicose	2	5,1	2	2,8	4	3,6
	TOTAL	39	100,0	72	100,0	111	100,0

- Exame Parasitológico de fezes

Foi possível a realização deste exame em 99/138 pacientes (77,7%), com o registro de 8 pacientes com exame positivo e a identificação de apenas 3 espécies distintas, sendo *Strongyloides stercoralis* a mais frequente (Tabela 6).

TABELA 6 – RESULTADOS DOS EXAMES PARASITOLÓGICOS DE FEZES REALIZADOS NO GRUPO DE PACIENTES COM SOROLOGIA REAGENTE PARA *Trypanosoma cruzi*.

Espécie parasitária identificada	Positivos	(%)	Negativos	(%)	TOTAL
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1	1,0	-	-	1
<i>Entamoeba coli</i>	2	2,0	-	-	2
<i>Strongyloides stercoralis</i>	5	5,1	-	-	5
TOTAL	8	8,1	91	91,9	99

- Exame de urina

Por meio desse exame foi possível identificar um quadro de infecção urinária em 21 pacientes, aos quais foi prescrito medicamento específico para tratamento. Após término do tratamento, todos os pacientes apresentaram novo exame de urina, que revelou a cura da infecção.

- Hemocultura

Foi possível a realização da hemocultura em 83 pacientes. Deste total, 30 exames foram positivos e 53 negativos, não sendo possível a realização do exame em 55 pacientes. Assim, a positividade encontrada das hemoculturas foi de 38,2% no sexo feminino e de 30,0% no masculino (Tabela 7).

TABELA 7 – RESULTADO DOS EXAMES DE HEMOCULTURA REALIZADOS NO GRUPO DE PACIENTES CRÔNICOS.

RESULTADO HEMOCULTURA							
Sexo	Positivos	(%)	Negativos	(%)	Exames não-realizados	(%)	TOTAL
Feminino	21	15,22	32	23,19	34	24,64	87
Masculino	9	6,52	21	15,22	21	15,22	51
TOTAL	30	100	53	100	55	100	138

5.2.3 Avaliação clínica

Do total de 138 indivíduos com sorologia confirmadamente reagente, 37 (19 mulheres e 18 homens) não compareceram ao exame clínico. Nos pacientes clinicamente avaliados, foi possível diagnosticar as formas clínicas digestiva (7/101), indeterminada (14/101), cardíaca (30/101) e cardiodigestiva (50/101) (Tabela 8).

TABELA 8 – CLASSIFICAÇÃO DOS PACIENTES SEGUNDO FORMA CLÍNICA DA DOENÇA DE CHAGAS E SEXO.

FORMA CLÍNICA	SEXO				TOTAL (%)	
	Feminino	(%)	Masculino	(%)		
Digestiva	7	10,3	0	0,0	7	6,9
Indeterminada	6	8,8	8	24,2	14	13,9
Cardíaca	20	29,4	10	30,3	30	29,7
Cardiodigestiva	35	51,5	15	45,5	50	49,5
TOTAL	68	100,0	33	100,0	101	100,0

Com relação à faixa etária, foi detectado apenas um paciente portador da DCh na faixa etária entre 30 e 40 anos, sendo que a maioria dos pacientes estão inseridos nas faixas etárias de 60 a 79 anos (Tabela 9).

TABELA 9 – CLASSIFICAÇÃO DOS PACIENTES PORTADORES DA DOENÇA DE CHAGAS SEGUNDO FAIXA ETÁRIA (EM ANOS) E FORMA CLÍNICA.

Faixas etárias	Formas clínicas				TOTAL
	Digestiva	Indeterminada	Cardíaca	Cardiodigestiva	
30 a 39	0	0	0	1	1
40 a 49	0	1	1	2	4
50 a 59	1	2	1	4	8
60 a 69	2	8	11	21	42
70 a 79	3	2	15	16	36
80 ou >	1	1	2	6	10
TOTAL	7	14	30	50	101

- Avaliação das co-morbidades

Dos 101 pacientes que compareceram ao exame clínico, 95 apresentaram uma ou mais co-morbidades. Isoladamente, das 40 co-morbidades diagnosticadas, a disfagia foi a mais frequente, seguida da hipertensão e infecção urinária. Entretanto, ao analisar a frequência com que as co-morbidades foram identificadas, a hipertensão, infecção urinária, hiperlipedemia, ansiedade e diabetes foram as mais detectadas (Tabela 10).

TABELA 10 – RELAÇÃO DE CO-MORBIDADES DIAGNOSTICADAS EM PACIENTES COM INFECÇÃO POR *Trypanosoma cruzi*.

Co-morbidades	Número de pacientes
Disfagia	8
Infecção urinária	5
Diabetes, hipertensão	3
Hipertensão	3
Hipercolesterolemia	2
Hipertensão, hipercolesterolemia	2
Acidente vascular cerebral, hernia inguinal, infecção urinária	1
Alcolismo, hipertensão	1
Alzheimer, demência, hipertireoidismo, hipertrofia da próstata	1
Alzheimer, hipotireoidismo	1
Anemia hipocrômica, hipertensão	1
Ansiedade	1
Ansiedade, diabetes, hipertensão	1
Ansiedade, atrofia, gastrite	1
Ansiedade, catarata, hipertensão, tremor essencial, hipercolesterolemia	1
Ansiedade, depressão	1
Ansiedade, depressão hipertensão	1
Ansiedade, depressão, hipertensão, hipotireoidismo, obesidade	1
Ansiedade, diabetes, estrogiloidíase, hipertensão, varizes	1
Ansiedade, diabetes, hipertensão, infecção urinária,	1
Ansiedade, hipertensão, infecção urinária	1
Ansiedade, infecção urinária, varizes	1
Ansiedade, obesidade	1
Ansiedade, usuário de marcapasso	1
Artropatia, infecção urinária	1
Artrose	1
Artrose, gastrite	1
Artrose, gastrite, infecção urinária	1
Artroses, varizes	1
Ascaridíase	1
Asma, diabetes, hipertensão, varizes	1
Cancer de pulmão, erisipela hipertensão	1
Catarata, infecção urinária	1
Catarata, surdez	1
Constipação intestinal	1
Depressão, dislipidemia, hipertensão, trombose, varizes	1
Depressão, estrogiloidíase, hipertensão, infecção urinária.	1
Depressão, hipertensão, infecção urinária	1
Depressão, hipertrofia de próstata	1

TABELA 10 – RELAÇÃO DE CO-MORBIDADES DIAGNOSTICADAS EM PACIENTES COM INFECÇÃO POR *Trypanosoma cruzi* (continuação).

Co-morbidades	Número de pacientes
Depressão, infecção urinária	1
Diabetes	1
Diabetes, hipertensão, hipotireoidismo, infecção urinária	1
Diabetes, estrogiloidíase	1
Diabetes, gastrite, labirintite, varizes	1
Diabetes, herpes zóster, hiperlipedemia	1
Diabetes, hipercolesterolemia	1
Diabetes, hiperlipidemilia	1
Diabetes, hipertensão, hipercolesterolemia, infecção urinária	1
Diabetes, hipertensão, infecção urinária	1
Diabetes, hipertensão, varizes	1
Disfagia, emagrecimento, fraqueza	1
Disritmia cerebral controlada	1
Disritmia cerebral, epilepsia, hipotireoidismo, hipercolesterolemia, leucopenia	1
Disritmia cerebral, hipercolesterolemia	1
Efisema, asma	1
Efisema, hipercolesterolemia	1
Efisema, hipertensão, hipercolesterolemia, infecção urinária,	1
Escoliose, hipertensão, infecção urinária	1
Esquistossomose hepatoesplênica, hipertrofia da próstata	1
Estrongiloidíase	1
Estrongiloidíase, hipertensão	1
Flebite, hipertensão, infecção urinária	1
Gastrite, hipertensão, infecção urinária	1
Hérnia de disco, hipertensão, próstata	1
Hernia inguinal, tendinite	1
Hipercolesterolemia, hipertensão	1
Hipercolesterolemia, infecção urinária	1
Hipertensão arterial, infecção urinária	1
Hipertensão, infecção urinária, labirintite	1
Hipertensão, infecção urinária	1
Hipertensão, infecção urinária, tremor essencial	1
Hipertensão, infecção urinária, varizes	1
Hipertensão, labirintite	1

TABELA 10 – RELAÇÃO DE CO-MORBIDADES DIAGNOSTICADAS EM PACIENTES COM INFECÇÃO POR *Trypanosoma cruzi* (continuação).

Co-morbidades	Número de pacientes
Hipertensão, surdez	1
Infecção urinária, gota	1
Labirintite	1
Leucopenia, plaquetopenia	1
Lombalgia	1
Pacientes sem co-morbidades	6
TOTAL	101

5.3 Caracterização dos grupos de *Trypanosoma cruzi* nos pacientes crônicos identificados no inquérito

De acordo com as análises moleculares realizadas neste estudo, foi possível identificar os grupos de *T. cruzi* circulantes nos pacientes crônicos do município de Bambuí. Segundo a avaliação do polimorfismo do gene D7 do 24S α rDNA (LSU rDNA), todas as amostras apresentaram um perfil de bandas de 125pb, característicos das linhagens genéticas de TcII ou TcVI (Figura 9).

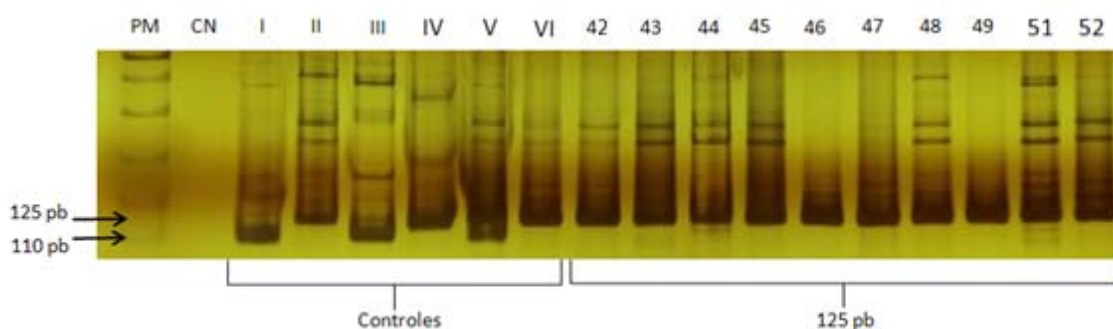


Figura 9 - Perfis de DNA obtidos pela genotipagem de isolados de *Trypanosoma cruzi* provenientes de pacientes do município de Bambuí/MG, obtidos pela amplificação da região 3' do gene 24S α rDNA. PM = Peso molecular, Controles (TcI a VI), amostras (42 a 49, 51 e 52).

A análise de polimorfismo do gene Citocromo Oxidase II (COX II) realizada demonstrou um perfil de bandas triplas (262pb + 81pb + 30pb), semelhante aos clones representativos do Haplótipo A, pertencentes as linhagens de TcI. As demais amostras apresentaram perfis de 212pb + 81pb, característicos do haplogrupo mitocondrial C, típicos da linhagem TcII (Figura 10).

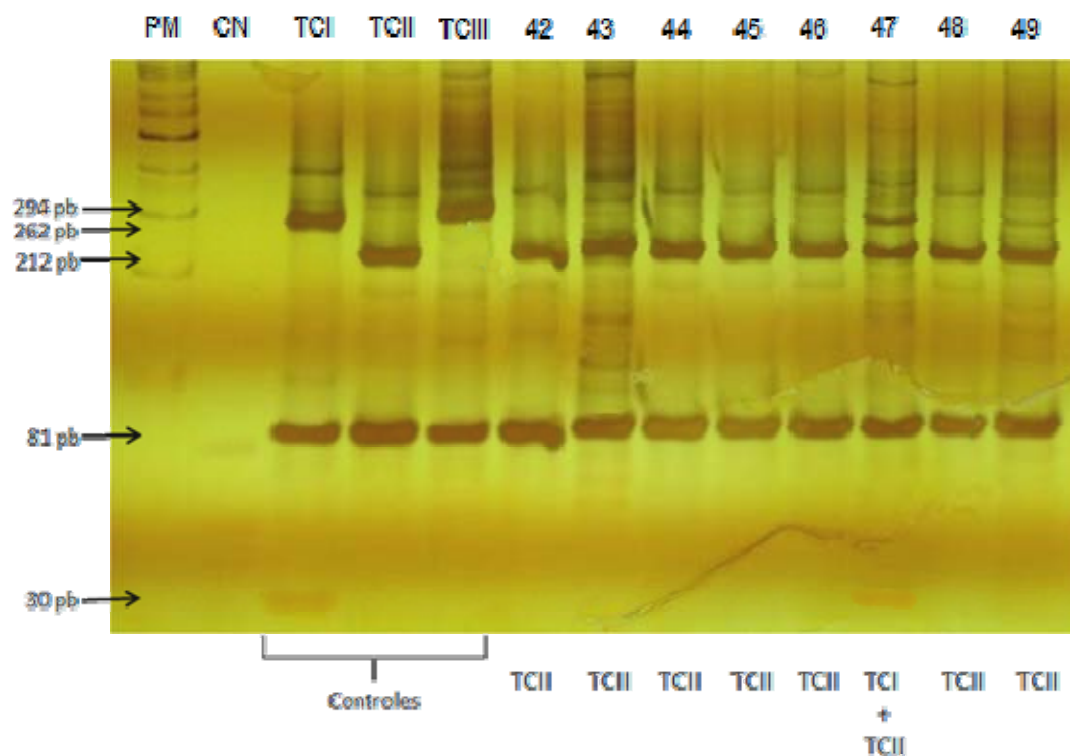


Figura 10 - Perfis de DNA obtidos pela genotipagem de isolados de *Trypanosoma cruzi* provenientes de pacientes do município de Bambuí/MG, por meio da análise do polimorfismo do gene da subunidade II da Citocromo Oxidase (COII). PM = Peso molecular, Controles (TCI, TCII e TCIII), amostras (42 a 49).

A análise polimorfismo do Espaçador Intergênico dos Genes Mini-exon de *T. cruzi* (SL-IR) apresentaram perfil de bandas de aproximadamente 150 a 157pb que podem ser característicos das linhagens TcI, II, V e VI (Burgos et al 2007) (Figura 11).

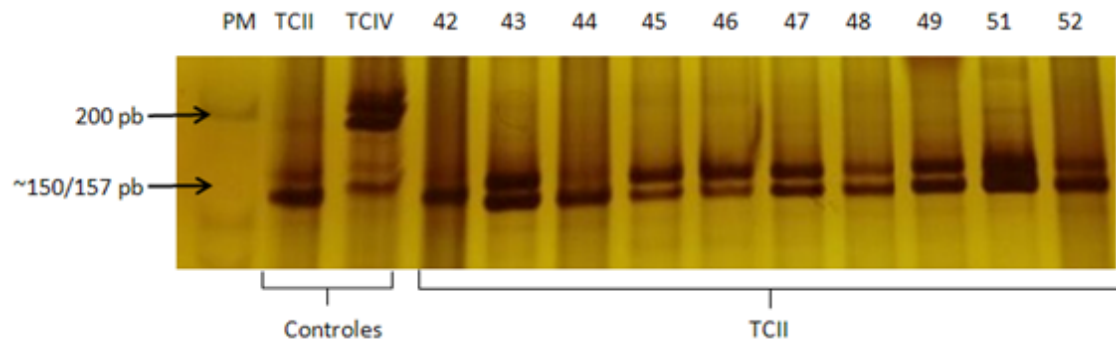


Figura 11 - Perfis de DNA obtidos pela genotipagem de isolados de *Trypanosoma cruzi* provenientes de pacientes do município de Bambuí/MG, obtidos pela amplificação da região 3' do gene 24Sα rDNA. PM = Peso molecular, Controles (TCI a VI), amostras (42 a 49, 51 e 52).

Os resultados obtidos na análise do polimorfismo de diferentes alvos gênicos para a caracterização molecular (segundo Zingales et al 2009) das 31 amostras de *T. cruzi* obtidos nos pacientes crônicos do município de Bambuí demonstrou que 93.5% (29/31) foram caracterizadas como a linhagem TcII, apresentando o perfil de bandas: LSU rDNA: 125 pb, COX II: 212pb + 81pb (Haplogrupo C), SL-IR: ~150/157pb e 6.5% (2/31) apresentaram infecção mista pelas linhagens TcI + TcII, com o perfil de bandas: LSU rDNA: 125 pb, COX II: 262pb + 212 pb + 81pb + 30pb (Haplogrupo A + C), SL-IR: ~150/157pb (TABELA 11).

TABELA 11 - IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS DE *Trypanosoma cruzi* ISOLADOS DE PACIENTES DO MUNICÍPIO DE BAMBUÍ/MG.

Código	Mitocondrial (Haplogrupo)	rDNA	Miniexon	Genotipagem
22	TcII (Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
23	TcII (Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
24	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
25	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
26	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
27	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
28	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
29	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
30	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
31	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
32	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
33	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
34	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
35	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
36	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
37	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
38	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
39	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
40	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
41	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
42	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
43	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
44	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
45	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
46	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
47	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
48	Tcl + TcII (Haplogrupo A + C)	125pb	157pb	Tcl + TcII
49	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
50	TcII(Haplogrupo A + C)	110 + 125pb	157pb	Tcl + TcII
51	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII
52	TcII(Haplogrupo C)	125pb	157pb	TcII

5.4 Caracterização dos principais indicadores de morbi-mortalidade associados à infecção chagásica no município.

5.4.1 Avaliação da mortalidade

Dos 5.429 óbitos ocorridos no município de Bambuí no período de 1980 a 2011, 638 (11,8%) foram devido à DCh, sendo 54,5% (348/638) referente ao sexo masculino, 45,1% (288/638) ao sexo feminino e 0,3% (2/638) tiveram registro de sexo ignorado. A faixa etária na qual se registrou o maior número de óbitos por DCh no município foi de 60 a 69 anos, totalizando 26,8% (171/638) dos óbitos (Figura 12).

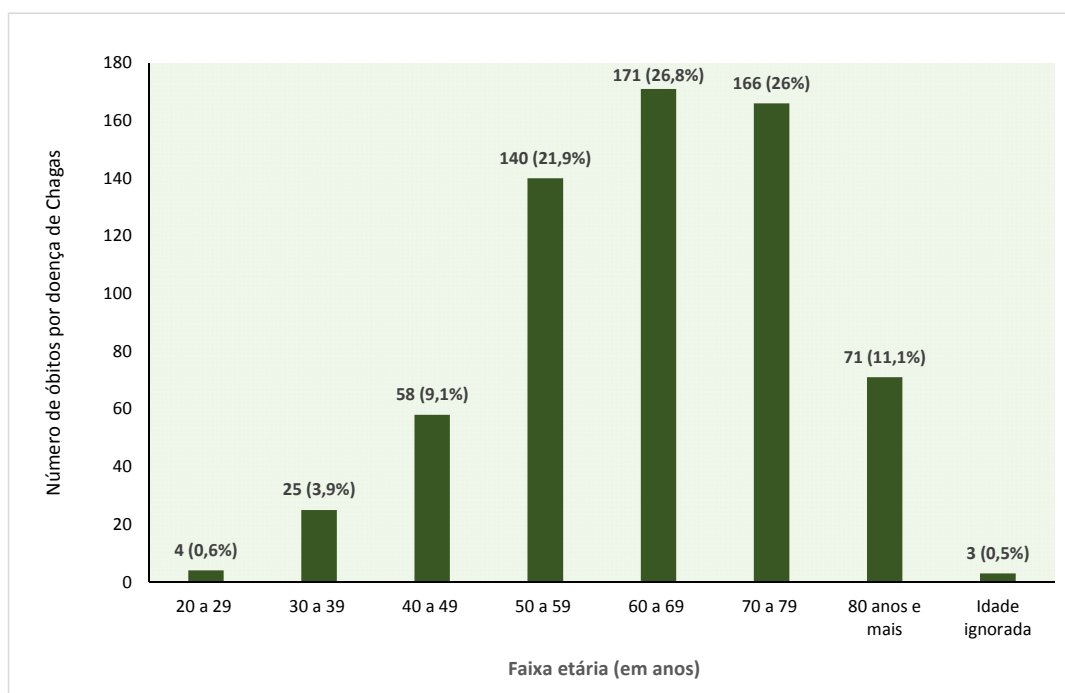


Figura 12 – Número de óbitos por doença de Chagas obtidos nas diferentes faixas etárias avaliadas no período de 1980 a 2011.

Neste período, pode-se observar uma redução importante ($R^2 = 0,7$) na taxa de mortalidade geral no município, com uma média de 3,7% (Figura 13).

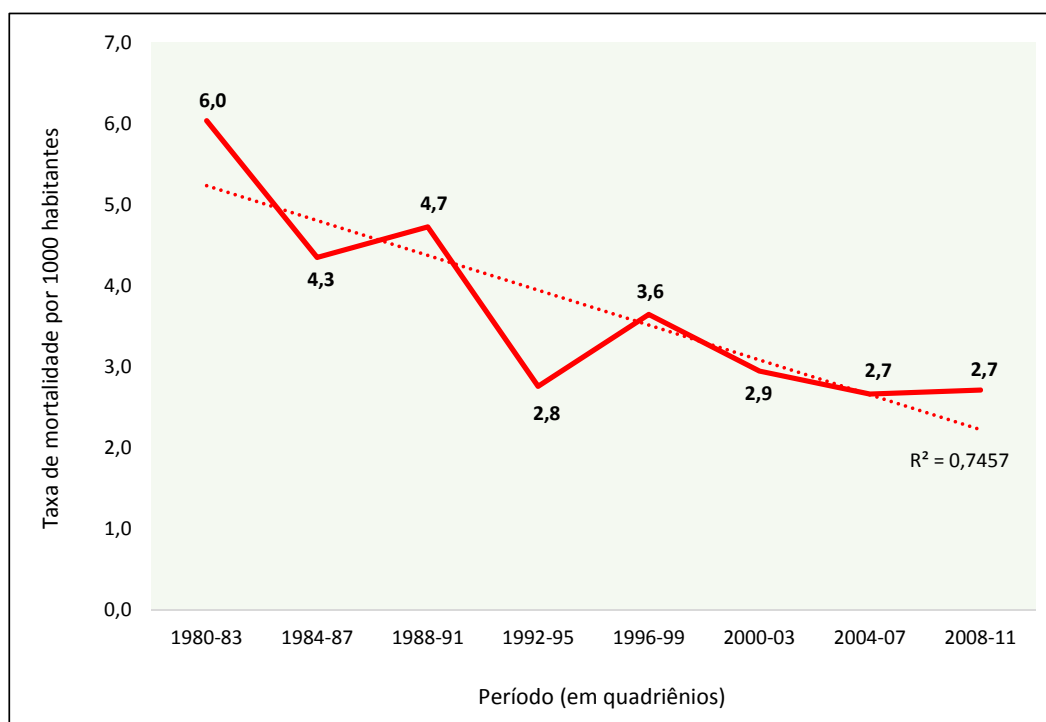


Figura 13 – Taxa de mortalidade geral (/1000 hab.) observada no período avaliado (1980-2011) organizada por triênios para o município de Bambuí.

5.4.2 Avaliação da morbidade

Observou-se um total 22 registros de internações em Bambuí por DCh no período de 1984 a 2007, sendo 7 (31,82%) referentes a homens e 15 (38,69%) a mulheres. Com relação à faixa etária, observou-se maior número de internações nas faixas etárias de 60 a 79 anos de idade (Figura 14).

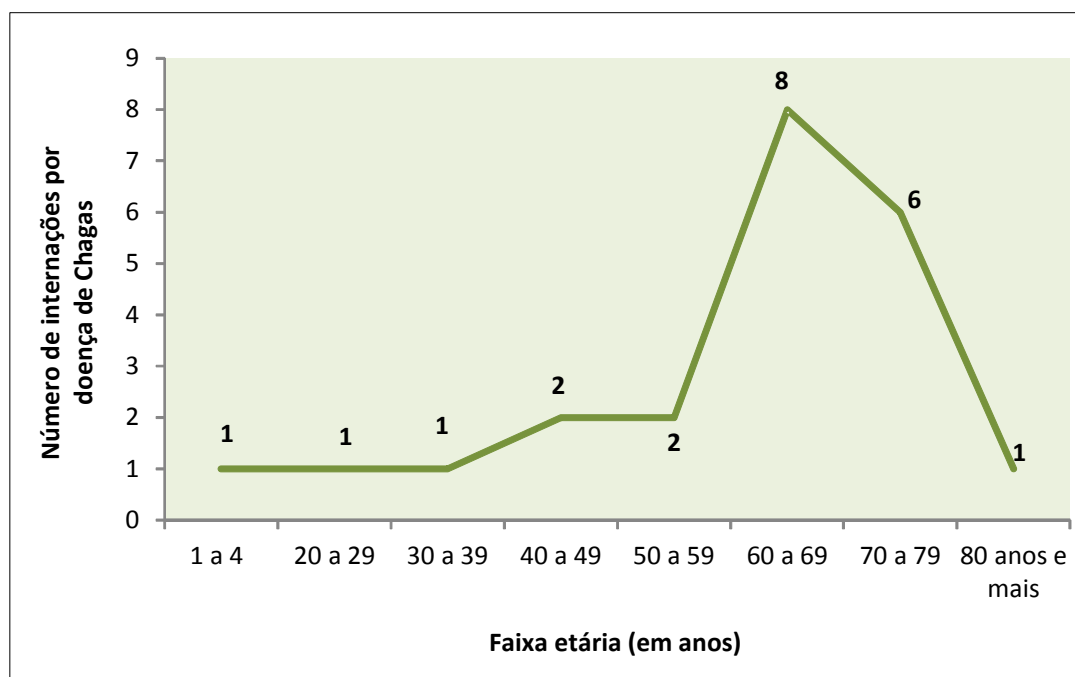


Figura 14 – Internações por doença de Chagas em Bambuí segundo faixa etária no período entre 1984 a 2007.

Ao longo do período estudado, observou-se que houve um aumento no número de internações por DCh a partir de 1991, seguido de uma queda em 1995 (Figura 15).

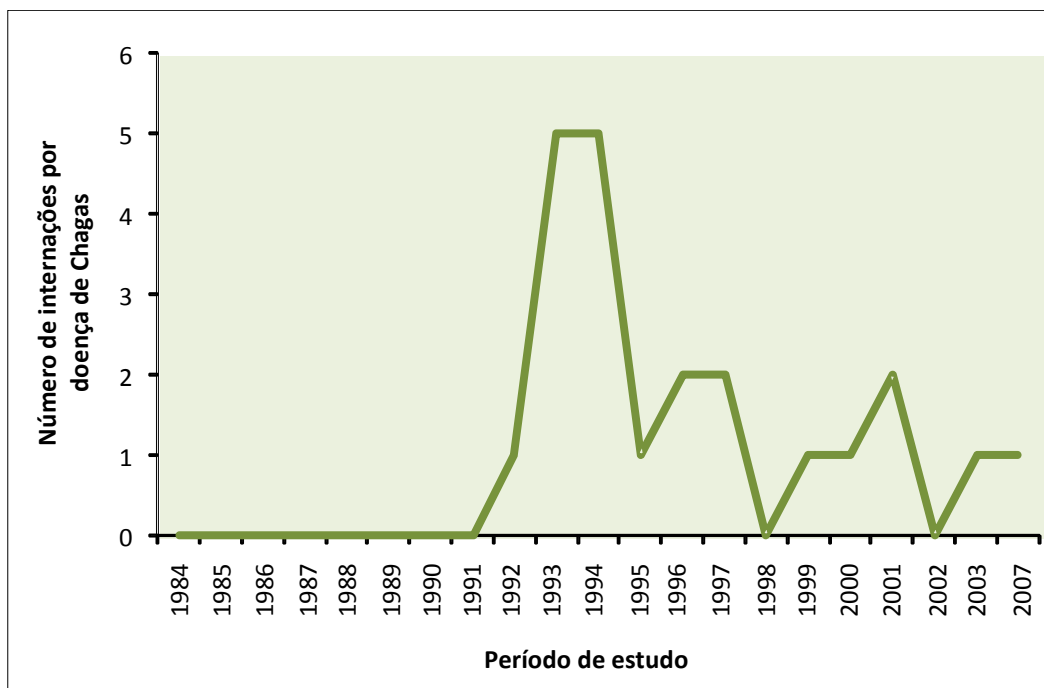


Figura 15 - Internações hospitalares por doença de Chagas em Bambuí no período compreendido entre 1984 a 2007.

6 DISCUSSÃO

A transmissão da DCh na região de Bambuí dependeu fundamentalmente do contato entre o homem suscetível e o triatomíneo infectado. Além do processo vetorial, admitem-se o transfusional e o congênito como efetivos mecanismos de transmissão de *T. cruzi* ao homem, conforme demonstrado na literatura (Dias 1979a). Tendo como fato que a transmissão vetorial da DCh foi o mecanismo mais comum em Bambuí, uma vez que as áreas geográficas de maior prevalência de DCh na região foram as de maiores índices de infestação triatomínica (Dias 1956; 1968). Nos trabalhos iniciais realizados nesta área, verificou-se que praticamente todos os casos detectados, agudos ou crônicos, referiram contato anterior com triatomíneos (Martins et al 1940, Dias 1945, Laranja et al 1956, Dias 1967), sendo que a maioria dos casos agudos detectados apresentava sinal evidente de porta de entrada, indicador do contato com o triatomíneo (Dias 1955, 1968). Diferentes estudos demonstram relação evidente entre os trabalhos de destriatomização intensiva e a imediata desapareção de novos casos agudos e, a médio prazo, queda dos índices de prevalência nos grupos etários inferiores (Dias et al 1945, Dias et al 1957, Dias & Dias 1968, Dias 1974a). O estudo prospectivo realizado por Dias (1982) demonstrou que gestantes chagásicas e seus conceitos e retrospectivamente crianças filhas de mães sabidamente chagásicas antes do parto não detectou um único caso de transmissão congênita na área. Desde a década de 80, não se notificam indivíduos com menos de 20 anos de idade infectados pelo *T. cruzi*.

O presente estudo demonstrou que, nos dias atuais, o número de casos com sorologia positiva para infecção pelo *T. cruzi* encontrados reflete o impacto das ações de vigilância e controle da DCh realizados pelo Dr. Emmanuel Dias no início da década de 40 no município de Bambuí. Dados históricos já relatavam taxas de prevalência global acima de 50% nas décadas de 1940 e 1950, com indivíduos infectados desde a primeira infância, em contraste com os 7,7% de prevalência, concentrada praticamente acima dos 60 anos de idade (Dias 1982a).

Os trabalhos de controle do vetor executados pelo PAEED a partir de 1955, quando abrangeram todo o município, levaram de imediato à uma rápida redução dos casos agudos em Bambuí, seguida de progressivo desaparecimento de casos crônicos em baixas idades (Dias 1982a). A análise dos presentes dados por grupo etário indica que a transmissão vetorial da doença de Chagas foi interrompida no fim da década de 1960. Fato similar foi registrado no estado de São Paulo desde os anos 1970, através de sorologia sistemática em populações de áreas sob controle, com flagrante redução de positividade em indivíduos de baixa idade (Souza 1984). Conforme registros do PAEED, o último caso agudo diagnosticado em Bambuí foi em 1969, pouco antes de se consolidarem os trabalhos de vigilância epidemiológica no município (Dias 1982a).

Em que pesem fatores globais como o esvaziamento demográfico da zona rural e uma progressiva diminuição de casas rurais de baixa qualidade, o elemento básico e decisivo na redução da prevalência da DCh em Bambuí deve ser considerado como resultado dos trabalhos de controle químico do inseto vetor, iniciados em Bambuí ainda na década de 1940 e otimizados na década seguinte (Dias 1945, Dias & Pellegrino 1948, Dias 1982a). Conforme dados já publicados, o município ficou praticamente livre de triatomíneos (principalmente do *Triatoma infestans*) entre 1957 e 1961, especialmente após os expurgos gerais realizados entre 1956 e 1958. A partir do início da década de 60, observou-se a diminuição das populações de *T. infestans*, tornando-se esporádicas ao longo do tempo, até sua última notificação entre 1977-78 (Silveira 2011). Com o controle desta espécie, as populações de *P. megistus* voltaram a invadir esporadicamente o ambiente domiciliar. A presença de *P. megistus* no ambiente natural de Bambuí pode ser caracterizada pelas frequentes invasões de adultos nas residências, durante os meses mais quentes do ano, em todo o município. Instalada a vigilância entomológica em 1974, as notificações de *P. megistus* passaram a apresentar progressiva redução, oscilando de 80-90 nos primeiros anos, para entre 15 e 25 notificações anuais (últimos 7 anos) (Villela 2008, Dias 2009). Essas invasões se fazem geralmente à custa de insetos adultos originários de ecótopos silvestres próximos às casas, podendo colonizar tanto o intra como o

peridomicílio se o foco não for detectado e eliminado (Santos-Júnior et al 2011). A queda da prevalência da infecção humana por *T. cruzi* em Bambuí, após o controle efetivo dos vetores domiciliados, fôra prevista por Emmanuel Dias já em 1957 e observada através de inquéritos soro-epidemiológicos em 1965, 1974 e 1980, em consonância com o que se verificava no Estado de São Paulo, a partir de 1968 (Dias 1974a, Rocha e Silva 1979).

Implantada a vigilância epidemiológica em 1974, pode considerar-se que a transmissão da DCh humana virtualmente desapareceu em Bambuí. Registre-se, em paralelo, o bom controle das poucas transfusões de sangue ali realizadas, através do sistema da Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (Hemominas) e o virtual desaparecimento da transmissão congênita, através do esgotamento de fontes infectantes (ausência de infecção em mulheres em idade fértil) (Gontijo et al 2009, Moraes-Souza & Ferreira-Silva, 2011, Ostermayer et al 2011). Todavia, o presente inquérito revelou um resíduo ainda significativo de indivíduos infectados na região, certamente contaminados há muitos anos atrás, com destaque para duas mulheres com menos de 41 anos infectadas. Devido ao sucesso das ações de controle vetorial no município, acredita-se que esses dois casos possam ser relacionados a infecções congênicas.

Até meados da década de 40, predominaram nitidamente os estudos sobre a doença de Chagas aguda no homem, especialmente em virtude da falta de conhecimentos e de uma visão clara das características das formas crônicas da infecção. Segundo Laranja (1956), até 1945, a DCh crônica era praticamente desconhecida, limitando-se os relatos a casos esporádicos de cardiopatia que não iam além de 50 no Brasil (excluídos os de Lassance), 50 na Argentina, 20 na Venezuela e 60 no Chile.

Foi realmente a fundação do “Centro de Estudos e Profilaxia da doença de Chagas” do Instituto Oswaldo Cruz em Bambuí, Minas Gerais, em 1943, por Henrique Aragão e Emmanuel Dias, que possibilitou o grande impulso resultante da caracterização da doença de Chagas crônica, em especial a cardiopatia chagásica crônica (Laranja 1949, Laranja et al 1956, Dias 1979b). A

partir de 1944, foi extremamente importante a disseminação regional de informações acerca da DCh e do Centro de Bambuí (Dias 1942, Dias 1945, Dias 1956). Magnani e colaboradores (2007) realizaram estudo antropológico sobre o modo de incorporação e as repercussões do implante do marcapasso na vida do indivíduo portador da doença de Chagas. Neste estudo, os autores propuseram identificar as referências sócio-culturais do paciente em relação à doença de Chagas, os mitos compartilhados na comunidade social onde ele é inserido, e as limitações que ele mesmo se impõe como contribuição para que os profissionais de saúde atendam seus pacientes de forma integral, incluindo os aspectos psicossociais, sem negligenciar a importância da orientação decodificada e integrada no âmbito cultural. Foi possível concluir que os símbolos ligados à doença de Chagas criam repercussões de ordem social que superam as fronteiras biológicas e a torna um fenômeno de ordem sócio-cultural. Os mitos, os significados culturais, os valores negativos que definem a doença no âmbito popular acarretam consequências psicológicas e sociais que limitam a vida dos indivíduos portadores da enfermidade.

Diferentes estudos longitudinais mostram que a cardiopatia chagásica crônica é a forma clínica mais comum de evolução da DCh nos pacientes infectados, sendo a insuficiência cardíaca a causa mais frequente de óbito (Laranja et al 1949 e 1956, Dias 1974b, Forichon 1974). No presente estudo, foi possível observar que a forma cardiodigestiva foi a mais frequente nos indivíduos que pertenciam à faixa etária de 60 a 69 anos de idade, o que pode ser explicado pela história natural de evolução da cronicidade da doença e que, provavelmente, esses indivíduos podem ter apresentado quadros clínicos mais exacerbados na fase aguda, em especial na primeira década da vida. O achado de uma paciente de 32 anos com a forma mista da doença, sugere uma possível infecção congênita, desde que sua progenitora é também soropositiva e que ela não refere ter vivido em casa infestada por triatomíneos, além de que os últimos casos de DCh aguda em Bambuí foram registrados no final da década de 60 (Dias 1982b).

À parte a DCh, predominando a forma cardiodigestiva, no presente estudo foi possível detectar uma série de outras co-morbidades, corroborando com estudos anteriores realizados no município, onde a hipertensão, a diabetes e disfagia foram os problemas mais frequentemente diagnosticados (Dias 2006). Em estudo de revisão realizado de 1999 a 2005, Dias (2006), detectou que a hipertensão foi o problema médico mais diagnosticado em sua casuística de 369 pacientes, seguindo-se problemas dermatológicos e psico-neuróticos, varizes e problemas ósteo-articulares. As infecções por parasitos já foram temas de importante expressão no passado em Bambuí, onde a prevalência de esquistossomose, geo-helmintos e enteroprotzoários era elevada (Dias 1953; 1954; 1969). Dias, em 1982, ao realizar o exame parasitológico de fezes em 91 pacientes chagásicos crônicos, encontrou cerca de 60% de positividade, sendo o *Ascaris lumbricoides*, *Ancilostomídeos* e *Taenia* sp os parasitos mais frequentemente detectados. No entanto, diferentes estudos mostram que a prevalência de infecções parasitárias no município tem diminuído (Rocha et al 2000, Dias 2006), tendência que o presente estudo vem corroborar. Esta redução, pode ser atribuída, principalmente, a urbanização, a significativas melhorias no saneamento básico e nos hábitos higiênicos (inclusive o uso de calçados).

No contexto epidemiológico-molecular, sabe-se que o agente etiológico da doença de Chagas, *T. cruzi*, constitui-se de subpopulações heterogêneas que podem circular tanto em ambientes naturais como habitados pelo homem (Silva 1959, Andrade 1974, Brener & Chiari 1969). Esta diversidade intra-específica pode ser detectada tanto em nível morfológico, biológico, como genético (Chagas 1909, Andrade & Andrade 1966, Tibayrenc & Ayala 1988, Macedo et al. 1992, Steindel et al. 1993).

Estudos anteriores realizados por Romanha (1982), no município de Bambuí, avaliaram 67 amostras isoladas de pacientes chagásicos crônicos e de um reservatório silvestre (*Didelphis albiventris*), caracterizando, por meio do perfil eletroforético de isoenzimas, quatro populações denominadas zimodemas A, B, C e D. As correlações entre estes Zimodemas com os descritos por Miles et al. (1977, 1978) foram: a) Z1 semelhante aos perfis de *T. cruzi* isolado em *D.*

albiventris; b) Z2 = ZA; e c) Z3 ~ ZC. Não foram encontradas correlações entre os zimodemas B e D.

Fernandes e colaboradores (1994a), trabalhando no mesmo município, caracterizaram entre as populações de gambás *D. albiventris* isolados de *T. cruzi* identificados como zimodema 1 (Z1). Entretanto, na avaliação dos parasitos encontrados em *P. megistus* encontrados nos domicílios, observou-se a presença de duas linhagens: Z1 e Z2, associados aos ambientes silvestre e doméstico, respectivamente. Entre os animais domésticos a presença de Z1, em cão, e Z2, em um gato, também foi relatada. O encontro dos dois grupos do parasito no ambiente domiciliar demonstrou a ocorrência de uma interrelação entre os dois ciclos de transmissão de *T. cruzi* no município.

A partir de um trabalho mais recente realizado por Santos-Júnior (2011) em Bambuí, foram avaliadas amostras de *T. cruzi* de 12 *D. albiventris* e nove *P. megistus*. Através da caracterização molecular proposta por Liarte et al (2009), foi encontrado apenas a DTU TcI.

Comparando as amostras de *T. cruzi* caracterizadas anteriormente no município, com a classificação atual proposta por Zingales e colaboradores (2009), observa-se a presença das DTU TcII (Zimodema A) e possivelmente DTU TcIV (Zimodema D) em pacientes chagásicos, e a DTU TcI (Z1) e DTU TcII (Z2) em reservatórios (domésticos e silvestres) e triatomíneos de Bambuí.

A partir da metodologia aplicada, este estudo apontou, na maior parte das amostras dos pacientes chagásicos, a presença de DTU TcII, excetuando apenas dois casos de infecção mista (DTU TcI e TcII).

O encontro da DTU TcII nos pacientes avaliados neste estudo, corrobora com os dados encontrados na literatura específica, onde diferentes autores demonstram que essa linhagem do parasito está mais relacionada com a infecção humana e alguns reservatórios naturais (como os tatus) em diferentes regiões do Brasil (Brenière et al 1998, Zingales et al 1999, Yeo et al 2005, D'ávila et al 2006). A predominância de TcII indica infecção antiga de longa

duração (provavelmente maior que 50 anos), mantida por reinfecções internas (ciclos endógenos do parasito). O que indica ser muito difícil este grupo voltar a circular abertamente no município, face às praticamente nulas possibilidades de contato das remanescentes pessoas infectadas com os poucos e eventuais vetores domiciliados, em Bambuí (Dias 1982b). Segundo Zingales e colaboradores (2012) a DTU TcII é encontrada predominantemente nas regiões sul e central da América do Sul, estando intimamente associada com as formas cardíacas e digestivas da doença (Freitas et al 2005). Outros autores também confirmaram a predominância da DTU TcII em pacientes chagásicos, bem como em reservatórios domésticos, como cães e gatos (Fernandes et al 1994b, Câmara et al 2010, Zafra et al 2011).

Fernandes e colaboradores (1997) ao realizarem a caracterização molecular de isolados de *T. cruzi* em pacientes chagásicos em Porto Alegre, identificaram apenas a DTU TcII. No mesmo trabalho foram ainda investigados os vetores e os reservatórios naturais do município, encontrando a mesma linhagem observada nos pacientes em *D. albiventris* e a DTU TcI em *P. megistus* adultos capturados no ambiente peridomiciliar.

Os dados sobre infecção mista de linhagens de *T. cruzi* encontrados neste estudo corroboram com trabalhos encontrados na literatura, como de Mantilla e colaboradores (2010), onde foram caracterizados em paciente chagásico crônico DTU TcI e TcII e Andrade e colaboradores (2011), avaliando casos humanos de infecção oral recente (Santa Catarina em 2005), identificando a presença das DTU TcI (um paciente), TcII (cinco pacientes) e infecções mistas I + II e II+VI, em um paciente cada.

Por outro lado, Oliveira (2012) avaliando 51 isolados de pacientes chagásicos crônicos, provenientes da região do vale do Jequitinhonha, encontraram as DTU TcII e TcVI, entretanto não obtiveram nenhuma infecção mista, demonstrando que infecções de longo tempo podem levar à seleção das linhagens no hospedeiro, ocasionando o predomínio de apenas uma DTU do *T. cruzi* no hospedeiro.

Embora dados atuais indiquem uma associação da DTU TcI com o ambiente natural no município de Bambuí (Santos-Júnior 2011, Fernandes et al 1991), o encontro desta linhagem em dois pacientes crônicos corrobora com os dados de Fernandes e colaboradores (1994b), demonstrando que em determinadas épocas pode ocorrer uma maior proximidade entre os ciclos silvestre e doméstico de *T. cruzi*, possibilitando a infecção de moradores por ambas linhagens do parasito.

DTU Tc I é o principal agente etiológico da doença de Chagas na região Amazônica e América Central, apresentando características mais silvestres na América do Norte e ao Sul do Cone sul. Nesta região encontra-se mais relacionada com casos agudos assintomáticos ou com poucas manifestações crônicas (Zingales et al 1999, Coura et al 2002). No entanto, a infecção por essa linhagem tem causado mortes em algumas regiões do México, Colômbia, Venezuela e Brasil (Norte), principalmente onde a linhagem TcII é ausente (Miles et al 1981, Zafra et al 2008, Llewellyn et al 2009).

Trabalhos realizados no município de Bambuí demonstraram que DTU TcI é atualmente a principal linhagem circulante entre reservatórios e vetores (Santos-Júnior 2011).

Quanto à morbi-mortalidade, dentre as doenças endêmicas, a DCh ocupa um lugar de destaque, seja pelo alto grau de morbidade e letalidade, seja pelo contexto econômico e/ou social que representa. Segundo Dias (1992), cerca de 20% dos casos no Brasil evoluem para uma cardiopatia crônica de caráter irreversível que levaria ao óbito cerca de 10 mil pessoas por ano no país, na década de 1980.

A análise da morbi-mortalidade demonstra a importância médico-social da doença. Os estudos longitudinais e transversais realizados em Bambuí desde os anos 1940 mostram que a área foi palco de intensa infestação intradomiciliar por triatomíneos, com pico entre os anos de 1935 e 1955. Chegaram-se a detectar cifras de infestação maiores que 80% na periferia urbana, vivendas com milhares de triatomíneos e taxas de prevalência da

infecção por volta de 44% em crianças menores de dez anos (Dias et al 1946, Dias & Zeledón 1955a, Laranja et al 1956, Dias 1993). Esta situação perdurou até 1956, quando se empreendeu na área modelar ensaio de profilaxia, mas o período anterior foi caracterizado por intensa pressão de transmissão, especialmente caracterizada pela detecção de mais de três centenas de casos agudos, especialmente em crianças de baixa idade (Dias 1955, Dias 1957, Dias 1993). Situações similares ocorreram em outras áreas do Brasil e de Minas Gerais, onde até hoje subsiste prevalência elevada de infecção chagásica crônica, principalmente em alguns bolsões muito particulares de transmissão (Macedo 1976, Barreto 1979). Não obstante, as taxas de detecção de casos agudos em Bambuí foi a mais elevada do Brasil para uma única micro-região, desde a descoberta da doença, também sendo muito altas as taxas de cardiopatia e de mortalidade devida à DCh (Dias 1982a e 1982b, Dias 1993).

A informação sobre mortalidade na DCh apresenta dificuldades técnicas em seu estudo devido a problemas de diagnóstico e sub-registro, principalmente nas áreas endêmicas que são pobres e não dispõem de boa cobertura médico-assistencial. Na fase crônica da DCh, a maioria dos casos que vão a óbito são devido à cardiopatia chagásica crônica, especialmente em seus estágios finais de insuficiência cardíaca, em indivíduos do sexo masculino, a partir de 30 ou 40 anos de idade (Laranja et al 1956, Puigbó et al 1993). Vichi et al (1976), analisando a tendência da mortalidade por DCh no Brasil e Silveira e Rezende (1994) observaram que a mesma tende a declinar, principalmente a partir de 1990, baixando o coeficiente geral no País de 5,2 óbitos por 100 mil habitantes em 1980 para 4,7 óbitos por 100 mil habitantes em 1985 e para 4,1 óbitos por 100 mil em 1990. Neste presente trabalho, a grande parte dos óbitos registrados em Bambuí se encontrava entre os 30 e os 79 anos, principalmente entre os 50 e 79 anos. Aos poucos também vai se notando que a idade da morte na DCh crônica está se deslocando para grupos etários mais elevados, em todo o Brasil, um fato que faz paralelo com a progressiva diminuição de formas graves e a diminuição de internações hospitalares devidas ao agravo. Também como análise de tendências, têm-se verificado em Minas Gerais uma frequência cada vez maior de óbitos

hospitalares e assistidos em DCh, refletindo a urbanização da moléstia e um aumento de cobertura médico-assistencial sobre os portadores da doença (Dias 1982b, Gontijo & Dias 1994).

Alcançado o controle da transmissão vetorial, a questão básica para as autoridades sanitárias concentra-se no manejo dos chagásicos crônicos, destacando-se a situação destes indivíduos frente ao mercado de trabalho, os benefícios sociais e necessidade de atenção médica adequada na rede de serviços (Zicker 1988, Dias 2008). Através da análise de dados coletados no Sistema de Informação de Mortalidade do Ministério da Saúde (SIM/MS), acredita-se que os dados disponíveis nos sistemas nacionais de informação em saúde guardem um potencial explicativo para traçar um perfil satisfatório das tendências e diferenciais de mortalidade no país, além de permitir especular sobre as relações estatísticas que os índices de mortalidade possam ter com fatores sociais e econômicos. Há poucos estudos que resgatem dados de morbi-mortalidade de indivíduos cronicamente infectados (Paula 1981, Barreto & Andrade 1994, Drummond & Marcopito 2006, Santo 2009, Braz et al 2011 Litvoc et al 1992, Laurenti et al 2008).

A importância médica e social da DCh foi precocemente vislumbrada por Carlos Chagas, mas somente foi reconhecida quando ficaram caracterizadas a cardiopatia crônica chagásica e a mortalidade a esta devida, a partir da década de 1950 (Chagas 1911a e b, Laranja et al 1956, Dias & Schofield 1999, Dias 2007).

Entre os Estados da região Sudeste do Brasil, Minas Gerais destaca-se por apresentar maior mortalidade proporcional por doença de Chagas, situando-se em segundo lugar no *ranking* nacional, logo após Goiás (Gontijo & Dias 1994, Drummond & Marcopito 2006). Segundo o inquérito sorológico para DCh realizado no Estado (1958 a 1960) (Camargo 1984), foi possível observar uma elevada prevalência para doença em extensa área, sobrepondo-se à distribuição de triatomíneos infectados em trabalhos anteriores e no inquérito entomológico da mesma época (Martins et al 1954, Silveira 2011). Por sua vez, a delicada situação sócio-econômica da população, bem como a precariedade do atendimento de saúde, em muitos municípios, têm contribuído para

subestimar o real impacto médico e social da doença (Dias 2006, Lima-Costa 2010, Braz et al 2011).

A maior mortalidade encontrada no município de Bambuí está relacionada ao maior caráter endêmico característico da região do Centro-Oeste mineiro, por longo tempo, em anos passados (Dias 1956, Dias 1982*b*). A forte densidade triatomínico-tripanosossômica na região, associada à grande precariedade habitacional, levou Martins e colaboradores (1940) a apresentarem o primeiro trabalho significativo sobre casos agudos de DCh no Brasil, após a descoberta de Carlos Chagas em 1909. Dada sua importância epidemiológica, Bambuí tornou-se palco de estudos pioneiros de diagnósticos, tratamento, profilaxia e controle vetorial da doença, registrando 368 casos agudos e mais de dez mil casos crônicos, sendo o marco definitivo nos estudos para o reconhecimento da Cardiopatia Chagásica Crônica (CCC). Também neste município, o impacto benéfico das ações de controle da transmissão se fizeram notar sobre a mortalidade e a morbidade da DCh, tendo sido registrado o último caso agudo em 1969 (Laranja et al 1956, Dias 1956, Dias 1982*b*). Dados bem documentados por Kloetzel e Dias (1968) já indicavam elevada prevalência da infecção entre pessoas jovens não selecionadas de Bambuí, em 1949, com tendência crescente com a idade, acompanhando-se uma mortalidade também crescente até a faixa de 40 a 49 anos (22,9%) de mortalidade entre “chagásicos”. Sobre a mesma base de dados, em Bambuí, um estudo realizado por Forichon (1974) mostrava ainda maior ocorrência de mortes na faixa etária de 40 a 50 anos, com predominância significativa do gênero masculino, entre 1950 e 1970.

A maior mortalidade observada acima dos 50 anos, a partir do final da década de 70 e início da de 80 em Minas Gerais, além de destacar o caráter crônico da doença, reflete as ações de aprimoramento ao atendimento à saúde ao longo do tempo, uma vez que os óbitos pela doença eram comuns entre jovens e adultos no início da década de 70, principalmente por cardiopatia grave (Forichon 1974, Ferreira & Silva 2006, Laurenti 2008). Em anos mais recentes é possível observar um deslocamento dos óbitos para faixas-etárias

mais avançadas, prevalecendo entre os 50 e 79 anos (Dias 1982b, Lima-Costa et al 2011).

Além da idade avançada, o sexo masculino apresentou maior mortalidade por DCh. Diferentes trabalhos têm demonstrado esta associação, entretanto os fatores causais diretos ainda não estão definidos ou suficientemente estudados. Possivelmente, diferenças no comportamento como: menor procura por exames médicos de rotina, uso abusivo do álcool e tabaco, carga de trabalho e até mesmo, fatores hormonais, possam favorecer a maior mortalidade no gênero masculino, o que foi evidenciado em trabalhos de campo e experimentais (Lopes 1981, Espinosa et al 1985, Gonçalves 1992, Castro & Souza 2000, Dias 2006). Não obstante, infecções experimentais em camundongos albinos por *T. cruzi*, mantiveram a mesma proporção de óbitos para ambos os gêneros (Menezes 1967).

Os dados encontrados para Bambuí seguem de acordo com o cenário observado para o Brasil, onde nota-se uma progressiva redução no número de óbitos devidos à DCh, fato provavelmente relacionado às ações de controle vetorial e transfusional, à melhoria observada nas habitações rurais, à progressiva redução da densidade demográfica rural, assim como ao maior acesso ao atendimento médico-previdenciário (Dias 1982a, Akhavan 2000, Dias 2006, Martins-Melo et al 2012). Por consequência, espera-se que a mortalidade por DCh se torne cada vez menor, uma vez que tais condições continuam a existir, sendo responsáveis pela diminuição de novos casos da doença e pela queda sensível nos índices de morbidade e internações hospitalares devido à esta tripanossomíase (Dias 2006 e 2007).

O impacto das altas e seletivas taxas de mortalidade sobre as características demográficas das populações afetadas nunca foi adequadamente elucidado (Barreto & Andrade 1994). Em particular, o trabalho de Paula em 1981 já caracterizava nos anos 1970 a franca diferença de morbimortalidade em diferentes cenários epidemiológicos da DCh em Minas Gerais, encontrando os coeficientes de mortalidade por 100 mil habitantes de 53,13% e

de aposentadoria de 32,80% para 7 macro-regionais endêmicas deste Estado, frente a 1,16% e 2,89%, respectivamente, em 8 regionais não endêmicas. Para o Estado como um todo, os mesmos índices foram de 9,27% e 13,4%. Vale registrar que alguns autores prognosticavam uma redução da morbimortalidade, dando-se ênfase aos trabalhos pioneiros de Emmanuel Dias, que associava formalmente a redução das formas graves de CCC em Bambuí ao intenso controle triatomínico que ali se consolidava, a partir de 1956 (Dias 1962, Vichi et al 1976, Abreu 1977, Dias 1981, Dias 1982b, Espinosa et al 1985).

Pela tendência observada, pode-se esperar, a médio-longo prazo, uma significativa redução no impacto da DCh como causa de mortalidade, especialmente se consolidadas as ações de vigilância epidemiológica e o aprimoramento de cobertura na atenção médica aos indivíduos infectados (Dias & Coura 1997, Akhavan 2000, Dias 2006,).

Vale a pena pontuar que as internações hospitalares representam um impacto sócio-econômico na saúde pública, refletindo em gastos e sobrecarga no fluxo de internação. A redução dos casos de internações hospitalares por DCh, pode ser vislumbrada ao passar dos anos. Os atuais desafios do controle da doença continuam em ações de prevenção e assistência para as milhões de pessoas infectadas, implantação de políticas médico-sociais que garantam acesso, cobertura, equidade e benefícios para aqueles com incapacidade laboral.

Em suma, o presente estudo pode servir como um alerta ao cuidado dos pacientes crônicos que ainda requerem atenção médica especializada e reforça a necessidade de constantes medidas de vigilância epidemiológica à endemia chagásica no município de Bambuí.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

7.1 Descrição atual do panorama geral da infecção chagásica no município de Bambuí

Foi realizado um inquérito sorológico em 1.782 indivíduos residentes no município de Bambuí. Destes, 138 obtiveram sorologia positiva para *Trypanosoma cruzi*, indicando uma prevalência geral da infecção chagásica de 7.7%, sem diferença significativa entre os gêneros (87 ♀ e 51 ♂, $X^2 = 0.004$, $p = 0.94$). Em ambos os gêneros predominaram soros positivos acima dos 60 anos de idade, sendo detectadas apenas duas mulheres mais jovens (32 e 40 anos) infectadas.

Comentário: Estes resultados indicam essencialmente duas situações especiais, quando comparados com os estudos soroepidemiológicos no município, na época pré-profilática (1944-1958). Primeiramente, a prevalência geral da infecção padrão caiu vertiginosamente entre as duas épocas (> de 69% para 7,7%). Por outro lado, a inexistência atual de pessoas jovens (até 40 anos, uma única exceção) infectadas, contrasta com o período pré-profilático, onde alguns inquéritos demonstraram até 40% de prevalência entre 1 e 10 anos de idade (Laranja et al 1951). Ambos os dados estão a indicar um real e persistente corte na transmissão da infecção no município, devido basicamente ao controle do vetor domiciliado e ao permanente trabalho de vigilância epidemiológica instalado em 1974. Neste contexto, de acordo com o observado, pode – se dizer que a possibilidade de transmissão congênita da infecção chagásica em mulheres residentes em Bambuí na idade fértil é praticamente nula.

7.2 Avaliação clínica e laboratorial dos indivíduos estudados em inquérito sorológico atual

No presente estudo, 111 pacientes apresentaram alterações nos resultados dos exames sanguíneos complementares, sendo possível a realização do exame clínico em 101 pacientes. A forma cardiodigestiva foi a mais frequente nos indivíduos, seguida das formas cardíaca, indeterminada e digestiva (pura). Os demais exames complementares revelaram 21 pacientes com infecção urinária, 8 com infecção por enteroparasitos, além do diagnóstico de 40 tipos de co-morbidades.

Comentário: É natural e previsível que numa população de infectados idosos vá sendo diminuída a proporção de forma crônica indeterminada, como têm demonstrado os estudos longitudinais realizados em Bambuí (Dias 1982b e 2006) e outros autores como Macedo (1976). A doença é clinicamente evolutiva para indivíduos não tratados e é natural a superposição de quadros digestivos aos cardiológicos pré-existentes (Dias 1982b, Castro et al 2009). Quanto à associação de co-morbidades com a doença de Chagas, especialmente de agravos crônico-degenerativos, isto também tem sido relatado nos estudos supra citados, assim como em outros no Brasil, a exemplo Coura (2007) e na Argentina, conforme estudos de Storino (1994). Tais perfis clínicos apontam para as características da doença de Chagas no Brasil em anos futuros, pontuando a idade elevada e a predominância de alterações cardíacas e digestivas, em crescente associação com os agravos clínicos prevalentes nas idades mais elevadas (Dias 2006). Quanto a estes agravos, sua prevalência em idosos não infectados, em Bambuí, é a mesma dos aqui encontrados, segundo estudos de Lima-Costa e colaboradores (2009, 2011).

7.3 Caracterização dos grupos de *Trypanosoma cruzi* nos pacientes crônicos identificados no inquérito

A partir da metodologia aplicada, este estudo apontou, na maior parte das amostras dos pacientes chagásicos, a presença de DTU TcII, excetuando apenas dois casos de infecção mista (DTU TcI e TcII).

Comentário: A partir da caracterização molecular de T. cruzi não foi observada nenhuma relação entre os grupos e a forma crônica da doença. Este fato pode ser observado pela maior parte das amostras identificadas serem de um grupo específico em pacientes com diferentes megapatias relacionadas à enfermidade. Um ponto interessante que deve ser ressaltado é a presença de dois pacientes apresentando infecção mista do parasito, ressaltando a interrelação entre os ciclos silvestre e doméstico no município, demandando atenção às medidas profiláticas e manutenção da vigilância epidemiológica para a contenção de novos casos da doença de Chagas. O encontro predominante de TCII nos pacientes por nós estudados reflete assim infecção antiga, de longa duração, grupo este tendente a desaparecer no município nas próximas décadas.

7.4 Caracterização dos principais indicadores de morbi-mortalidade associados à infecção chagásica no município

Dos 5.429 óbitos ocorridos no município de Bambuí ao longo de 31 anos, 638 (11,8%) foram devido à DCh, sendo 54,5% (348/638) referente ao sexo masculino, 45,1% (288/638) ao sexo feminino e 0,3% (2/638) tiveram registro de sexo ignorado. A faixa etária na qual se registrou o maior número de óbitos no município foi de 60 a 69 anos, totalizando 26,8% (171/638) dos óbitos. Com relação à morbidade, observou-se um total 22 registros de internações em Bambuí pelo Sistema Único de Saúde no período de 1984 a 2007, sendo 7 (31,82%) referentes à homens e 15 (38,69%) à mulheres. Com relação à faixa etária, observou-se maior número de internações na faixa etária a partir de 60 anos de idade.

Comentário: Estes dados mais gerais, são de grande importância para a avaliação do peso médico e social da doença de Chagas numa região. Representando mais de 11% de todos os óbitos de Bambuí num longo período, a DCh mostra considerável impacto social no município, um dado que justifica plenamente as ações de controle iniciadas no passado e mantidas através da vigilância. As mortes em idades elevadas mostram que um grande resíduo de infectados no passado evoluiu e continua evoluindo para formas graves da doença, especialmente de cardiopatia crônica mais severa, a demandar acurada atenção médica. Por outro lado, com a drástica redução da prevalência da infecção na atual população de Bambuí, analisada acima, é de prever-se que de aqui em diante uma também progressiva redução da mortalidade proporcional por DCh, o que vale também para outras zonas nacionais e internacionais com ações de controle consolidadas (Dias 2000a e 2000b, 2009).

8 ANEXOS

8.1 Folha de rosto – Projeto de Pesquisa enviado ao CEP/MS

Planos de Saúde - Servidor

Page 1 of 2



MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS				FR - 356907	
Projeto de Pesquisa Doença de Chagas em Bambuí: estado atual e vigilância.					
Área de Conhecimento 4.00 - Ciências da Saúde - 4.01 - Medicina - Epide.			Grupo Grupo III	Nível Epidemiológico	
Área(s) Temática(s) Especial(s)			Fase Não se Aplica		
Unitermos Doença de Chagas, Bambuí, Vigilância epidemiológica.					
Sujeitos na Pesquisa					
Nº de Sujeitos no Centro 0	Total Brasil 10000	Nº de Sujeitos Total 10000	Grupos Especiais Criança e ou menores de 18 anos.		
Placebo NÃO	Medicamentos HIV / AIDS NÃO	Wash-out NÃO	Sem Tratamento Específico NÃO	Banco de Materiais Biológicos NÃO	
Pesquisador Responsável					
Pesquisador Responsável Dr. João Carlos Pinto Dias		CPF 003.904.026-72	Identidade 6145793		
Área de Especialização MEDICINA		Maior Titulação DOUTORADO	Nacionalidade BRASILEIRO		
Endereço AV. AUGUSTO DE LIMA, 1715		Bairro BARRO PRETO	Cidade BELO HORIZONTE - MG		
Código Postal	Telefone /	Fax	Email jcpdias@cpqrr.fiocruz.br		
Termo de Compromisso					
Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não.					
Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima.					
Data: ____/____/____		Assinatura			
Instituição Onde Será Realizado					
Nome Centro de Pesquisa René Rachou - MG		CNPJ 33.781.055/0008-01	Nacional/Internacional Nacional		
Unidade/Órgão Centro de Pesquisas René Rachou - FIOCRUZ/MG.		Participação Estrangeira NÃO	Projeto Multicêntrico NÃO		
Endereço Av. Augusto de Lima, 1715		Bairro Barro Preto	Cidade Belo Horizonte - MG		
Código Postal 30190-002	Telefone 31-32953566	Fax 31-3295-3115	Email rodarte@cpqrr.fiocruz.br		
Termo de Compromisso					
Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.					
Nome: _____		Assinatura			
Data: ____/____/____		Dr. Rodrigo Corrêa Oliveira DIRETOR CENTRO DE PESQUISAS RENÉ RACHOU			
Vinculada					
Nome Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia de Minas Gerais - HEMOMINAS		CNPJ 26.388.330/0001-90	Nacional/Internacional Nacional		
Unidade/Órgão Unidade de Triagem/Diagnóstico Laboratorial		Participação Estrangeira NÃO	Projeto Multicêntrico NÃO		
Endereço		Bairro	Cidade		

http://portal2.saude.gov.br/sisnep/pesquisador/folha_rosto.cfm?vcod=356907

17/7/2010

8.1 Folha de rosto – Projeto de Pesquisa enviado ao CEP/MS - *continuação*

Planos de Saúde - Servidor

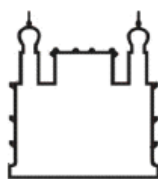
Page 2 of 2

Alameda Ezequiel Dias, 321		Santa Efigênia	Belo Horizonte - MG
Código Postal 30130-110	Telefone 031-3248.4569	Fax 031-3248-4530	Email biotec@hemominas.mg.gov.br
Termo de Compromisso Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares. Nome: _____ Data: ____/____/____ Assinatura _____			

O Projeto deverá ser entregue no CEP em até 30 dias a partir de 17/07/2010. Não ocorrendo a entrega nesse prazo esta Folha de Rosto será INVALIDADA.

[Voltar](#)[IMPRIMIR](#)

8.2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisa René Rachou

Comitê de Ética

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: “Doença de Chagas em Bambuí: estado atual e vigilância”.

Pesquisador Responsável: Dr. João Carlos Pinto Dias

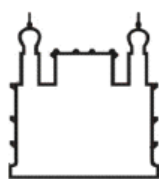
Através do Centro de Pesquisas René Rachou, o Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da doença de Chagas vem por meio deste documento convidá-lo a participar do no projeto de pesquisa intitulado “Doença de Chagas em Bambuí: estado atual e vigilância”, coordenado pelo Dr. João Carlos Pinto Dias.

Este projeto tem o objetivo de analisar as condições atuais de transmissão da doença de Chagas em nosso município, através do exame de pessoas sob risco de transmissão pelo “barbeiro”, pela gestação de mãe chagásica ou pela contaminação após recepção de sangue de doador chagásico. Será avaliada a situação epidemiológica atual, principais áreas com risco de transmissão e principais fatores socioeconômicos relacionados à doença. No caso das pessoas estudadas, os exames realizados no sangue deverão indicar inicialmente se a pessoa é ou não portadora de doença de Chagas, mediante a pesquisa de anticorpos contra o micróbio causador, em laboratório (técnica de sorologia). Para aquelas cujo teste for positivo (pessoa infectada) haverá nova coleta confirmatória e – para alguns casos – coleta de sangue em maior volume (30 cc) destinada ao isolamento do parasito. Conforme os resultados e a juízo médico, a pessoa receberá atendimento médico especializado no Posto Emmanuel Dias de Bambuí e, quando for o caso, tratamento específico com o remédio Benzonidazol (antigo Rochagan®). Todos aqueles com exame sorológico positivo farão exame clínico e eletrocardiográfico no Posto de Estudos Avançados Emmanuel Dias (PAEED), para avaliar o estágio da doença. Para gestantes positivas haverá acompanhamento de sua gravidez e exames clínicos e sorológicos do recém nascido, para avaliar a transmissão gestacional e tratar eventuais casos de bebês infectados.

Para aqueles pacientes que aceitarem participar do projeto de pesquisa, após esclarecimento de todas as etapas do projeto e assinatura deste termo de consentimento, o paciente será convidado para realizar doação de sangue via punção venosa e/ou punção digital e fazer o eletrocardiograma. As coletas serão realizadas por pessoal treinado em saúde podendo ser feitas a domicílio, na Policlínica ou no Posto Emmanuel Dias. Nenhum dos dois processos de punção sanguínea consiste em procedimentos de risco a ponto de afetar a saúde do paciente voluntário.

Para pessoas menores de 18 anos ou social e psicologicamente impedidos, este termo de consentimento deverá ser assinado por adulto legitimamente responsável, na forma da Lei.

8.2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - *continuação*



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisa René Rachou

Comitê de Ética

Vale ressaltar que a participação de cada paciente nesta pesquisa não é obrigatória e a qualquer momento o paciente pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição onde está sendo realizada a pesquisa.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação. Cada paciente recebe uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço institucional do pesquisador principal e do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas René Rachou, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento. Logo abaixo, encontram-se o endereço do pesquisador responsável e telefone para contato:

ENDEREÇO PARA CONTATO COM O PESQUISADOR RESPONSÁVEL:

Nome do pesquisador principal: Dr. João Carlos Pinto Dias

Endereço do pesquisador principal: Centro de Pesquisas René Rachou - Laboratório de triatomíneos e epidemiologia da doença de Chagas, sala 241. Avenida Augusto de Lima, nº 1715, bairro Barro Preto, Belo Horizonte, Minas Gerais, CEP: 30190-002.

Telefone para contato: (31) 3349-7763 ou (31) 3349-7761

ENDEREÇO PARA CONTATO COM O COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO CENTRO DE PESQUISAS RENÉ RACHOU:

Nome da secretária do Comitê de Ética em Pesquisa: Jéssica Pereira Camêlo

Endereço: Centro de Pesquisas René Rachou. Avenida Augusto de Lima, nº 1715, bairro Barro Preto, Belo Horizonte, Minas Gerais, CEP: 30190-002.

Telefone para contato: (31) 3349-7825

Após ler e receber explicações sobre a pesquisa, e ter meus direitos de:

1. Receber resposta a qualquer pergunta e esclarecimento sobre os procedimentos, riscos, benefícios e demais informações relacionados à pesquisa;
2. Retirar o consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo;
3. Não ser identificado e ser mantido o caráter confidencial das informações relacionadas à privacidade.
4. Procurar esclarecimentos com o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisa René Rachou, através do telefone (31) 3349-7825, em caso de dúvidas ou notificação de acontecimentos não previstos,

8.2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - *continuação*



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisa René Rachou

Comitê de Ética

Eu, _____ declaro estar
ciente do exposto e desejo participar do projeto/ou desejo que *(em caso de pesquisa com menores ou*
incapacitados) _____
participe da pesquisa.

Nome do sujeito/ ou do responsável: _____

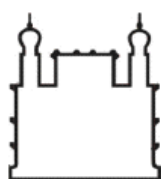
Assinatura: _____

Eu, **Christiane Santos Matos**, declaro que forneci todas as informações referentes ao projeto
ao participante e/ou responsável.

Assinatura: _____

_____ de _____ de _____ .
Local/data

8.3 Termo de informação para crianças e adolescentes



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisa René Rachou

Comitê de Ética

TERMO DE INFORMAÇÃO PARA CRIANÇAS E ADOLESCENTES

Título do Projeto: “Doença de Chagas em Bambuí: estado atual e vigilância”.

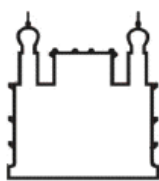
Pesquisador Responsável: Dr. João Carlos Pinto Dias

Através do Centro de Pesquisas René Rachou, o Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da doença de Chagas vem convidá-lo para participar do projeto de pesquisa científica sobre a Doença de Chagas em Bambuí, que tem como coordenador o cientista Dr. João Carlos Pinto Dias.

Este projeto tem o objetivo de analisar as condições atuais de transmissão da doença de Chagas em nosso município, através do exame de sangue de pessoas sob risco de transmissão pelo “barbeiro”, durante a gravidez ou pela contaminação após receber sangue de doador chagásico. Será avaliada a situação epidemiológica atual, principais áreas com risco de transmissão e principais fatores socioeconômicos relacionados à doença. No caso das pessoas estudadas, os exames realizados no sangue deverão indicar inicialmente se a pessoa é ou não portadora de doença de Chagas. Para aquelas cujo teste for positivo (pessoa infectada) haverá nova coleta confirmatória e – para alguns casos – coleta de sangue em maior volume (30 cc) destinada ao isolamento do parasito. Conforme os resultados e orientação médica, a pessoa será convidada a receber atendimento médico especializado no Posto Emmanuel Dias de Bambuí e, quando for o caso, tratamento específico com o remédio Benzonidazol (antigo Rochagan®). Todos aqueles com exame sorológico positivo farão exame clínico e eletrocardiográfico no Posto de Estudos Avançados Emmanuel Dias (PAEED), para avaliar o estágio da doença.

Para aquelas pessoas que aceitarem participar do projeto de pesquisa, após esclarecimento de todas as etapas do projeto e assinatura deste termo de informação, o participante será convidado para realizar doação de sangue por profissionais treinados em saúde podendo ser feitas a domicílio, na Policlínica ou no Posto Emmanuel Dias. O processo de punção digital não consiste em procedimento de risco a ponto de afetar a saúde do paciente voluntário.

8.3 Termo de informação para crianças e adolescentes - *continuação*



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisa René Rachou

Comitê de Ética

Vale ressaltar que a participação de cada pessoa nesta pesquisa não é obrigatória e a qualquer momento o paciente pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo para o pesquisador ou a instituição onde está sendo realizada a pesquisa.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação. Cada participante recebe uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço institucional do pesquisador principal e do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas René Rachou, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento. Logo abaixo, encontram-se o endereço do pesquisador responsável e telefone para contato:

ENDEREÇO PARA CONTATO COM O PESQUISADOR RESPONSÁVEL:

Nome do pesquisador principal: João Carlos Pinto Dias

Endereço do pesquisador principal: Centro de Pesquisas René Rachou - Laboratório de triatomíneos e epidemiologia da doença de Chagas, sala 241. Avenida Augusto de Lima, nº 1715, bairro Barro Preto, Belo Horizonte, Minas Gerais, CEP: 30190-002.

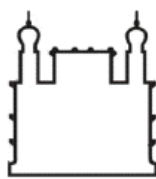
Telefone para contato: (31) 3349-7763 ou (31) 3349-7761

ENDEREÇO PARA CONTATO COM O COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO CENTRO DE PESQUISAS RENÉ RACHOU:

Nome da secretária do Comitê de Ética em Pesquisa: Jéssica Pereira Camêlo

Endereço: Centro de Pesquisas René Rachou. Avenida Augusto de Lima, nº 1715, bairro Barro Preto, Belo Horizonte, Minas Gerais, CEP: 30190-002.

Telefone para contato: (31) 3349-7825

8.3 Termo de informação para crianças e adolescentes - *continuação*

Ministério da Saúde

FIOCRUZ**Fundação Oswaldo Cruz****Centro de Pesquisa René Rachou****Comitê de Ética**

Após ler e receber explicações sobre a pesquisa, e ter meus direitos de:

1. receber resposta a qualquer pergunta e esclarecimento sobre os procedimentos, riscos, benefícios e demais informações relacionados à pesquisa;
2. deixar de participar do projeto a qualquer momento;
3. não ser identificado e ser mantido o caráter confidencial das informações relacionadas à privacidade.
4. procurar esclarecimentos com o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisa René Rachou, através do telefone (31) 3349-7825, em caso de dúvidas,

Eu, _____
 declaro estar ciente do exposto e desejo participar do projeto/ou desejo que *(em caso de*
pesquisa com menores ou incapacitados)

 participe da pesquisa.

Nome do sujeito/ ou do responsável: _____

Assinatura: _____

Eu, _____,
 declaro que forneci todas as informações referentes ao projeto ao participante e/ou responsável.

Assinatura: _____

_____ de _____ de _____ .
 Local/data

8.4 Termo de Compromisso das Instituições Parceiras



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisa René Rachou

Comitê de Ética

TERMO DE COMPROMISSO DAS INSTITUIÇÕES PARCEIRAS

Título do Projeto: “Doença de Chagas em Bambuí: estado atual e vigilância”.

Pesquisador Responsável: Dr. João Carlos Pinto Dias

Através do Centro de Pesquisas René Rachou, o Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da doença de Chagas vem por meio deste documento solicitar a parceria nas atividades inerentes ao projeto de pesquisa intitulado “Doença de Chagas em Bambuí: estado atual e vigilância”, coordenado pelo Dr. João Carlos Pinto Dias, ao Posto de Estudos Avançados Emmanuel Dias (PAEED), em Bambuí, Minas Gerais.

Este projeto tem o objetivo de analisar as condições atuais de transmissão da doença de Chagas em nosso município, através do exame de pessoas sob risco de transmissão pelo “barbeiro”, pela gestação de mãe chagásica ou pela contaminação após recepção de sangue de doador chagásico. Será avaliada a situação epidemiológica atual, principais áreas com risco de transmissão e principais fatores socioeconômicos relacionados à doença. No caso das pessoas estudadas, os exames realizados no sangue deverão indicar inicialmente se a pessoa é ou não portadora de doença de Chagas, mediante a pesquisa de anticorpos contra o micróbio causador, em laboratório (técnica de sorologia). Para aquelas cujo teste for positivo (pessoa infectada) haverá nova coleta confirmatória e – para alguns casos – coleta de sangue em maior volume (30 cc) destinada ao isolamento do parasito. Conforme os resultados e a juízo médico, a pessoa receberá atendimento médico especializado no Posto Emmanuel Dias de Bambuí e, quando for o caso, tratamento específico com o remédio Benzonidazol (antigo Rochagan®). Todos aqueles com exame sorológico positivo farão exame clínico e eletrocardiográfico no Posto de Estudos Avançados Emmanuel Dias (PAEED), para avaliar o estágio da doença. Para gestantes positivas haverá acompanhamento de sua gravidez e exames clínicos e sorológicos do recém nascido, para avaliar a transmissão gestacional e tratar eventuais casos de bebês infectados.

8.4 Termo de Compromisso das Instituições Parceiras – *continuação*



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisa René Rachou

Comitê de Ética

Vale ressaltar que a participação do PAEED nesta pesquisa não é obrigatória e a qualquer momento a instituição pode desistir de participar do projeto de pesquisa.

Neste contexto, seria de responsabilidade do PAEED a disponibilização das informações referentes aos pacientes chagásicos atendidos no PAEED, bem como dos resultados dos exames sorológicos de cada paciente e informações acerca do quadro clínico dos mesmos. Também será solicitado um funcionário para auxiliar nas atividades de coleta de amostras biológicas e de dados nas Escolas e no Hospital Nossa Senhora do Brasil.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre todas as informações coletadas no PAEED. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar a identificação dos pacientes. O responsável direto pelo PAEED recebe uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço institucional do pesquisador principal e do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas René Rachou, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento. Logo abaixo, encontram-se o endereço do pesquisador responsável e telefone para contato:

ENDEREÇO PARA CONTATO COM O PESQUISADOR RESPONSÁVEL:

Nome do pesquisador principal: João Carlos Pinto Dias

Endereço do pesquisador principal: Centro de Pesquisas René Rachou - Laboratório de triatomíneos e epidemiologia da doença de Chagas, sala 241. Avenida Augusto de Lima, nº 1715, bairro Barro Preto, Belo Horizonte, Minas Gerais, CEP: 30190-002.

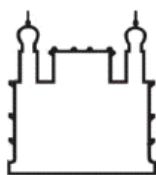
Telefone para contato: (31) 3349-7763 ou (31) 3349-7761

ENDEREÇO PARA CONTATO COM O COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO CENTRO DE PESQUISAS RENÉ RACHOU:

Nome da secretária do Comitê de Ética em Pesquisa: Jéssica Pereira Camêlo

Endereço: Centro de Pesquisas René Rachou. Avenida Augusto de Lima, nº 1715, bairro Barro Preto, Belo Horizonte, Minas Gerais, CEP: 30190-002.

Telefone para contato: (31) 3349-7825

8.4 Termo de Compromisso das Instituições Parceiras – *continuação*

Ministério da Saúde

FIOCRUZ**Fundação Oswaldo Cruz**

Centro de Pesquisa René Rachou

Comitê de Ética

Após ler e receber explicações sobre a pesquisa, e concordar com as atividades e responsabilidades propostas neste projeto de pesquisa, no que concerne à participação da Policlínica Maria Adélia Cardoso – Bambui/MG,

Eu, _____
declaro estar ciente do exposto e afirmo, como responsável pela Policlínica, que esta instituição participará do presente projeto de pesquisa.

Assinatura: _____

Eu, _____,
declaro que forneci todas as informações referentes ao projeto ao participante e/ou responsável.

Assinatura: _____

_____ de _____ de _____ .
Local/data

8.5 Publicações

EDITORIAL – (Publicado) Dias JCP & Matos CS. Seventy years of the Chagas disease Bambuí Project: celebrations and perspectives. Rev Soc Bras Med Trop, 46 (5):533-535 p, 2013.



Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 46(5):533-535, Sep-Oct, 2013
http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0175-2013

Editorial

Seventy years of the Chagas disease Bambuí Project: celebration and perspectives

João Carlos Pinto Dias^[1] and Christiane Santos Matos^[1]

[1]. Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, MG.

In December 1943, Dr. Emmanuel Dias initiated an ambitious scientific project in Bambuí (State of Minas Gerais, Brazil) to address the epidemiology and control of Chagas disease¹⁻³. Three years prior, Amílcar Martins and collaborators had described a hyperendemic incidence of the disease in that region based on the detection of 25 acute cases and a high level of housing infestation by *Triatominae* bugs^{1,4,5}. At that time, the recognition of this disease was very difficult and mainly limited to acute cases discovered by Carlos Chagas himself and Argentinian and Uruguayan researchers, namely, Romaña, Mazza and Talice^{3,5}. Invited by Martins, Dias and Romaña immediately visited Bambuí and produced a historical report with a prophetic prognosis that a local center for the study of Chagas disease would provide a tremendous improvement in the knowledge and control of this trypanosomiasis^{6,7}. In the face of difficult circumstances, Dias was charged by his director, Dr. Henrique Aragão, to proceed with this task^{1,3}. In addition to the description of other acute cases of Chagas disease, Dias's attention soon was drawn to the innumerable chronic cases, most of which presented with severe cardiopathy, which was responsible for premature deaths throughout the region. Within a few months, Dias wrote that it was urgently necessary to stop the transmission of Chagas by means of a drastic reduction in the number of domiciled vectors, an ambitious effort implemented via housing improvement, intensive health education and the use of available insecticides and physical tools such as flame-throwers, kerosene, caustic soda and hydrocyanic gas^{1-3,7,8}. In parallel, the chronic disease also needed to be addressed. This task required improved diagnostic and clinical characterization, especially for cases involving heart disease^{1,5,9,10}. Enthusiastic and ever determined, Dias recruited several colleagues from the Oswaldo Cruz Institute into various aspects of the project. These colleagues included an immunologist (Julio Muniz), pathologists (Aloisio Miranda and Magarinos Torres), an entomologist (Herman Lent), general physicians (Genard Nóbrega) and a cardiologist (Francisco Laranja). Additionally, José Pellegrino of Belo Horizonte was charged with assisting in insecticide trials

and experimental cardiopathy¹⁻³. As an immediate result, various aspects of the transmission and morbidity of Chagas disease were elucidated by means of well-planned epidemiological investigations, which were performed among non-selected regional populations and included serology coupled with entomology, electrocardiography and clinical data. Within a few years, the group had obtained an efficient insecticide (*Gammexane*) and elucidated the systematization of the basic clinical, epidemiologic and pathologic aspects of chronic cardiopathy due to Chagas disease^{1-3,5,9-11}. At the beginning, the Center was installed in a modest house rented by the Institute. In 1951, a new and modern building was constructed using state, federal and municipal resources¹ (Figure 1).



FIGURE 1 - The Emmanuel Dias Research Center in Bambuí, State of Minas Gerais, Brazil (PAEED - Posto Avançado de Pesquisas Emmanuel Dias), and its founder, Dr. Emmanuel Dias (27/07/1908-22/10/1962). Photo by João Carlos Pinto Dias: 1951.

The control activities in Bambuí had an extraordinary impact, swiftly diminishing the incidence of acute cases and, consequently, the prevalence of infection in young individuals^{1-3,7,10,11}. Convinced of an urgent need to expand the fight against triatomine bugs, Dias initiated a fact-finding tour throughout Latin America and international agencies in the middle of the 1950s, insisting that vector control was a feasible and undeferrable task^{2,3,7}. At the same time, the incidence and

Address to: Dr. João Carlos Pinto Dias. CPqRR/FIOCRUZ. Av. Augusto de Lima 1715, Barro Preto, 30190-002 Belo Horizonte, MG, Brasil.
Phone: 55 31 3349-7763
e-mail: jcpdias@cpqrr.fiocruz.br
Received 3 September 2013
Accepted 25 September 2013

EDITORIAL – (Publicado) Dias JCP & Matos CS. Seventy years of the Chagas disease Bambuí Project: celebrations and perspectives. Rev Soc Bras Med Trop, 46 (5):533-535 p, 2013.

Dias JCP and Matos CS - Seventy years of the Chagas disease Bambuí Project

severity of the disease began to be recognized in several endemic areas where the epidemiological model tested in Bambuí was implemented. By involving governors and health authorities, chiefly Mario Pinotti, the leader of Brazilian Malariology and his friend, Dias achieved the implementation of vector control throughout a large area of the States Minas Gerais and São Paulo. This trial was so successful that the results stimulated the creation of the National Programme for Chagas Disease Control^{1-3,5,7,8}. Emmanuel Dias died prematurely in 1962, although the work in Bambuí was continued by the staff of the Instituto Oswaldo Cruz and, subsequently, by the René Rachou Center, headquartered in Belo Horizonte. In 1979, the center was rechristened *Posto Avançado de Pesquisas Emmanuel Dias* (PAEED) by the president of the Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Dr. Guillard Martins Alves^{2,10}. The legacy from the pioneering first 20 years provided three basic directions: to maintain and improve vector control, to describe the natural history of human Chagas disease (HCD) via the systematic and longitudinal follow-up of infected individuals and to seek new options and tools for the medical management of chronic patients. With such a perspective, a new phase of vector control was implemented in the municipality in 1974, consisting of an epidemiological surveillance of triatomines carried out at the municipal level and supported by extensive community participation. In parallel, new insecticides were tested as replacements to the proscribed *Gammexane*; members of the pyrethroid group were mainly used because they have greater residual action and are less harmful to humans and the environment^{2,7,11}.

The dynamics of the natural foci of *Panstrongylus megistus*, the principal species that continued to invade artificial ecotopes, was thoroughly studied in the area, as was the role of sylvatic reservoirs of this parasite, mainly synanthropic marsupials. The follow-up of hundreds of patients, involving decades of evolution, revealed the progressive character of the infection and the various risk factors related to the development of the disease. In parallel, several important issues, including social aspects, diagnosis (new serologic techniques, polymerase chain reaction (PCR) and hemocultures), heart disease management, follow-up of mortality, management of digestive forms, the occurrence of co-morbidities and the specific aspects of the disease in geriatric groups, have been studied by PAEED in recent decades¹².

Today, as a product of continuous entomological surveillance and a decrease in the magnitude of outbreaks of sylvatic *P. megistus* resulting from intense anthropic action combined with an expansive rural exodus and the improvement of dwellings, the transmission of HCD is virtually suspended in Bambuí. A recent investigation among a non-selected population (1,782 individuals) showed that infected individuals beyond the fourth decade of life could no longer be identified (a unique exception being a 34-year-old woman who never lived in rural areas and whose mother is seropositive). A general disease prevalence of 7.74% is restricted to individuals greater than 50 years old, with a median age of 66 years and with no differences due to gender, in contrast with the levels of approximately 60% found in the 1950s involving all age groups¹⁰⁻¹². Independent of age, approximately 17.6% of the seropositive group has the indeterminate clinical form of HCD. Chagas heart disease

and chronic digestive disturbances due to infection were found respectively in 70.6% and 53.9% of the patients. The association of heart and digestive disturbances (cardiodigestive form) represented 40.1%.

The concomitance of HCD with other chronic and degenerative diseases increases with increasing age of the patients. Genotypes TcI and TcII of the parasite are still circulating in Bambuí among vectors, reservoirs and humans. Of 58 patient hemocultures performed, 45 (77.6%) tested positive for the TcII genotype, with two cases of mixed infection by TcI and TcII^{12,13}.

In such a landscape, studies of HCD in Bambuí are coming to a natural end. This historical endeavor has resulted in the publication of more than 400 scientific papers and dozens of theses over the last 70 years and has provided the continuous training of professionals and an immeasurable service to the community, the country and science. In conclusion, the entire history of this small center should be celebrated as a dream of pioneers and the realization of a beautiful struggle against an important and often neglected illness. The center's mission was fulfilled with extraordinary success.

The present moment necessitates definition of the future of PAEED. Among several options, given the long history of PAEED and the epidemiological setting of this region, the best thing to do seems to be the transformation of this research center into a Regional Service Center of Reference and Research in Cardiology, with joint leadership by the Oswaldo Cruz Foundation, the City Hall of Bambuí and the Regional Health System of the State of Minas Gerais. After several productive preliminary interactions, State of Minas Gerais and the City of Bambuí have demonstrated enthusiastic support for this proposition, and FIOCRUZ must now assess its own interest and willingness to implement this new mission.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

REFERENCES

1. Dias E. O Centro de Estudos e Profilaxia da Moléstia de Chagas em Bambuí, Estado de Minas Gerais. Notícia histórica em homenagem ao Professor Henrique Aragão. Mem Inst Oswaldo Cruz 1956; 54:309-357.
2. Dias JCP. Cinquenta anos de Bambuí. Rev Soc Bras Med Trop 1993; 26 (supl II):4-8.
3. Kropf SP. Doença de Chagas, Doença do Brasil: ciência, saúde e nação, 1909-1962. Rio de Janeiro: Fiocruz Editora; 2009.
4. Martins AV, Versiani OC, Tupinambá AA. Sobre 25 casos agudos de moléstia de Chagas observados em Minas Gerais. Mem Inst Ezequiel Dias 1940; 3-4:1-66.
5. Coura JR. Síntese histórica sobre a evolução dos conhecimentos sobre a doença de Chagas. In: Dias JCP, Coura JR, editors. Clínica e Terapêutica da doença de Chagas. Uma abordagem para o clínico geral. Rio de Janeiro: Fiocruz Editora; 1997; p. 469-486.
6. Dias JCP. A descoberta do foco e a instalação do Posto do IOC em Bambuí. In: Dias JCP, editor. Dr. Emmanuel Dias (1908-1962). Rio de Janeiro: Fiocruz Editora; 2008. p. 142-147.

EDITORIAL – (Publicado) Dias JCP & Matos CS. Seventy years of the Chagas disease Bambuí Project: celebrations and perspectives. Rev Soc Bras Med Trop, 46 (5):533-535 p, 2013.

Rev Soc Bras Med Trop 46(5):533-535, Sep-Oct, 2013

7. Dias JCP, Schofield CJ. The evolution of Chagas disease (American Trypanosomiasis) control after 90 years since Carlos Chagas discovery. Mem Inst Oswaldo Cruz 1999; 94:103-122.
8. Dias E. Profilaxia da doença de Chagas. O Hospital 1957; 51:53-68.
9. Laranja FS, Dias E, Nóbrega GC, Miranda A. Chagas' disease. A clinical, epidemiologic and pathologic study. Circulation 1956; 14:1035-1060.
10. Dias JCP. Doença de Chagas em Bambuí, Minas Gerais, Brasil. Estudo clínico-epidemiológico a partir da fase aguda entre 1940 e 1982. [Thesis]. [Belo Horizonte]: Universidade Federal de Minas Gerais; 1982.
11. Laranja FS, Dias E, Duarte E, Pellegrino J. Observações clínicas e epidemiológicas sobre a moléstia de Chagas no Oeste de Minas Gerais. O Hospital 1951; 40: 137-192.
12. Matos CS, Santos JE, Dias JCP. Present situation of human Chagas disease prevalence in Bambuí municipality, Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2013; *In press*.
13. Zingales B, Andrade SG, Briones MRS, Campbell DA, Chiari E, Fernandes O, et al. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. Mem Inst Oswaldo Cruz 2009; 107:1051-1054.

ARTIGO 2 – (Publicado) Matos C, Santos-Júnior JE, Cardoso FA, Furtado E, Dias JCP. Current Situation and perspectives regarding Chagas disease in midwestern of Minas Gerais, Brasil. Mem Inst Oswaldo Cruz 1-5 p, 2014.

374 Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 109(3): 374-378, May 2014

Current situation and perspectives regarding human Chagas disease in midwestern of the state of Minas Gerais, Brazil

Christiane Santos Matos^{1,*}, José Eloy dos Santos Júnior¹,
Fernanda Alvarenga Cardoso Medeiros², Eliana Furtado², João Carlos Pinto Dias^{1,3}

¹Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas, Centro de Pesquisa René Rachou-Fiocruz, Belo Horizonte, MG, Brasil ²Laboratório de Parasitologia, Fundação Ezequiel Dias, Belo Horizonte, MG, Brasil

³Posto Avançado de Pesquisas Emmanuel Dias, Bambuí, MG, Brasil

Recognising the importance of Chagas disease in Brazil, Bambuí set up epidemiological surveillance for Chagas disease in 1974 and was the first municipality to do so. To ascertain the current epidemiology of Chagas disease in this municipality, 1.782 blood samples from the general population were analysed; 7.7% of samples were found to be seropositive for Chagas disease. A strong positive correlation between increasing age and Chagas disease was evident in both genders, with the highest prevalence in individuals aged over 60 years. Clinically, the cardiodigestive form of Chagas disease was the most common in these samples. These data confirm the interruption of Trypanosoma cruzi transmission, in parallel with a still important residual morbidity of Chagas disease in the county, thus supporting political decisions that will prioritise epidemiological surveillance and medical treatment of Chagas disease in the coming years.

Key words: Bambuí - Chagas disease - seroprevalence

Chagas disease is an infection caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi* (Chagas 1909), which can be transmitted to humans in various ways, such as through infected bugs (Insecta, Hemiptera, Reduviidae), via a congenital route or through a blood transfusion. Chagas disease is an important medical and social problem in many Latin American countries and is associated with significant morbidity and mortality. In Brazil, according to the National Serologic Survey conducted from 1975-1980, the states with the highest rates of prevalence were Rio Grande do Sul, Minas Gerais (MG), Bahia (BA) and Goiás. Currently, the prevalence of Chagas disease in these states remains significant, especially among the elderly (Ostermayer et al. 2011). Approximately 1.5-2 million people in Brazil are infected with *T. cruzi* and 20% of the population are at risk of acquiring the infection (Rassi Jr et al. 2010).

MG has historical significance in the study of Chagas disease, with high rates of morbidity and mortality over the past eight decades. Currently, it is estimated that there are approximately 600 thousand infected individuals living in the state. In parallel, MG remained infested with important household triatomine vectors for several decades, chiefly before 1980 (Gontijo et al. 2009, Silveira 2011).

The recent history of Chagas disease control started in the late 1940s in Bambuí, a western municipality of MG, with the discovery of 25 acute cases of Chagas dis-

ease and the first trials of effective insecticides against domestic triatomines. Since 1943, under the leadership of Emmanuel Dias, the Center for the Study and Prevention of Chagas Disease, now the Emmanuel Dias Research Center (PAEED), has published numerous studies related to the clinical diagnosis, epidemiology, treatment and control of vectorial transmission of *T. cruzi* infection and others. Insecticide campaigns conducted between 1944-1958 by the PAEED contributed to the reduction of the household vector, leading to the disappearance of cases of acute Chagas disease in urban and suburban areas of Bambuí (Dias 1945, 1982). The model developed by the PAEED served as the basis for the Chagas Disease Control Program carried out by the Superintendence of Public Health Campaigns (Vinhaes & Dias 2000). In 1974, Bambuí was the first Brazilian municipality to implement epidemiological surveillance with community participation (Dias & Garcia 1978, Dias & Dias 1985). In spite of the success of the vector control program, Bambuí still stands out among the other MG municipalities as one of the areas of greatest morbidity and mortality for Chagas disease, which are today restricted to adult and elderly populations (Dias 2009, Lima-Costa et al. 2010).

Given the historical importance of Chagas disease in Bambuí, a clinical and epidemiological study of the disease was conducted in the county to evaluate the impact of Chagas disease control activities and contribute to the current management of the disease in endemic areas.

The municipality of Bambuí is located in midwestern MG, in a region called the Campos das Vertentes (20°00'21"S 45°58'37"W), and is 270 km from the capital, Belo Horizonte (Fig. 1). It has an area of 1,455.82 km², comprising approximately 22,734 inhabitants (IBGE 2010). Bambuí is currently divided into 203 localities, of which 179 (88%) are rural, and its economy is based on milk, coffee, rice, corn, soybeans and sug-

doi: 10.1590/0074-0276130385

Financial support: FAPEMIG, CNPq, CPqRR-Fiocruz

* Corresponding author: csmatos@gmail.com

Received 30 July 2013

Accepted 17 December 2013

online | memorias.ioc.fiocruz.br

ARTIGO 2 – (Publicado) Matos C, Santos-Júnior JE, Cardoso FA, Furtado E, Dias JCP. Current Situation and perspectives regarding Chagas disease in midwestern of Minas Gerais, Brasil. Mem Inst Oswaldo Cruz 1-5 p, 2014.

Prevalence of Chagas disease in midwestern MG • Christiane Santos Matos et al. 375

arcane. A cross-sectional study was conducted from February 2011-March 2012 in the resident population, in users from the Municipal Unique Health System and in residents of rural areas where household triatomine detection had occurred between 2004-2010. Every study participant had to (i) sign a consent form (National Committee in Ethical Research/Brazilian Ministry of Health, register 0008.0.245.000-09), (ii) register personal data (address, nationality, date of birth and gender) and (iii) permit a blood sample collection (3 mL) for serological analysis according to established protocols. The samples

were tested by the Laboratory of Parasitology of the Ezequiel Dias Foundation (Belo Horizonte) for anti-*T. cruzi* IgG antibodies using an enzyme immunoassay (ELISA) (BioManguinhos[®]), indirect haemagglutination-inhibition (BioMérieux) and indirect immunofluorescence (IFI) (BioManguinhos). Any samples found to be positive in at least two serological reagent tests were retested to confirm the result. All the data were tabulated (Excel 2010) and analysed statistically (BioEstat v.5.0 - Windows[®]) using the chi-square test and the Pearson correlation ($p < 0.05$ and 95% confidence interval).

A sample size of 393 individuals was calculated using $n_0 = 1/E^2$ and $S = N \cdot n_0/N + n_0$ [where n_0 = initial sample, E = margin of error (5%), S = sample and N = population]. Serum samples were collected from 1,782 Bambuí residents, of whom 1,376 (77.2%) were natives of this municipality, 175 (9.8%) were from neighbouring municipalities, 165 (9.3%) were from other MG municipalities and 66 (3.7%) were from other federal units. Women represented 62.8% (1,119/1,782) of the study population and men 37.2% (663/1,782). The study sample was considered representative of the municipality, covering 49% (99/203) of the municipal localities (all urban localities and 75 rural localities). Individuals in the study were aged between four-99 years, with a median of 49 years (average = 48 ± 18.5). The 138 samples positive for anti-*T. cruzi* antibodies represented an overall prevalence of 7.7% chagasic infection, with no significant difference between genders (51 ♂ and 87 ♀, $X^2 = 0.004$, $p = 0.94$) (Table I). In both genders, the positive samples were in individuals aged over 60 years, except for two women under the age of 45 (Fig. 2). The most



Fig. 1: Brazil map highlighting the state of Minas Gerais (MG) (A) and MG map showing Bambuí location and its neighbouring municipalities, referring to the capital Belo Horizonte (B).

TABLE I

Number of patients with positive serology for *Trypanosoma cruzi* according to place of birth, gender and age group obtained in a serological survey conducted in the municipality of Bambuí, state of Minas Gerais (MG), Brazil

	Place of birth	Individuals n (%)	♂ (n)	♀ (n)	Individuals by age group (in years) (n)					
					30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80 and >
Municipalities	Bambuí	106 (76.82)	42	64	1	4	10	41	35	15
Neighbouring municipalities	Medeiros	10 (7.26)	1	9	-	-	-	4	6	-
	Iguatama	6 (4.35)	2	4	-	1	2	1	1	1
	Corrego Danta	4 (2.90)	2	2	-	-	-	1	2	1
	Tapirai	3 (2.18)	1	2	-	-	-	2	1	-
	Dorasópolis	2 (1.45)	1	1	-	-	-	2	-	-
	Luz	1 (0.72)	1	-	-	-	-	-	1	-
	Piumhi	1 (0.72)	1	-	-	-	-	1	-	-
Other MG municipalities	São Roque de Minas	1 (0.72)	-	1	-	-	-	1	-	-
	São Pedro da Ponte Firme	1 (0.72)	-	1	-	-	-	1	-	-
	Janaúba	1 (0.72)	-	1	-	1	-	-	-	-
Other federal units	Monte Carmelo	1 (0.72)	-	1	-	-	-	1	-	-
	Espírito Santo	1 (0.72)	-	1	-	-	-	1	-	-
Total		138 (100)	51	87	1	6	12	56	46	17

ARTIGO 2 – (Publicado) Matos C, Santos-Júnior JE, Cardoso FA, Furtado E, Dias JCP. Current Situation and perspectives regarding Chagas disease in midwestern of Minas Gerais, Brasil. Mem Inst Oswaldo Cruz 1-5 p, 2014.

376 Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 109(3), May 2014

frequently observed clinical form of Chagas disease was the cardiodigestive form (Table II). There was a strong positive correlation between age and Chagas disease in both men ($r = 0.75$, $p = 0.008$) and women ($r = 0.73$, $p = 0.01$). There was a higher number of both false negatives and false positives in the haemagglutination test than in either the ELISA or IFI tests (Table III).

The number of *T. cruzi* seropositive individuals in the study reflects the impact of the vector control programme performed regularly in Bambuí since the 1950s and the Chagas disease surveillance initiated in 1974. Historical data reported overall prevalence rates above 50% in the 1940s and 1950s, with individuals infected from early childhood, in contrast with the current survey (Dias & Brant 1952, Dias 1982). Control activities, started in 1955 and covering the whole municipality, immediately resulted in the disappearance of acute cases and was followed by a gradual reduction in chronic cases at low ages (Dias 1974). These data (Dias 1974) strongly suggest that vectorial transmission of Chagas disease was halted in the late 1960s. Similar data have been recorded in the state of São Paulo (SP) since the 1970s, through systematic serological surveys of populations in areas undergoing vector control programmes, with striking reduction of *T. cruzi* seropositivity in younger individuals (de Souza et al. 1984). According to the PAEED records, the last acute case of Chagas disease was diagnosed in Bambuí in 1969, just prior to the establishment of the surveillance work in the municipality. In spite of more general factors, such as demographic emptying of the countryside and a progressive reduction of poor quality rural housing, the main determinant in reducing the Chagas disease prevalence in Bambuí must be considered to be due to the fumigation programme begun in the 1940s and optimised in the following decades. According to previously published data, Bambuí was virtually free of domestic triatomines

between 1957-1961, especially after a widespread purge carried out between 1956-1958; *Triatoma infestans* was last detected in Bambuí in 1977 (Dias 1982). Since the beginning of 1970, the population of *T. infestans* has decreased drastically throughout Brazil, with only occasional residual foci in BA (Silveira 2011). Following the control of this triatomine, native (autochthonous) species such as *Panstrongylus megistus*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata*, *Triatoma sordida*, *Triatoma rubrovaria*, *Rhodnius neglectus* and *Rhodnius nasutus* can occasionally invade the domestic environment and even begin small colonies (Forattini 1980, Schofield 1984). The existence of *P. megistus* in Bambuí's natural environment may result in the eventual invasion of domestic ecotopes by adult all over the municipality, mainly during the warmer months of the year. Since 1974, notifications of this triatomine have progressively declined, ranging from 80-90 in the early years, to between 15-25 of annual reports in the last seven years (Villela 2008, Dias 2009). These domestic captures are usually of adult insects, most likely originating from sylvatic ecotopes within the vicinity of the house; these insects could colonise both the intradomiciliary and peridomiciliary environments if the focus is not detected and eliminated (dos Santos Júnior et al. 2011). The reduction in the prevalence of human infections of *T. cruzi* after the effective control of household vectors was predicted by Emmanuel Dias in 1957 and was observed through seroepidemiological surveys in 1965, 1974 and 1980. This reduction is consistent with the reduction observed in SP from 1968 (Dias 1959, Silva-Rocha 1979, de Souza et al. 1984). Currently, the transmission of human Chagas disease has virtually disappeared in Bambuí. In parallel with vector prophylaxis, effective control of the few blood transfusions that occur in the municipality (by the official system of the Foundation Center of Hematology of the State of Minas Gerais) and virtual disappearance of congenital transmission of Chagas disease (because of the absence of infection in women of childbearing age) have been observed in Bambuí (Gontijo et al. 2009, Moraes-Souza & Ferreira-Silva

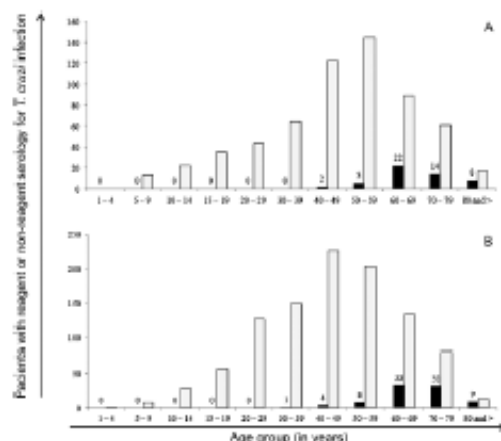


Fig. 2: number of seropositivity for *Trypanosoma cruzi* of men (A) and women (B) according to age group. The gray bars indicate negative results and the black positive serology.

TABLE II
Classification of patients
according to Chagas disease clinical form

Clinical form	Gender		
	Female n (%)	Male n (%)	Total n (%)
Indeterminate	6 (8.82)	8 (24.24)	14 (13.86)
Digestive	7 (10.29)	0 (0)	7 (6.93)
Cardiac	20 (29.41)	10 (30.30)	30 (29.70)
Cardiodigestive	35 (51.47)	15 (45.45)	50 (49.50)
Total	68 (100)	33 (100)	101 (100)

this work still have 37 patients (19 women and 18 men) who did not attend the clinical consultation.

ARTIGO 2 – (Publicado) Matos C, Santos-Júnior JE, Cardoso FA, Furtado E, Dias JCP. Current Situation and perspectives regarding Chagas disease in midwestern of Minas Gerais, Brasil. Mem Inst Oswaldo Cruz 1-5 p, 2014.

Prevalence of Chagas disease in midwestern MG • Christiane Santos Matos et al. 377

TABLE III
Performance of serological tests for evaluation by *Trypanosoma cruzi* infection in the general population sampled in the municipality of Bambuí, state of Minas Gerais (MG), Brazil

ELISA n (%)	Indirect immunofluorescence n (%)			Haemagglutination-inhibition n (%)		
	R	NR	IND	R	NR	IND
R	139 (7.8)	125 (89.9)	12 (8.6)	130 (93.5)	9 (6.4)	-
NR	1,639 (92)	-	1,638 (99.9)	21 (1.28)	1,617 (98.6)	1 (0.06)
IND	4 (0.2)	-	3 (75.0)	2 (50.0)	2 (50.0)	-

n = 1,782. IND: indeterminated; NR: non-reagent; R: reagent.

2011, Ostermayer et al. 2011). A more detailed investigation of the Chagas disease transmission in the two < 45-year-old women in this study who were infected with *T. cruzi* discovered that their mothers had Chagas disease. This indicates that congenital transmission may have occurred, because there were no reports of triatomine bugs, blood transfusion or oral infection. According to Dias (1982), the last reported case of vectorial transmission in Bambuí occurred in 1968. One of the *T. cruzi*-infected younger women had two children; both children were tested for *T. cruzi* infection, with non-reagent serological results. The discordant results observed were expected. We followed the recommendations of the Brazilian Consensus in Chagas Disease (MS 2005) for the interpretation of results: every individual had to have at least two positive serological results to be considered infected with *T. cruzi*. The present investigation revealed a significant residue of human Chagas disease in individuals who were certainly infected many years previously. In this context, the large number of patients with the cardiodigestive form of Chagas disease was expected. Due to the success of the vector control programme and no antecedent transfusions, it is believed that these two cases of Chagas disease in younger women were due to congenital infection, as the PAEED records showed that their mothers were *T. cruzi* seropositive. Ethically, the infected individuals need follow-up medical care consisting of parasitology and clinical investigations, electrocardiographic and radiological examinations, as well as supportive and specific treatment where appropriate. As the next step in this survey, this medical care is in the final review stage and will be the subject of further publications.

ACKNOWLEDGEMENTS

The whole PAEED and Policlínica Maria Adélia Cardoso teams, for the important support in the field works and the laboratory analyzes.

REFERENCES

- Chagas C 1909. Nova tripanosomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen. n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1: 11-80.
- de Souza AG, Valério-Wanderley DM, Buralli GM, de Andrade JCR. 1984. Consolidation of the control of Chagas disease vectors in the state of São Paulo. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 79 (Suppl): 125-131.
- Dias E 1945. Um ensaio de profilaxia de moléstia de Chagas, Ministério da Educação e Saúde/Departamento Nacional de Saúde/Instituto Oswaldo Cruz/Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, 116 pp.
- Dias E 1959. Profilaxia da doença de Chagas. *J Bras Med* 1: 939-954.
- Dias E, Brant TC 1952. Inquérito sobre doença de Chagas realizado nas localidades de Pedra Branca e Sertãozinho, município de Bambuí, Minas Gerais. *Rev Bras Malariol Doencas Trop* 4: 227-230.
- Dias JCP 1974. Perspectivas para o controle da doença de Chagas humana em área através de profilaxia domiciliar com inseticidas de ação residual. *Experiência de Bambuí, Minas Gerais, Brasil*, MSc Thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 34 pp.
- Dias JCP 1982. Doença de Chagas em Bambuí, Minas Gerais, Brasil: estudo clínico-epidemiológico a partir da fase aguda, entre 1940 e 1982, PhD Thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 362 pp.
- Dias JCP 2009. Longitudinal studies on human Chagas disease in Bambuí, Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 42: 61-72.
- Dias JCP, Dias RB 1985. Participação da comunidade no controle da doença de Chagas. *Ann Soc Belg Med Trop* 65 (Suppl. 1): 127-135.
- Dias JCP, Garcia ALR 1978. Vigilância epidemiológica com participação comunitária. Um programa de enfermagem de Chagas. *Bol Oficina Sanit Panamá* 84: 533-544.
- dos Santos Junior JE, Diotaiuti L, Dias JCP 2011. First report of *Panstrongylus megistus* sylvatic focus in municipality of Bambuí, state of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 106: 510-513.
- Forattini OP 1980. Biogeografia, origem e distribuição da domiciliação de triatomíneos no Brasil. *Rev Saude Publica* 14: 265-299.
- Gentijo ED, Andrade GMQ, Santos SE, Galvão LMC, Moreira EF, Pinto FS, Dias JCP, Jaumario JN 2009. Triagem neonatal da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* em Minas Gerais, Brasil: transmissão congênita e mapeamento das áreas endêmicas. *Epidemiol Serv Saude* 18: 243-254.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística 2010. Cidades@, Brasília. Available from: ibge.gov.br/cidadesat.
- Lima-Costa MF, Peixoto SV, Ribeiro AL 2010. Chagas disease and mortality in old age as an emerging issue: 10 year follow-up of the Bambuí population-based cohort study (Brazil). *Int J Cardiol* 145: 362-363.
- Moraes-Souza H, Ferreira-Silva MM 2011. O controle da transmissão transfusional. *Rev Soc Bras Med Trop* 44: 64-67.
- Silva-Rocha EO 1979. Profilaxia. In Z Brenner, Z Andrade, *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 425-449.
- Silveira AC 2011. O inquérito triatomínico (1975-1983). *Rev Soc Bras Med Trop* 44: 26-32.
- Villala MM 2008. Vigilância entomológica da doença de Chagas na região centro-oeste de Minas Gerais, Brasil, PhD Thesis, Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte, 162 pp.
- Vinhas MC, Dias JCP 2000. Doença de Chagas no Brasil. *Cad Saude Publica* 16: 7-12.
- MS - Ministério da Saúde Brasil 2005. Consenso brasileiro em doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop* 38 (Suppl. 3): 7-29.
- Ostermayer AL, Passos ADC, Silveira AC, Ferreira AW, Macedo V, Prata AR 2011. O inquérito nacional de soroprevalência de avaliação do controle da doença de Chagas no Brasil (2001-2008). *Rev Soc Bras Med Trop* 44: 108-121.
- Rassi Jr A, Rassi A, Marin-Neto JA 2010. Chagas disease. *Lancet* 375: 1388-1402.
- Schofield CJ 1984. *Triatominae: biology and control*, Euro Communicated, United Kingdom, 76 pp.

9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreu LL. Doença de Chagas – Estudo da mortalidade no município de Pains, Minas Gerais [Tese]. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 87 p, 1977.

Akhavan D. Análise de custo-efetividade do programa de controle da doença de Chagas no Brasil. Brasília: OPS/OMS, 271 p, 2000.

Almeida CE, Vinhaes MC, Almeida JR, Silveira AC, Costa J. Monitoring the Domiciliary and Peridomiciliary Invasion Process of *Triatoma rubrovaria* in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, 95 (6): 761-768 p, 2000.

Andrade SG & Andrade ZA. Estudo histológico comparativo das lesões produzidas por duas cepas do *Trypanosoma cruzi*. O Hospital 70: 1268-1278 p, 1966.

Andrade SG. Caracterização de cepas do *Trypanosoma cruzi* isoladas no Recôncavo Baiano. (Contribuição ao estudo da patologia geral da doença de Chagas em nosso meio) [Tese]. Separata da Revista de Patologia Tropical 1: 65-121 p, 1974.

Andrade ZA. Patologia da doença de Chagas. In: Brener Z, Andrade ZA, Barral-Neto M, organizadores. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. 2ª ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, 201-226 p, 2000.

Andrade SG, Campos RF, Steindel M, Guerreiro ML, Magalhães JB, Almeida MC, Reis JN, Santos VC, Valadares HM, Reis MG, Macedo AM. Biological, biochemical and molecular features of *Trypanosoma cruzi* strains isolated from patients infected through oral transmission during a 2005 outbreak in the state of Santa Catarina, Brazil: its correspondence with the new *Trypanosoma cruzi* Taxonomy Consensus (2009). Mem Inst Oswaldo Cruz 106 (8): 948-56 p, 2011.

Apt W, Arribada A, Zulantay I, Rodríguez J, Saavedra M, Muñoz A. Treatment of Chagas' disease with itraconazole: electrocardiographic and parasitological conditions after 20 years of follow-up. *J Antimicrob Chemother* 68 (9): 2164-2169 p, 2013.

Aufderheide AC, Salo W, Madde M, Stritz J, Buiktra J, Guhl F, Arriza B, Renier C, Wittmers LE, Fornaciari G, Allison M. A 9.000 year record of Chagas' disease. *Proc Nat Acad Science* 101 (7): 2034-2039 p, 2004.

Barreto ML, Andrade ME. Impact of Chagas' infection on some demographic characteristics: results of an ecological study. *Cad Saúde Publ* 10 (2): 273-280 p, 1994.

Barreto MP. Epidemiologia. In: Brener Z & Andrade Z. *O Trypanosoma cruzi e a doença de Chagas*. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, 89-151 p, 1979.

Braz SC, Melo MF, Lorena VM, Souza WV, Gomes Y de M. Chagas disease in the State of Pernambuco, Brazil: analysis of admissions and mortality time series. *Rev Soc Bras Med Trop* 44 (3): 318-323 p, 2011.

Brener Z. The behavior of slender and stout forms of *Trypanosoma cruzi* in the blood-stream of normal and immune mice. *Ann Trop Med Parasitol* 63: 215-220 p, 1969.

Brener Z, Chiari E. Variações morfológicas observadas em diferentes amostras de *Trypanosoma cruzi*. *Rev Soc Bras Med Trop* 5: 220-224 p, 1973.

Brener Z. Terapêutica Experimental na Doença de Chagas. In: Brener Z, Andrade ZA, Barral-Neto M (Orgs). *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas. Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*. 2ª ed, Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, 379-388 p, 2000.

Brener Z, Andrade Z. (Editores). *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 463p, 1979.

Breniere SF, Bosseno MF, Telleria J, Bastrenta B, Yacsik N, Noireau F, Alcazar JL, Barnabe C, Wincker P & Tibayrenc M. Different behavior of two *Trypanosoma cruzi* major clones: transmission and circulation in young Bolivian patients. *Exp Parasitol* 89: 285-295 p, 1998.

Burgos JM, Altcheh J, Bisio M, Duffy T, Valadares HM, Seidenstein ME, Piccinali R, Freitas JM, Levin MJ, Macchi L, Macedo AM, Freilij H, Schijman AG. Direct molecular profiling of minicircle signatures and lineages of *Trypanosoma cruzi* bloodstream populations causing congenital Chagas disease. *Int J Parasitol* 37 (12): 1319-1327 p, 2007.

Câmara AC, Varela-Freire AA, Valadares HM, Macedo AM, D'Avila DA, Machado CR, Lages-Silva E, Chiari E, Galvão LM. Genetic analyses of *Trypanosoma cruzi* isolates from naturally infected triatomines and humans in northeastern Brazil. *Acta Trop* 115 (3): 205-211 p, 2010.

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

Campos R, Amato Neto V, Moreira AA, de Souza HB, Okumura M, Pinto PL, Braz LM, Silva MF, Matsubara L. Evaluation of the therapeutic activity of fluconazole in acute experimental infection caused by *Trypanosoma cruzi*. *Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo* 47 (4): 174-175 p, 1992.

Carcavallo RU, Franca Rodríguez ME, Salvatella R, Curto de Casas SI, Sherlock IS, Galvão C, Rocha DS, Galíndez Girón I, Otero Arocha MA, Martínez A, da Rosa JA, Canale DM, Farr TH, Barata JMS. Hábitats e fauna relacionada. In: Carcavallo RU, Galíndez Girón I, Jurberg J, Lent H, organizadores. *Atlas dos Vetores da Doença de Chagas nas Américas*. Vol. II. Rio de Janeiro: Fiocruz, 561-619 p, 1999.

Carlier Y, Dias JCP, Luquetti AO, Hontebeyrie M, Torrico F, Truyens C. Trypanosomiase Américaine ou maladie de Chagas. Enciclop Méd Chirurg 8: 505-520 p, 2002.

Castro SL, Souza EM. Hormônios Sexuais. In: Araujo-Jorge T & Castro SL. Doença de Chagas. Manual para experimentação animal. Rio de Janeiro (RJ): Fiocruz, 90-92 p, 2000.

Castro CN, Carrillo RP, Rezende JM, Prata AR. Estudo longitudinal do megaesôfago chagásico. Rev Soc Bras Med Trop 42: (supl. II): 68-72 p, 2009.

Chagas C. Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. Mem Inst Oswaldo Cruz 1 (2): 159-218 p, 1909.

Chagas C. Nova entidade mórbida do homem. Resumo geral dos estudos etiológicos e clínicos. Mem Inst Oswaldo Cruz 3: 219-275 p, 1911a.

Chagas C. Moléstia de Carlos Chagas ou Thyreoidite parasitaria. Nova doença humana transmitida pelo “barbeiro” (*Conorhinus megistus*). 2ª Conferência da Academia Nacional de Medicina. Rio de Janeiro: Tipografia Louzinger, 29 p, 1911b.

Chagas C. Processos patogênicos da Trypanosomiase americana. Mem Inst Oswaldo Cruz 8: 37-65 p, 1916.

Chagas C & Villela E. Forma cardíaca da Trypanosomiase americana. Mem Inst Oswaldo Cruz 14: 3-54 p, 1922.

Chiari E, Dias JCP, de Lana M, Chiari CA. Hemocultures for the parasitological diagnostic of human chronic Chagas disease. Rev Soc Bras Med Trop 22: 19-23 p, 1989.

Costa J, Felix M. *Triatoma juazeirensis* sp. nov. from the state of Bahia, Northeastern Brazil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz 102 (1): 87 – 90 p, 2007.

Costa J, Argolo AM, Felix M. Redescription of *Triatoma melanica* Neiva & Lent, 1941, new status (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Zootaxa 1385: 47-52 p, 2006.

Costa L, Pinto F. Bambuí...Nossa terra, nossa gente. 1022 p, 2008.

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

Coura JR, Junqueira AC, Boia MN, Fernandes O. Chagas Disease: from bush to huts and houses. Is it the case of the Brazilian Amazon? Mem Inst Oswaldo Cruz 94 (Supl. 1): 379-384 p, 1999.

Coura JR, De Castro SL. A critical review on Chagas disease chemotherapy. Mem Inst Oswaldo Cruz 97: 3-24 p, 2002.

Coura JR, Junqueira AC, Boia MN, Fernandes O, Bonfante C, Campos JE, Santos L, Devera R. Chagas disease in the Brazilian Amazon: IV. a new cross-sectional study. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 44(3):159-165 p, 2002.

Coura JR. Chagas disease: what is known and what is needed - a background article. Mem Inst Oswaldo Cruz 102 (Suppl 1): 113-122 p, 2007.

Coura JR. Present situation and new strategies for Chagas disease chemotherapy: a proposal. Mem Inst Oswaldo Cruz 104 (4): 549-554 p, 2009.

Coura JR, Viñas PA. Chagas disease: a new worldwide challenge. Nature 465 (7301): S6-S7, 2010.

D'Ávila DA, Gontijo ED, Lages-Silva E, Meira WSF, Chiari E, Galvão LMC. Random amplified polymorphic DNA profiles of *Trypanosoma cruzi* isolates from chagasic patients with different clinical forms. *Parasitology Research* 98: 455-461 p, 2006.

D'Ávila DA, Macedo AM, Valadares HMS, Gontijo ED, Castro AM, Machado CR, Chiari E, Galvão LMC. Probing Population Dynamics of *Trypanosoma cruzi* during Progression of the Chronic Phase in Chagasic Patients. *Journal of Clinical Microbiology*: 1718-1725 p, 2009.

Dias E. Estudos sobre o *Schizotrypanum cruzi*. Tese. Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, 115 p, 1933.

Dias E. Apelo aos clínicos do interior para a colaboração no estudo da doença de Chagas. *O Hospital* 21: 921-926 p, 1942.

Dias E, Laranja FS, Nóbrega G. Doença de Chagas. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 42 (3): 495-581, 1945.

Dias E. Um ensaio de profilaxia de moléstia de Chagas. Ministério da Educação e Saúde. Departamento Nacional de Saúde. Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 116 p, 1945.

Dias E, Pellegrino J. Alguns ensaios com o Gammexane no combate aos transmissores da doença de Chagas. *Brasil Med* 62: 185-191 p, 1948.

Dias E. Estudos preliminares sobre a esquistossomose *mansoni* no município de Bambuí, estado de Minas Gerais. *Rev Bras Malariol Doenças Tropicais* 5: 211-214 p, 1953.

Dias E. Incidência da esquistossomose *mansoni* e outras helmintoses no município de Bambuí, Minas Gerais. *Rev Bras Malariol Doenças Tropicais* 6: 601-605 p, 1954.

Dias E. Informações acerca de 300 casos de doença de Chagas com período inicial conhecido, fichados no Centro de Estudos de Bambuí. O Hospital 47: 647-653 p, 1955a.

Dias E. Variações mensais da incidência das formas evolutivas do *Triatoma infestans* e do *Panstrongylus megistus* no Município de Bambuí, Estado de Minas Gerais. Mem Inst Oswaldo Cruz 53: 457-472 p, 1955b.

Dias E & Zeledón R. Infestação domiciliária em grau extremo por *Triatoma infestans*. Mem Inst Oswaldo Cruz 53: 473-486 p, 1955a.

Dias E. O Centro de Estudos e Profilaxia da Moléstia de Chagas em Bambuí, Estado de Minas Gerais. Notícia histórica em homenagem ao Professor Henrique Aragão. Mem Inst Oswaldo Cruz 54: 309-357 p, 1956.

Dias E, Profilaxia da doença de Chagas. O Hospital 51: 285-298 p, 1957.

Dias E. Efeitos da superinfecção sobre a evolução da cardiopatia crônica chagásica. Rev Goiana Med 9: 223-229 p, 1962.

Dias JCP. Reinfestação do município de Bambuí por triatomíneos transmissores da doença de Chagas. Mem Inst Oswaldo Cruz 63 (1): 107-119 p, 1965.

Dias JCP. Prevalência da doença de Chagas entre crianças da zona rural de Bambuí, MG, após ensaio profilático. Rev Bras Malariol Doenças Tropicais 19: 135-159 p, 1967.

Dias JCP & Dias E. Doença de Chagas. Considerações gerais acerca de 67 casos humanos de doença de Chagas aguda observados pelo Posto Dr. Emmanuel Dias (Instituto Oswaldo Cruz), Bambuí, MG, entre 1955 e 1967. O Hospital 73: 1935-1945 p, 1968.

Dias JCP & Kloetzel K. The prognostic value of the electrocardiographic features of chronic Chagas' disease. *Rev Inst Med Trop* 10: 158-162 p, 1968.

Dias JCP. Reinfestação do município de Bambuí por transmissores da doença de Chagas. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 66: 197-208 p, 1968.

Dias JCP. Prevalência de enteroparasitoses humanas no município de Bambuí, oeste de Minas Gerais. *O Hospital* 75: 249-256 p, 1969.

Dias JCP. Estudos longitudinais em doença de Chagas. Metodologia desenvolvida em Bambuí. Documento apresentado a um grupo do CNPq, Belo Horizonte, 13 p, 1974a.

Dias JCP. Perspectivas para o controle da doença de Chagas humana em áreas endêmicas através de profixalia domiciliar com inseticidas de ação residual. Experiência de Bambuí, Minas Gerais, Brasil. [Dissertação]: Universidade Federal de Minas Gerais (MG), 34 p, 1974b.

Dias JCP. Mecanismos de transmissão. In: Brener Z & Andrade Z. *O Trypanosoma cruzi e a doença de Chagas*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 152-174 p, 1979a.

Dias JCP. Epidemiological aspects of Chagas' disease in the western of Minas Gerais, Brasil. Enviromental, ecologic & human aspects studied by Bambuí Center (Fiocruz) during the period 1943-1979. *Congr Intern D Chagas* (Rio de Janeiro): H.1-H.6, 1979b.

Dias JCP. Aspectos previdenciários da doença de Chagas no Brasil. *Bol C Est, INAMPS* (Minas Gerais) 12: 13-34 p, 1981.

Dias JCP. Doença de Chagas em Bambuí, Minas Gerais, Brasil - Estudo clínico-epidemiológico a partir da fase aguda, entre 1940 e 1982 [Tese]. [Belo Horizonte (MG)]: Universidade Federal de Minas Gerais; 384 p, 1982a.

Dias JCP. Profilaxia e impacto medico-social da doença de Chagas na região mineira do polígono das secas. *Rev Goiana Med* 28: 97-102 p, 1982b.

Dias JCP. Aspectos clínicos, sociais e trabalhistas da doença de Chagas em área endêmica sob controle do estado de Minas Gerais, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 26: 93-99 p, 1993.

Dias JCP, Coura JR. Epidemiologia. In JCP Dias, JR Coura, Clínica e terapêutica da doença de Chagas. Um manual prático para o clínico geral, Rio de Janeiro: Fiocruz, 33-66 p, 1997.

Dias JCP, Schofield CJ. The evolution of Chagas Disease (American Trypanosomiasis) control after 90 years since Carlos Chagas discovery. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94 (1): 103-121 p, 1999.

Dias JCP, Machado EM, Fernandes AL, Vinhaes MC. Esboço geral e perspectivas da doença de Chagas no Nordeste do Brasil. *Cad Saúde Publica* 16 (Supl II):13-34 p, 2000a.

Dias JCP. Epidemiological surveillance of Chagas disease. *Cad Saúde Publica* 16 (Suppl II), 43-59 p, 2000b.

Dias JCP. Chagas disease: successes and challenges - Editorial. *Cad Saude Publica* 22: 2021 p, 2006.

Dias JCP. Enfermedad de Chagas: las etapas recorridas y las perspectivas futuras. In: Organización Panamericana de la Salud/Fundación Mundo Sano (orgs). La enfermedad de Chagas a la puerta de los 100 años del conocimiento de una endemia americana ancestral. Buenos Aires: OPS/CD/426-06, 37-50 p, 2007.

Dias JCP. The epidemiology of Chagas disease in Latin American in 2008 and the future risks for its control. In: Focus on neglected tropical infectious disease:

Chagas disease a public health threat in the Americas & beyond. Veyrier du Lac, France: World Health Organization, 100-104 p, 2008.

Dias JCP. Longitudinal studies on human Chagas Disease in Bambui, Minas Gerais, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 42 (Supl. II): 61-68 p, 2009.

Diniz L de F, Urbina JA, de Andrade IM, Mazzeti AL, Martins TA, Caldas IS, Talvani A, Ribeiro I, Bahia MT. Benznidazole and posaconazole in experimental chagas disease: positive interaction in concomitant and sequential treatments. PLoS Negl Trop Dis 15, 7 (8): e2367, 2013.

Diotaiuti L. Ecologia. In: Diotaiuti, Liléia; Oliveira, Maria Angélica de (Org.); Santos, João Paulo. Triatomíneos. Colaboradores: Alessandra Aparecida Guarneri, Ana Cristina Rena de Vitta, Bernardino Vaz de Melo Azeredo, Carlota Josefovicz Belisário, Grasielle Caldas D'Ávila Pessoa, João Carlos Pinto Dias e Sílvia Ermelinda Barbosa. Belo Horizonte: [s.n.], 112-128, 2008. Disponível em: http://www.cpqrr.fiocruz.br/texto-completo/livro_triatomineos.pdf. Acesso em: 02 set 2011.

Drumond JAG, Marcopito LF. Migração interna e distribuição da mortalidade por doença de Chagas, Brasil, 1981/1998. Cad Saúde Publ 22 (10): 2131-2140 p, 2006.

Espinosa R, Carrasco H, Belandria F, Fuenmayor A, Molina C & Martinez O. Life expectancy analysis in patients with Chagas' disease: prognosis after one decade. Intern J Cardiol 8: 45-56 p, 1985.

Fernandes AJ, Chiari E, Rodrigues RB, Dias JCP, Romanha AJ. The importance of the opossum (*Didelphis albiventris*) as a reservoir for *Trypanosoma cruzi* in Bambuí, Minas Gerais state. Mem Inst Oswaldo Cruz 86 (1): 81-85 p, 1991.

Fernandes AJ, Luz ZMP, Vitor RWA, Diotaiuti L, Chiari E. Possibilidade de auto-cura em gambá (*Didelphis albiventris*) naturalmente infectado pelo *Trypanosoma cruzi*. Rev Inst Med Trop São Paulo 36 (5): 471-473 p, 1994a.

Fernandes AJ, Diotaiuti L, Dias JCP, Romanha AJ, Chiari E. Inter-relações entre os ciclos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil. Cad Saude Publica 10 (4): 473-480 p, 1994b.

Fernandes CD, Murta SM, Cerávolo IP, Krug LP, Vidigal PG, Steindel M, Nardi N, Romanha AJ. Characterization of *Trypanosoma cruzi* strains isolated from chronic chagasic patients, triatomines and opossums naturally infected from the State of Rio Grande do Sul, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 92 (3): 343-351 p, 1997.

Ferreira ILM & Silva TPT. Eliminação da transmissão da doença de Chagas pelo *Triatoma infestans* no Brasil: um fato histórico. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. [online], vol.39, n.5, pp. 507-509, 2006.

Forattini OP. Biogeografia, origem e distribuição da domiciliação de triatomíneos no Brasil. Rev Saude Publica 14: 265-299 p, 1980.

Forichon E. Contribution aux estimations de morbidité et de mortalité dans la maladie de Chagas [Tese]: Universidade Paul Sebatier, Toulouse, França, 47p. 1974.

Freitas JM, Lages-Silva E, Crema E, Pena SD & Macedo AM. Real time PCR strategy for the identification of major lineages of *Trypanosoma cruzi* directly in chronically infected human tissues. Int J Parasitol 35: 411-417 p, 2005.

Freitas JM, Augusto-Pinto L, Pimenta JR, Bastos-Rodrigues L, Gonçalves O, Macedo AM, Machado CR e Pena SD. Ancestral Genomes, Sex, and the Population Structure of *Trypanosoma cruzi*. PLoS Pathog, 226-235 p, 2006.

Galvão C, Ângulo VM. *Belminus corredori*, a new species of Bolboderini (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from Santander, Colômbia. Zootaxa 1241: 61-68 p, 2006.

Gonçalves MLC. Risco de morte do chagásico crônico: importância do padrão eletrocardiográfico inicial [Tese]. Rio de Janeiro: Fac Med Univers Fed Rio de Janeiro, 68 p, 1992.

Gontijo ED, Dias JCP. Mortalidade por doença de Chagas em Minas Gerais: análise preliminar do período 1978-1989. Rev Soc Bras Med Trop 27 (2): 119-121 p, 1994.

Gontijo ED, Andrade GMQ, Santos SE, Galvão LMC, Moreira EF, Pinto FS, Dias JCP, Januário JN. Triagem neonatal da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* em Minas Gerais, Brasil: transmissão congênita e mapeamento das áreas endêmicas. Epidemiol Serv Saúde 18 (3): 243-254 p, 2009.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades@. Brasília: IBGE, 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>. Acesso em: janeiro/2011.

Kloetzel K, Dias JCP. Mortality in Chagas`Disease: life-table for the period 1949-1967 in an unselected population. Rev Inst Med Trop 10: 5-8 p, 1968.

Köeberle F. Patologia Y Anatomia Patológica De La Enfermedad De Chagas. Bol. Ofic. Sanit. Panam 51: 404-428 p, 1961.

Kropf SP, Azevedo N, Ferreira LO. Doença de Chagas: a construção de um fato científico e de um problema de saúde pública no Brasil. Ciência & Saúde Coletiva 5 (2): 347-365 p, 2000.

Lana M, Tafuri WL. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. In: Neves DP. Parasitologia humana, cap 11, 10ª ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

Laranja FS. Evolução dos conhecimentos sobre a cardiopatia da doença de Chagas: revisão crítica da literatura. Mem Inst Oswaldo Cruz 47 (3/4): 605-609 p, 1949.

Laranja FS, Dias E, Duarte E & Pellegrino J. Observações clínicas e epidemiológicas sobre a moléstia de Chagas no Oeste de Minas Gerais. O Hospital 40: 137-192 p, 1951.

Laranja FS, Dias E, Nóbrega GC, Miranda A. Chagas' disease. A clinical, epidemiologic and pathologic study. Circulation 14: 1035-1060 p, 1956.

Laurenti R, Mello Jorge MHP, Gotlieb SLD. Mortalidade segundo causas: considerações sobre a fidedignidade dos dados. Rev Panam Salud Publica 23 (5): 349-56 p, 2008.

Liarte DB, Murta SM, Steindel M, Romanha AJ. *Trypanosoma cruzi*: multiplex PCR to detect and classify strains according to groups I and II. Exp Parasitol 123 (4): 283-291 p, 2009.

Lima-Costa MF, Barreto SM, Firmo JO, Uchôa E, Vidigal PJ. Ageing with *Trypanosoma cruzi* infection in a community where the transmission has been interrupted: the Bambuí Health and Aging Project. Intern J Epidemiol 30: 887-893 p, 2001.

Lima-Costa MF, Barreto SM, Firmo JO, Uchôa E, Vidigal PJ. Ageing with *Trypanosoma cruzi* infection in a community where the transmission has been interrupted: the Bambuí Health and Aging Project. Intern J Epidemiol 30: 887-893 p, 2009.

Lima-Costa MF, Peixoto SV, Ribeiro AL. Chagas disease and mortality in old age as an emerging issue: 10 year follow-up of the Bambuí population-based cohort study (Brazil). Int J Cardiol 145 (2): 362-363 p, 2010.

Lima VS, Iñiguez AM, Otsuki K, Ferreira LF, Araujo A, Vicente ACP, Jansen, AM. Chagas disease by *Trypanosoma cruzi* lineage I in a hunter-gatherer ancient population in Brazil. Em Inf Diseases 14: 1001-1002 p, 2008.

Litvoc J, Wanderley DMV, Camargo LMA. Mortalidade por doença de Chagas no Estado de São Paulo (Brasil): subsídios para o planejamento da assistência ao chagásico. Rev Saude Publ 26: 59-65 p, 1992.

Llewellyn MS, Miles MA, Carrasco HJ, Lewis MD, Yeo M, Vargas J, Torrico F, Diosque P, Valente V, Valente SA, Gaunt MW. Genome-scale multilocus microsatellite typing of *Trypanosoma cruzi* discrete typing unit I reveals phylogeographic structure and specific genotypes linked to human infection. PLoS Pathog 5 (5): e1000410, 2009.

Lopes ER. Morte súbita em área endêmica da doença de Chagas e sua importância médico legal [Tese]. Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, 92 p, 1981.

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

Macedo V. Influência da exposição à re-infecção na evolução da doença de Chagas: estudo longitudinal de 5 anos [Tese]. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 116 p, 1976.

Magnani C, Oliveira BG, Gontijo ED. Representações, mitos e comportamentos do paciente submetido ao implante de marcapasso na doença de Chagas. Cad Saúde Pública [online] 23 (7): 1624-1632 p, 2007.

Mantilla JC, Zafra GA, Macedo AM e González CI. Mixed infection oh *Trypanosoma cruzi* I and II a Colombian cardiomyopathic patient. Hum Pathology 41 (4): 610-613 p, 2010.

Martínez E, Chávez T, Sossa D, Aranda R, Vargas B, Vidaurre P. *Triatoma boliviana* sp. n. de los valles subandinos de La Paz, Bolívia (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), similar a *Triatoma nigromaculata* Stål, 1859. Bol Inst Invest Sal Des 3 (1): 1-11 p, 2007.

Martins AV, Anjos VV, Tupynambá AA. Sobre 25 casos agudos da moléstia de Chagas observados em Minas Gerais. Mem Inst Ezequiel Dias 3 (4): 1-6 p, 1940.

Martins AV, Versiani V, Peres JN. Distribuição geográfica dos triatomídeos e seus índices de infecção pelo *Schizotrypanum cruzi* no Estado de Minas Gerais. Rq Hig 2: 63-79 p, 1954.

Martins LPA, Castanho REP, Casanova C, Caravelas DT, Frias GT, Ruas-Neto AL, Rosa JA. Triatomíneos rupestres infectados por Trypanosomatidae, coletados em Quaraí, Rio Grande do Sul. Rev Soc Bras Med Trop 39 (2): 198-202 p, 2006.

Martins-Melo FR, Alencar CH, Ramos AN, Heukelbach J. Epidemiology of Mortality Related to Chagas' disease in Brazil, 1999-2007. PLoS Negl Trop Dis 6 (2): e1508, 2012.

Mazza S, Montana A, Benitez C, Janzi E. Transmisión del *Schizotrypanum cruzi* al niño por leche de madre con enfermedad de Chagas. MEPRA 28: 41-49 p, 1936.

Menezes H. The importance of sex on parasitemia and on the mortality of albino mice experimentally infected with *T. cruzi*. Trop Dis Bull 64: 357 p, 1967.

Miles MA, Toye PJ, Oswald SC, Godfrey DG. The identification by isoenzyme patterns of two distinct strain-groups of *Trypanosoma cruzi*, circulating independently in a rural area of Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg 71: 217-225 p, 1977.

Miles MA, Souza AA, Povia MM, Shaw JJ, Lainson R, Toyé PJ. Isozymic heterogeneity of *Trypanosoma cruzi* in the first autochthonous patients with Chagas disease in Amazonian Brazil. *Nature* 272: 819-821 p, 1978.

Miles MA, de Souza AA & Povia M. Chagas' disease in the Amazon basin III. Ecotopes of ten triatomine bug species (Hemiptera: Reduviidae) from the vicinity of Belém, Pará State, Brazil. *J Med Entomol* 18, 266-278 p, 1981.

Ministério da Saúde. Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop* 38 (Supl III): 7-29 p, 2005.

Ministério da Saúde. Portaria SVS/MS nº 104 - Define as terminologias adotadas em legislação nacional, conforme o disposto no Regulamento Sanitário Internacional 2005, a relação de doenças, agravos e eventos em saúde pública de notificação compulsória em todo o território nacional e estabelece fluxo, critérios, responsabilidades e atribuições aos profissionais e serviços de saúde. 2011.

Ministério da Saúde. Departamento de Informação e Informática do Sistema Único de Saúde: estatísticas de mortalidade. Disponível em: <http://www.datasus.gov.br>. Acessado em 13 de Julho de 2011.

Ministério da Saúde. Departamento de Informação e Informática do Sistema Único de Saúde: estatísticas de morbidade. Disponível em: <http://www.datasus.gov.br>. Acessado em 20 de Agosto de 2011.

Ministério da Saúde. Doença de Chagas. Secretaria de Vigilância em Saúde. Disponível em: <http://www.saude.gov.br>. Acessado em 23 de Setembro de 2012.

Moraes-Souza H & Ferreira-Silva MM. O controle da transmissão transfusional. *Rev Soc Bras Med Trop* 44 (Supl II): 54-67 p, 2011.

Moreno EC, Baracho L. Vigilância epidemiológica no Programa de Controle da Doença de Chagas em Minas Gerais, Brasil (1984-1998). Cad Saude Publica 16 (Supl. II): 113-116 p, 2000.

Neiva A & Pena B. Viagem científica pelo norte da Bahia, sul do Piauí e de norte a sul de Goiás. Mem Inst Oswaldo Cruz 8: 74-224 p, 1916.

Oliveira MT. Genotipagem de amostras de *Trypanosoma cruzi* isoladas de pacientes chagásicos de dois municípios da região do Vale do Jequitinhonha, MG, Brasil [Dissertação]. Universidade Federal de Ouro Preto, Minas Gerais, 111 p, 2012.

Ostermayer AL, Passos AD, Silveira AC, Ferreira AW, Macedo V, Prata AR. O inquérito nacional de soroprevalência de avaliação do controle da doença de Chagas no Brasil (2001-2008). Rev Soc Bras Med Trop 44 (2): 108-21 p, 2011.

Pan-American Health Organization. Health Topics - Chagas Disease. Disponível em: <http://www.paho.org>. Acessado em 07 de agosto de 2013.

Paula ASV. Levantamento de mortalidade e aposentadoria por doença de Chagas nas regiões de Saúde de Minas Gerais. In: Modernos Conhecimentos sobre doença de Chagas. Belo Horizonte (MG): Academia Mineira de Medicina, 1981.

Pellegrino J. Distribuição e índices de infecção dos triatomíneos transmissores da doença de Chagas no sudoeste de Minas Gerais. Rev Bras Med 5: 555-566 p, 1948.

Pellegrino J. Novos dados sobre a distribuição de triatomíneos e sua infecção pelo *Schizotrypanum cruzi* no Estado de Minas Gerais (Brasil). Mem Inst Oswaldo Cruz 48: 639-667 p, 1950.

Pereira MH, Penido CM, Martins MS, Diotaiuti L. *Triatoma infestans* is more efficient than *Panstrongylus megistus* in obtaining blood meals on non anaesthetized mice. Mem Inst Oswaldo Cruz 90 (6): 765-767 p, 1995.

Perez-Mazliah DE, Alvarez MG, Cooley G, Lococo BE, Bertocchi G, Petti M, Albareda MC, Armenti AH, Tarleton RL, Laucella SA, Viotti R. Sequential combined treatment with allopurinol and benznidazole in the chronic phase of *Trypanosoma cruzi* infection: a pilot study. J Antimicrob Chemother 68 (2): 424-437 p, 2013.

Pires HHR, Borges EC, Andrade RE, Lorosa ES, Diotaiuti L. Peridomiciliary infestation with *Triatoma sordida* (Stal, 1859) in the County of Serra do Ramalho, Bahia, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 94 (2): 147-149 p., 1999.

Prata A. Classification of Chagas' disease. Rev Soc Bras Med Trop 1990; 23(1): 37- 42. Errata: Rev Soc Bras Med Trop 23 (4): 246 p, 1990.

Puigbó JJ, Acquatella H, Giordano H, Suárez C. Analisis de los factores de riesgo em la cardiopatia crónica. Em: Madoery R, Madoery C, Cámara ML. Actualizaciones en la Enfermedad de Chagas. Buenos AIRES, Congresso nacional de Medicina, 57-78 p, 1993.

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

Rezende JM, Rassi A. Doença de Chagas. In: Castro LP, Cunha AS. Protozooses humanas. São Paulo (SP): Fundo editorial Byk, 1994.

Rezende JM. Megaesôfago por Doença de Chagas. Rev. Goiana Med 2: 297-314 p, 1956.

Rezende-Filho J. Fisiopatologia do esôfago e estômago chagásicos. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva 4 (Supl V): 76-80 p, 1989.

Rocha e Silva EO. Profilaxia. In: Brener Z & Andrade Z. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, 1979.

Romanha AJ. Heterogeneidade Isoenzimática em *Trypanosoma cruzi* [Tese]. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 110 p, 1982.

Rocha RS, Silva JG, Peixoto SV, Caldeira RL, Firmo JOA, Carvalho OS, Katz N. Avaliação da esquistossomose e de outras parasitoses intestinais, em escolares do município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil. Rev Soc Bras Med Trop 33 (5): 431-436 p, 2000.

Sandoval CM, Pabón E, Jurberg J, Galvão C. *Belminus ferroae* n. sp. from the Colombian north-east, with a key to the species of the genus (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Zootaxa 1443: 55-64 p, 2007.

Santo AH. Tendência da mortalidade relacionada à doença de Chagas, Estado de São Paulo, Brasil, 1985 a 2006: estudo usando causas múltiplas de morte. Rev Panam Salud Publica 26 (4): 299-309 p, 2009.

Santos CB, Ferreira AL, Leite GR, Ferreira GEM, Rodrigues AAF, Falqueto A. Peridomestic colonies of *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) infected with *Trypanosoma cruzi* in rural areas of the state of Espírito Santo, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 100 (5): 471-473 p, 2005.

Santos-Júnior JE. Dinâmica do *Panstrongylus megistus* nos ciclos de transmissão de *Trypanosoma cruzi* em áreas de Cerrado e Mata Atlântica no Estado de Minas Gerais, Brasil [Tese]. Belo Horizonte (MG): Centro de Pesquisa René Rachou/Fundação Oswaldo Cruz – CPqRR/Fiocruz, 2011.

Santos-Júnior JE, Diotaiuti L, Dias JC. First report of *Panstrongylus megistus* sylvatic focus in municipality of Bambuí, state of Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 106:510-513 p, 2011.

Silva LHP. Observações sobre o ciclo evolutivo do *Trypanosoma cruzi*. Rev Inst Med Trop São Paulo, 99-118 p, 1959.

Silva NN, Clausell DT, Nolibos H, Mello AL, Ossanai J, Rapone T, Snell T. Surto epidemiológico de doença de Chagas com provável contaminação oral. Rev Inst Med Trop São Paulo, 10: 265-276 p, 1968.

Silveira AC. O Inquérito triatomínico (1975-1983). Rev Soc Bras Med Trop 44 (2): 26-32 p, 2011.

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial. Recomendações para coleta de sangue venoso. 2ª ed, Barueri (SP): Minha Editora, 114 p, 2010.

Souto RP, Fernandes O, Macedo AM, Campbel DA, Zingales B. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. Mol Biochem Parasitol 83: 141-152 p, 1996.

Souza AG. Consolidation of the control of Chagas' disease vectors in the state of São Paulo. Mem Inst Oswaldo Cruz, 79: 125-131 p, 1984.

Steindel M, Dias-Neto E, Menezes CLP, Romanha AJ, Simpson AJG. Random amplified polymorphic DNA analysis of *Trypanosoma cruzi* strains. Mol Biochem Parasitol 60: 71-80 p, 1993.

Steindel M, Pacheco LK, Scholl D, Soares M, de Moraes MH, Eger I, Kosmanna C, Sincero TCM, Stoco PH, Murta SMF, Carvalho-Pinto CJ, Grisard EC. Characterization of *Trypanosoma cruzi* isolated from humans, vectors, and animal reservoirs following an outbreak of acute human Chagas disease in Santa Catarina State, Brazil. Diagn Microbiol Infect Dis 60 (1): 25-32 p, 2008.

Storino R, Milei J, Manzullo E, Darraidou M. Evolución natural y estudios longitudinales. In Storino R & Milei J. Enfermedad de Chagas. Buenos Aires (AR): Doyma, 593-604 p, 1994.

Tibayrenc M, Ayala FJ. Isoenzyme variability in *Trypanosoma cruzi*, the agent of Chagas' disease: genetically, taxonomic and epidemiological significance. *Evolution* 42, 277-292 p, 1988.

Vichi FL, Nobre F, Sader HA, Brasil JCF, Carneiro JJ, Salgado Filho W. Estado atual da incidência da moléstia e cardiopatia chagásicas em pacientes registrados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. *Arq Bras Cardiol* 29: 87-96 p, 1976.

Villela MM, Souza JB, Mello VP, Azeredo BVM, Dias JCP. Vigilância entomológica da doença de Chagas na região Centro-Oeste de Minas Gerais, Brasil, entre os anos de 2000 e 2003. *Cad Saude Publica* 21(3): 878-876 p, 2005.

Villela MM, Souza JMB, Melo VP, Dias JCP. Vigilância epidemiológica da doença de Chagas em programa descentralizado: avaliação de conhecimentos e práticas de agentes municipais em região endêmica de Minas Gerais, Brasil. *Cad Saúde Publ* 23 (10): 2428-2438 p, 2007.

Villela MM. Vigilância entomológica da doença de Chagas na região centro-oeste de Minas Gerais, Brasil. [Tese]: Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte (MG), 162 p, 2008.

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

Vitelli-Avelar DM, Sathler-Avelar R, Massara RL, Borges JD, Lage PS, Lana M, Teixeira-Carvalho A, Dias JCP, Elói-Santos SM; Martins-Filho OA. Are increased frequency of macrophage-like and natural killer (NK) cells, together with high levels of NKT and CD4+CD25 high T cells balancing activated CD8+ T cells, the key to control Chagas' disease morbidity? *Clin Exp Immunology*, 145: 81-92 p, 2006.

World Health Organization. Control of Chagas Disease. Geneva (SW), 2002.

Yeo M, Acosta N, Llewellyn M, Sánchez H, Adamson S, Miles GA, López E, González N, Patterson JS, Gaunt MW, De Arias AR, Miles MA. Origins of Chagas disease: *Didelphis* species are natural hosts of *Trypanosoma cruzi* I and armadillos hosts of *Trypanosoma cruzi* II, including hybrids. *Int J Parasitol* 35 (2): 225-233 p, 2005.

Zafra G, Mantilla JC, Valadares HM, Macedo AM, González CI. Evidence of *Trypanosoma cruzi* II infection in Colombian chagasic patients. *Parasitol Res* 103 (3): 731-734 p, 2008.

Zafra G, Mantilla JC, Jácome J, Macedo AM, González CI. Direct analysis of genetic variability in *Trypanosoma cruzi* populations from tissues of Colombian chagasic patients. *Hum Pathol* 42 (8): 1159-1168 p, 2011.

Zicker F. Avaliação médico-trabalhista do cardiopata chagásico. *Rev Bras Saúde Ocupacional* 13 (52): 68-71 p, 1988.

Zingales B, Stolf BS, Souto RP, Fernandes O, Briones MR. Epidemiology, biochemistry and evolution of *Trypanosoma cruzi* lineages based on ribosomal RNA sequences. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94 (Supl I): 159-164 p, 1999.

Zingales B, Andrade SG, Briones MRS, Campbel DA, Chiari E, Fernandes O, Guhl F, Lages-Silva E, Macedo AM, Machado CR, Miles MA, Romanha AJ, Sturm NR, Tibayrenc M, Schijman A. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107: 1051-1054 p, 2009.

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