



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
NUCLEO DE PESQUISA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
BIOLÓGICAS**

**ECO-EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA DE CHAGAS AGUDA  
EM ÁREA AMAZÔNICA. MUNICÍPIO DE ABAETETUBA,  
ESTADO DO PARÁ, BRASIL, 2008 - 2009**

**SORAYA OLIVEIRA DOS SANTOS**

Ouro Preto – Minas Gerais

2013

SORAYA OLIVEIRA DOS SANTOS

**ECO-EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA DE CHAGAS AGUDA EM ÁREA  
AMAZÔNICA. MUNICÍPIO DE ABAETETUBA, ESTADO DO PARÁ, BRASIL,  
2008-2009**

Tese apresentada no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto- MG como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas

Orientador: Prof. Dr. George Luiz Lins Machado Coelho

Ouro Preto – Minas Gerais

2013

S237e Santos, Soraya Oliveira dos.  
Eco-epidemiologia da doença de Chagas aguda em área amazônica.  
Município de Abaetetuba, estado do Pará, Brasil, 2008 – 2009. [manuscrito] /  
Soraya Oliveira dos Santos – 2013.  
158f.: il., color; graf.; tab.; mapas.

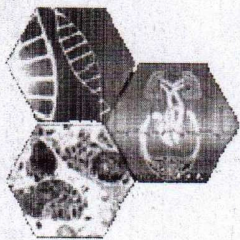
Orientador: Prof. Dr. George Luiz Lins Machado Coelho.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de  
Ciências Exatas e Biológicas. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas.  
Área de concentração: Bioquímica Metabólica e Fisiológica.

1. Chagas, Doença de - Teses. 2. Amazônia - Teses. 3. Epidemiologia -  
Teses. 4. Trypanosoma cruzi - Teses. 5. Abaetetuba(PA) - Teses. I. Coelho,  
George Luiz Lins Machado. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III.  
Título.

CDU: 616.937(811.5)

Catálogo: [sisbin@sisbin.ufop.br](mailto:sisbin@sisbin.ufop.br)



Universidade Federal de Ouro Preto  
Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas - NUPEB  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas

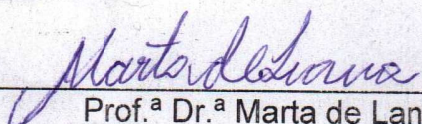



**Ata da Banca Examinadora de Defesa de Tese Intitulada:**

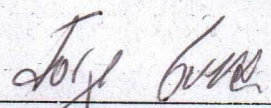
**“Eco-epidemiologia da doença de Chagas aguda em área amazônica,  
município de Abatetuba, estado do Pará, 2008-2009”**

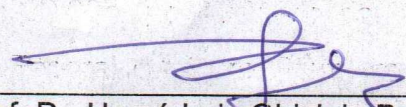
Aos trinta e um dias do mês de Julho de 2013, às 09:00h, no Auditório do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, reuniu-se a Comissão Examinadora da Tese da aluna **Soraya Oliveira dos Santos**. A defesa da tese iniciou-se pela apresentação oral feita pela candidata e, em seguida, arguição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por ..... APROVAR ..... a candidata. A concessão do título está condicionada ao cumprimento das demais exigências previstas no Regimento deste Programa.

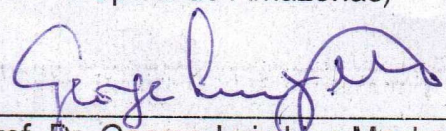
Membros da Banca Examinadora:

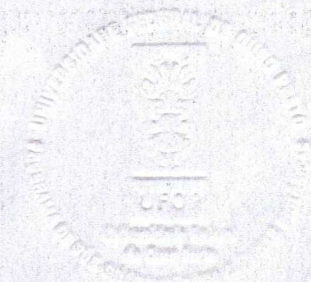
  
Prof.ª Dr.ª Marta de Lana  
Examinadora (UFOP)

  
Prof. Dr. Luiz Augusto Corrêa Passos  
Examinador (UNICAMP)

  
Prof. Dr. Jorge Augusto de Oliveira  
Guerra  
Examinador (Fundação de Medicina  
Tropical do Amazonas)

  
Prof. Dr. Hervé Luiz Ghislain Rogez  
Examinador (UFPA)

  
Prof. Dr. George Luiz Lins Machado  
Coelho  
Presidente (UFOP)



DATA DA DEFESA: 18/07/2013

## *Dedico este trabalho*

*Aos meus pais Djalma dos Santos e Florinda Oliveira dos Santos, que apesar das dificuldades e preconceitos familiares que enfrentaram para ter acesso ao ensino, nunca se fragilizaram, ao contrário, forneceram a força motriz para me impulsionar sempre a não desistir dos meus sonhos*

*A minha amiga Elenilda de Góes Costa, Gerente Estadual do Programa de Controle da Doença de Chagas do Estado do Pará até 2012, que teve a coragem, a determinação e a persistência de estabelecer e sistematizar, em apenas 8 anos, a vigilância de uma doença negligenciada, com poucos recursos financeiros e humanos em uma região na qual a doença de Chagas além de não ser reconhecida como problema de saúde pública apresentava um padrão de transmissão peculiar. Soube realizar parcerias intra e interinstitucionais, integrando pesquisa e serviço importantes para pôr em prática um modelo de vigilância, para a região amazônica, que ainda estava no campo teórico. Por ter acreditado e apoiado integralmente este estudo tornando-o possível.*

## **URUBUQUARA**

**Nessa ilha onde o vento sopra sobre a Baía**

**Vive gente vive bicho**

**Pára barco no trapiche**

**Maré sobe e desce, nessa dança a praia emerge**

**Assim a vida avança enquanto a paciência obedece**

**A criança só aprende a ler quando no rio souber viver**

**O Homem lança a rede para o peixe enganar**

**A mulher trabalha a trouxa que irá no matapi o camarão alimentar**

**Açaí na mata, Mata fome, Furo grande, Arari, Onerã, Guajará e Mirim**

**Marajó é assim**

**E ancorado no trapiche a gente acha graça e admira essa gente que batalha e  
brinca nessa ilha onde o sol sorri e brilha**

**Autor: Soraya Oliveira dos Santos**

**Durante investigação de surto de doença de Chagas em Cachoeira do Arari-PA**

## AGRADECIMENTOS

A minha família pelo apoio incondicional a mais este degrau da minha formação intelectual;

Ao meu orientador e antes de tudo meu amigo George Luiz Lins Machodo Coelho pela dedicação, confiança e apoio constante, mesmo quando esteve distante em seu pós doutorado, por estar sempre ao meu lado, tanto nos momentos felizes, nas agradáveis atividades de campo, mas também nos momentos difíceis, mas de aprendizado.

Aos membros da minha banca de qualificação Rivaldo Venâncio, Marta de Lana e Egler Chiari, pelas valiosas sugestões que contribuíram para o enriquecimento desta tese;

Aos professores, estudantes e funcionário da UFOP, companheiros nos 4 anos de estudo;

Ao Sr. Secretário de Saúde do Pará, Hélio Franco de Macedo Junior, pelo apoio fundamental disponibilizado para realização das etapas deste doutorado, seu respeito e carinho foram relevantes para concretização do trabalho;

À Maridalva Pantoja, assessora do gabinete SESP, minha eterna admiração, suas contribuições sempre contundentes foram valiosas para a elaboração do Plano de Intensificação das Ações de Controle da Doença de Chagas e toda a história derivada dele;

Ao Departamento de Vigilância Sanitária e aos Diretores do Departamento de Endemias (Walter Amoras e Bernardo Cardoso) que compreenderam o papel e a importância da estruturação de um trabalho pioneiro de vigilância de doença de Chagas na região amazônica;

Aos Diretores do LACEN/PA Luiz Augusto, Kleyffsson Miranda e Sebastião Licínio, pela cooperação técnica nos anos de realização da tese;

Aos profissionais da Assessoria de Comunicação/SESPA Roberta Vilanova, Edna Sidou, Fernanda Sobreira, José Pantoja, Mozart Lira, promotores e em algumas situações co-autores de nossas experiências na área rural e urbana dos municípios paraenses. Sua participação foi significativa na medida em que era necessária a divulgação dentro e fora do estado de um trabalho singular e extremamente notável do serviço público;

Meu reconhecimento especial à Coordenação do Programa de Controle da Doença de Chagas e seus integrantes diretos (Elenild Góes, Adriana Almeida, Allan Wylk, Aliandra Sá, Adália Miranda, Cledja Soares, Daniela Miranda, Ednei Amador, Eunice Feitosa, Fábio Boulhosa, Gabriela Barros, Keila Silva, Lilian Reis, Miguel Cardoso, Rubens Einar, Vânia Brilhante) e indiretos (Daniel Miranda, Arnaldo Fayal, Paola Vieira, Gilberto Barbosa, Francisco Eduardo, Alciana Araújo, Doriléa Pantoja, Milton Gomes, Beatriz Bossato, Patrícia Sampaio, Jaime Sales, Durval Bertram, Jeniel Rocha) pelo empenho, trabalho incansável e dedicação a uma atividade por vezes extremamente desgastante. Sem este grupo de servidores o trabalho provavelmente não ocorreria;

À Secretaria Municipal de Saúde Abaetetuba e seus secretários pela atenção, disponibilidade, confiança e desprendimento necessários para a realização deste trabalho, considerando que em inúmeras vezes as atividades requereram muito mais que mão de obra, mas sim a vontade de promover uma saúde pública de qualidade para a população. Por isso, meu profundo agradecimento aos servidores municipais que trabalharam arduamente para a efetivação da tese, Rosinete Ferreira, João Paulo, Hildebrando Xavier, Nazaré Ferreira, Lenilson Lima, Rubens Clay, Raimundo Lobato, Edvaldo Cascaes, Maria Helena, Haroldo Souza e Ivanil Cardoso;

Ao Corpo de Bombeiros de Abaetetuba pela gentileza de ceder bombeiros, motosserra e carros para a realização do trabalho da equipe de entomologia;

A Polícia Militar de Abaetetuba pela disponibilização de policiais com carros e motos, responsáveis pela segurança das equipes de trabalho em áreas problemáticas;

Aos moradores das comunidades de Ajuai, Genipaúba, Panacuera, São Sebastião e Francilândia pela participação nesta tese, receptividade, carinho e confiança;

À Secretaria Municipal de Saúde de Igarapé-Mirim e aos secretários que disponibilizaram seus barcos e servidores nas nossas atividades nas ilhas de Abaetetuba, em especial Márcio Lucas, Tomás Domingos e Maria Arlete, grandes parceiros nas dezenas de dias e noites do trabalho de pesquisa de campo;

À Secretaria Municipal de Saúde de Barcarena e aos secretários que liberaram seus servidores para as atividades nas ilhas e bairros de Abaetetuba, com especial destaque para Raimunda Martins e Renata Neves, pessoas inestimáveis que se dispuseram ao enfrentamento de uma jornada difícil;



Ao 6º Centro Regional de Saúde - CRS com sede em Barcarena e sua diretora Adélia Amorim por concordar com a empreitada de reunir servidores públicos em prol da pesquisa em serviço, necessária para o entendimento da problemática da doença de Chagas. Aqui meu reconhecimento a Manoel Brasil, Alueci Sales, Jurandir Pinheiro, Pamela Suelen, Raimundo Cordeiro;

Às servidoras do 6ºCRS Rosana Sosinho e Elza Campos, que se tornaram queridas amigas, que acreditaram acima de tudo no projeto de trabalho, por muitas vezes ambicioso, mas denunciante da situação da doença de Chagas na Amazônia. Sem suas habilidades e sensibilidades especiais para gerenciar, organizar e perceber necessidades em campo, dificilmente teria a qualidade alcançada;

A Luis Carlos Batista, técnico do Museu Emílio Goeldi, responsável pelo levantamento botânico das áreas de estudo. Seus relatórios foram valiosos para as conclusões da tese;

A Flávio Altieri do Sistema de Proteção da Amazônia – SIPAM, que mesmo nos momentos em que sua instituição não pôde participar efetivamente do trabalho, não se eximiu de contribuir com o estudo;

A Cléber Galvão e Elias Lorosa, do Laboratório de Referência Nacional e Internacional de Triatomíneos da FIOCRUZ/RJ, pela colaboração nas análises entomológicas;

Aos queridos amigos da UFPA, Hervé Rogez e Dilma Souza, que “compraram” a idéia da tese e acreditaram que alguém fora da Amazônia pudesse retratar sua realidade com honestidade e justiça. Suas participações mais do que especiais engrandeceram este trabalho e proporcionaram a aproximação entre academia e serviço;

Ao meu amigo Carlos Botelho por ter apoiado integralmente o inquérito sorológico em papel filtro, minha gratidão;

A amiga Mayira Milano, brilhante cooperadora nas horas intermináveis de análise da tese, sempre pontual em suas contribuições preciosas, minha gratidão especial, porque se não foi minha orientadora por direito, o foi de fato;

A Joseane Padilha, estatística da EMBRAPA/DF, que entrou em minha vida no momento único para proporcionar uma excelente análise estatística da tese, não medindo esforços para entender a doença de Chagas e assim me auxiliar na interpretação dos dados;

A João Luiz Carvalho pela amizade sincera, caronas de idas e vindas ao aeroporto e companheirismo de todos os momentos, meu reconhecimento profundo;

A Roseli Cerqueira de Oliveira, minha chefia imediata no Ministério da Saúde nos anos da tese, por confiar na pretensão de uma gerente de realizar um trabalho nos interiores da Amazônia, sem garantias iniciais de sucesso ou até de viabilidade, mas que acreditava no potencial do serviço público. Seu apoio e credibilidade possibilitaram meu trânsito entre Estado do Pará e o Distrito Federal;

A Mardones Flores, técnico em entomologia do MS, pelas colaborações importantes nas pesquisas entomológicas;

Ao amigo Marcos Obara, profissional competente, atencioso e prestativo em todos os momentos da tese;

A Suelene Mamede, companheira de trabalho, amiga sincera nos momentos difíceis do estudo, sua presença marcante, confiança e conhecimento técnico foram preciosos para elaboração desta tese;

A Erica Tatto, por ter estado ao meu lado nas duras batalhas do serviço público, pelo sacrifício leonino profissional e pessoal, pela amizade, carinho, zelo e amor dispensados, meu reconhecimento e registro de que este trabalho é o espelho de sua excepcional percepção do entendimento da doença de Chagas na Amazônia;

Aos amigos do coração, Patrícia Freire, Luiz Antônio, Simone Vivaldini, Aliete Nunes e Ariadna Alvin, pela compreensão, atenção, cuidado e amor antes, durante e após a tese;

Às diversas instituições de financiamento e fomento envolvidas nesta tese: Ministério da Saúde, Secretaria de Estado de Saúde do Pará, Fundação Ezequiel Dias-MG, Instituto de Pesquisa e diagnóstico da APAE-MS, Universidade Federal do Pará

## In Memoriam

Ao Dr. Aluízio Prata, ícone e desbravador da doença de Chagas no Brasil, sua perseverança, conhecimento e ternura serviram de base para minha compreensão do quanto somos peças únicas, preciosas e responsáveis pela elucidação desta moléstia tão originalmente nossa;

A Antônio Carlos Silveira, companheiro, incentivador, amigo pessoal e pioneiro em descrever o cenário amazônico e suas implicações. Seus trabalhos e opiniões técnicas foram significativas para minha vontade de entender a Amazônia no contexto da doença de Chagas;

## Sumário

	Pág
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>xiv</b>
<b>LISTA DE QUADROS</b>	<b>xvi</b>
<b>Lista de abreviaturas, siglas ou símbolos</b>	<b>xvii</b>
<b>RESUMO</b>	<b>xix</b>
<b>1. Introdução</b>	<b>1</b>
<b>2. Revisão da literatura</b>	<b>5</b>
2.1. Doenças emergentes - Considerações preliminares	5
2.2. História da doença de Chagas	7
2.3. Distribuição da doença de Chagas	9
2.4. Vetores	10
2.5. Reservatórios	14
2.6. Agente etiológico	15
2.7. Ciclo Evolutivo do <i>T. cruzi</i>	17
2.7.1. No vetor invertebrado	17
2.7.2. No hospedeiro vertebrado	17
2.8. Aspectos Clínicos	18
2.8.1. Fase aguda	18
2.8.2. Fase Crônica	19
2.9. Mecanismos de transmissão	19
2.10. Diagnóstico	20
2.10.1. Diagnóstico na fase aguda	20
2.10.2. Diagnóstico na fase crônica	21
2.11. A Doença de Chagas na Amazônia Brasileira	22
2.12. A vigilância da doença de Chagas	23

2.13.	A mudança de paradigma na vigilância epidemiológica da doença de Chagas	29
<b>3.</b>	<b>Justificativa</b>	<b>39</b>
<b>4.</b>	<b>Objetivos</b>	<b>41</b>
4.1.	Objetivo Geral	41
4.2.	Objetivos específicos	41
<b>5.</b>	<b>Metodologia</b>	<b>42</b>
5.1.	Desenho do estudo	42
5.2.	População e área de Estudo	43
5.2.1.	Seleção das localidades e período do estudo	44
5.3.	Fonte de dados epidemiológicos	47
5.3.1.1.	Casuística da doença de Chagas em Abaetetuba	47
5.3.2.	Inquérito parasitológico e sorológico humano	47
5.3.3.	Processamento das amostras	49
5.3.3.1.	ELISA	49
5.3.3.2.	Hemaglutinação Indireta (HAI)	50
5.3.3.3.	Gota de sangue examinada a fresco	50
5.3.3.4.	Método de concentração de parasitas – creme leucocitário	51
5.3.3.5.	Imunofluorescência indireta – IFI IgM e IgG	51
5.3.4.	Inquérito entomológico	52
5.3.5.	Diagnóstico Ambiental	54
5.3.6.	Processamento e Análise de dados	55
<b>6.</b>	<b>Resultados</b>	<b>60</b>
6.1.	Casuística de DCA em Abaetetuba, período 2005 a 2012	60
6.1.1.	Características clínicas e epidemiológicas	60
6.1.2.	Distribuição temporal-espacial e sazonalidade da DCA em Abaetetuba.	62
6.1.3.	Análise Univariada - Vigilância	64
6.1.4.	Análise Multivariada – Vigilância	66
6.2.	Positividade da infecção por <i>T. cruzi</i> em Abaetetuba	68

6.3. Inquérito entomológico	72
6.3.1. Infestação em unidades domiciliares	72
6.3. Modelagem do risco ecoepidemiológico da doença de Chagas	80
6.3.1. Análise Univariada - Inquérito	80
6.3.2. Análise Multivariada - Inquérito	82
<b>7. Discussão</b>	<b>85</b>
7.1. Dinâmica local da DCA segundo o sistema de vigilância	86
7.2. Componente econômico na epidemiologia local da DCA	88
7.3. Aspectos clínicos	90
7.4. Aspectos ecológicos, climáticos, ambientais e entomológicos	92
7.5. Modelo ecoepidemiológico de risco para a doença de Chagas	95
7.6. Limitações do estudo	99
<b>8. Conclusões</b>	<b>100</b>
<b>9. Recomendações</b>	<b>101</b>
<b>10. Bibliografia</b>	<b>104</b>
<b>11. Anexos</b>	<b>131</b>

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO CHAGÁSICA. DISTRIBUIÇÃO POR ESTADO. INQUÉRITO SOROLÓGICO NACIONAL. BRASIL. 1975/1980.....	25
FIGURA 2. MAPA DAS ÁREAS DE RISCO DA DOENÇA DE CHAGAS.....	26
FIGURA 3: MAPA DA ESTRATIFICAÇÃO DE RISCO DAS ÁREAS DE RISCO PARA TRANSMISSÃO DE DC NO BRASIL. ....	29
FIGURA 4 . ESTRATIFICAÇÃO DAS ÁREAS PARA A VIGILÂNCIA DA DOENÇA DE CHAGAS.....	36
FIGURA 5. FLUXOGRAMA DE ABORDAGEM SISTÊMICA DO PROGRAMA DE CONTROLE DA DOENÇA DE CHAGAS.....	37
FIGURA 6. MAPA – ABAETETUBA - PA.....	44
FIGURA 7. LOCALIZAÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO. ABAETETUBA- PA .....	45
FIGURA 8. DISTRIBUIÇÃO MENSAL DOS CASOS ACUMULADOS DE DCA NO MUNICÍPIO ABAETETUBA- PA, 2005-2012.....	63
FIGURA 9. GRÁFICO NORMAL DE PROBABILIDADE PARA O MODELO QUASIPOISSON. ABAETETUBA-PA. 2005-2012.....	67
FIGURA 10. AMOSTRAS PARA SOROLOGIA POR FAIXA ETÁRIA E SEXO. ABAETETUBA-PA. 2008-2009 .....	68
FIGURA 11. RESULTADOS DAS AMOSTRAS POR LABORATÓRIO E MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO. ABAETETUBA-PA. 2008-2009.....	70
FIGURA 12. DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE TRIATOMÍNEOS QUANTO À FONTE ALIMENTAR E INFECTIVIDADE POR ÁREA. ABAETETUBA-PA. 2008-2009 .....	75
FIGURA 13. CASOS HUMANOS E PALMEIRAS INFESTADAS NA ILHA DE AJUAÍ. ABAETETUBA-PA. 2008-2009 .....	77
FIGURA 14. CASOS HUMANOS E PALMEIRAS INFESTADAS EM FRANCILÂNDIA. ABAETETUBA-PA. 2008-2009.....	78
FIGURA 15. CASOS HUMANOS E PALMEIRAS INFESTADAS EM PANACAUERA. ABAETETUBA-PA.2008-2009.....	79
FIGURA 16. PROBABILIDADE DE OCORRÊNCIA DA DCA PELO MODELO MULTIVARIADO CONSIDERANDO VARIÁVEL A VELOCIDADE DO VENTO. ABAETETUBA-PA. 2008-2009.....	83
FIGURA 17. PROBABILIDADE PREDITA PELO MODELO DE REGRESSÃO LOGÍSTICA MULTIVARIADO CONSIDERANDO A VELOCIDADE DO VENTO CONSTANTE NA MÉDIA IGUAL A 2.71 M/S. ABAETETUBA-PA. 2008-2009 .....	84

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. SÉRIE HISTÓRICA DOS SURTOS DO BRASIL. 1965 A 2007 .....	30
TABELA 2. VARIÁVEIS DE RISCO E UNIDADES DE MEDIDA E CODIFICAÇÃO .....	56
TABELA 3. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS E CLÍNICAS DOS CASOS DE DOENÇA DE CHAGAS AGUDO EM ABAETETUBA – PA, 2005-2012.....	61
TABELA 4. DISTRIBUIÇÃO DOS CASOS POR ANO SEGUNDO O MODELO QUASIPOISSON. ABAETETUBA-PA, 2005-2012.....	62
TABELA 5. DISTRIBUIÇÃO DOS CASOS DE DCA POR ÁREA DA INFECÇÃO POR SEMESTRE. ABAETETUBA-PA. 2005-2012.....	63
TABELA 6. RAZÃO DE CHANCES E NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA ( <i>P</i> -VALOR), BASEADAS NO MODELO QUASIPOISSON UNIVARIADO PARA A DCA SEGUNDO O BANCO DE VIGILÂNCIA, ABAETETUBA- PA. 2005-2012.....	64
TABELA 7. COMPARAÇÃO ENTRE NÍVEIS DAS VARIÁVEIS EXPLICATIVAS SEGUNDO O MODELO QUASIPOISSON .....	65
TABELA 8. MODELO DE REGRESSÃO LOGÍSTICA MULTIVARIADA PARA DOENÇA DE CHAGAS. ABAETETUBA-PA. 2005-2012 .....	66
TABELA 9. POPULAÇÃO AMOSTRADA, POSITIVOS E PREVALÊNCIA SEGUNDO AS LOCALIDADES. ABAETETUBA-PARÁ. 2008-2009.....	69
TABELA 10. POSITIVIDADE DAS AMOSTRAS DE SANGUE VENOSO EM PESSOAS QUE DECLARARAM FEBRE OU CONTATO COM TRIATOMÍNEOS. ABAETETUBA-PA. 2008-2009. ..	69
TABELA 11. SOROLOGIA POR IDADE, SEXO, MÉTODO DE DIAGNÓSTICO POR LABORATÓRIO, CONTATO COM TRIATOMÍNEO E FEBRE. ABAETETUBA-PA. 2008-2009.....	71
TABELA 12. TESTE DE CONCORDÂNCIA DE KAPPA. ABAETETUBA-PA. 2008-2009.....	72
TABELA 13. NÚMERO DE CASAS PESQUISADAS POR ÁREA POR ENCONTRO DE TRIATOMÍNEOS POR ESTÁDIO. ABAETETUBA - PA. 2008/2009.....	72
TABELA 14. ESPÉCIES DE TRIATOMÍNEOS CAPTURADAS, E INFECTADAS POR PALMEIRA POR LOCALIDADE. ABAETETUBA-PA. 2008-2009 .....	73
TABELA 15. GRAU DE ANTROPIZAÇÃO POR ÁREA. ABAETETUBA-PA – 2008-2009 .....	76
TABELA 16. RAZÃO DE CHANCES E NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA, NO MODELO DE REGRESSÃO LOGÍSTICA UNIVARIADO. ABAETETUBA-PA. 2008-2009.....	80
TABELA 17. MODELO DE REGRESSÃO LOGÍSTICA MULTIVARIADA PARA DOENÇA DE CHAGAS. ABAETETUBA-PA. 2008-2009.....	82
TABELA 18: EVOLUÇÃO DA ÁREA DE CULTIVO, PRODUÇÃO, RENDIMENTO E PREÇO DO AÇAÍ. PARÁ. 1996-2009 .....	157
TABELA 19: PREÇO DO AÇAÍ NO ESTADO DO PARÁ. 2012 .....	157



## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1. DISTRIBUIÇÃO DOS PARTICIPANTES COM POSITIVIDADE ISOLADA OU EM CONJUNTO COM POSITIVIDADE MATERNA, SEGUNDO ESTADO, MUNICÍPIO DE RESIDÊNCIA E A CATEGORIA DE POSITIVIDADE PARA DOENÇA DE CHAGAS NAS REGIÕES NORTE E NORDESTE.....	28
QUADRO 2. MODELO DE INVESTIGAÇÃO DE DCA .....	33
QUADRO 3: VARIAÇÃO NO PREÇO DO AÇAÍ ACUMULADO POR MÊS. PARÁ. 2009-2012 .....	158

## Lista de abreviaturas, siglas ou símbolos

- AER - Avaliação Ecológica Rápida
- AIDS - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
- AMCHA - Iniciativa Amazônica
- <sup>0</sup>C – Graus Celsius
- CDC - Center Disease Control
- CENSIPAM - Centro do Sistema de Proteção da Amazônia
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento
- DC – Doença de Chagas
- DCA – Doença de Chagas Aguda
- DIE - Doença Infecciosa Emergente
- DIEESE – Departamento Intersindical de Estatística e Estudos Sócioeconômicos
- DTUs - Discret Taxonomica Units
- ELISA IgM - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay com pesquisa de IgM
- FIOCRUZ - Instituto Oswaldo Cruz
- FUNED - Fundação Ezequiel Dias
- GPS - Global Position System
- HAI - Hemaglutinação Indireta
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- IEC- Instituto Evandro Chagas
- IFI-IgM - Imunofluorescência Indireta com pesquisa de IgM
- IgG – Imunoglobulina G
- IgM – Imunoglobulina M
- INCOSUR - Iniciativa do Cone Sur
- INMET – Instituto Nacional de Meteorologia

INSIC - Inquérito Nacional de Soroprevalência da Infecção Chagásica

IPED/APAE - Instituto de Pesquisa e Diagnóstico da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de Campo Grande-MS

LACEN-PA - Laboratório Central do Estado do Pará

Mm – milímetros

MS – Ministério da Saúde

m/s – Metros por segundo

OMS – Organização Mundial da Saúde

OPAS – Organização Pan-americana de Saúde

OPS – Organización Panamericana de la Salud

PACS/PSF - Programa de Agentes Comunitários de Saúde/ program Saúde da família

PCR - Polymerase Chain Reaction

PNCDCCh - Programa Nacional de Controle de Doença de Chagas

PO's - Pontos de Observação

SAGRI – Secretaria de Agricultura

SESPA – Secretaria de Estado de Saúde Pública do Pará

SIG - Sistema de Informação Geográfica

*T. cruzi* - *Trypanosoma cruzi*

UTM - Sistema Universal Transverso de Mercator

WB - Western Blot

WHO – World Health Organization

ZCIT - Zona de Convergência Intertropical

## RESUMO

### ECO-EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA DE CHAGAS AGUDA EM ÁREA AMAZÔNICA. MUNICÍPIO DE ABAETETUBA, ESTADO DO PARÁ, BRASIL, 2008-2009

Na Amazônia Brasileira as descrições sobre Doença de Chagas Aguda (DCA) tem se limitado a análise de surtos orais e casos isolados. O Estado do Pará, a partir da sistematização da vigilância da doença de Chagas, registrou entre 2005 e 2012 um número crescente de casos agudos, principalmente na região nordeste do Estado. Para avaliar fatores associados ao risco de ocorrência de DCA foram selecionadas áreas urbanas, rurais e ilhas, no município de Abaetetuba onde foram feitos cortes epidemiológicos entre os anos 2008 e 2009 confrontando-se as informações da casuística registrada pelo Sistema Nacional de Notificação de Agravos (SINAN) no período 2005-2012 com os achados do trabalho de campo. Nos inquéritos realizados foi aplicado um questionário, coleta de amostras biológicas para estudo sorológico e parasitológico, capturas entomológicas em unidades domiciliares e ecótopos naturais para determinar os níveis de infestação, infecção pelo *Trypanosoma cruzi* e estudo de fonte alimentar em triatomíneos, georreferenciamento das residências, palmeiras e casos humanos, análise ambiental para estratificar o grau de antropização e dados climatológicos. De uma população de 6213 residentes (4,3% da população do município), foram analisadas 4699 amostras, dando uma soroprevalência geral de 2,54 por mil hab. Não foram encontrados triatomíneos domiciliados e dos 250 espécimes capturados em palmeiras, 85,20% foi da espécie *Rhodinus pictipes*, com uma infectividade de 11,26% que se alimentaram principalmente com sangue de gambá e roedor. A análise multivariada demonstrou que a febre, contato com triatomíneos, palmeiras infestadas e velocidade do vento são fatores altamente significativos e associados (RC= 28.7; 14.5; 10.3 e 4.36 respectivamente) ao risco de contrair a doença de Chagas, principalmente na ilha de Ajuai, área menos antropizada, que no momento da pesquisa apresentava um ciclo enzoótico ativo e estabelecido; no banco de vigilância observou-se associação significativa entre a ocorrência de DCA e apresentar edema, febre e alimentar-se com açaí. Os resultados indicam uma epidemiologia da DCA diferenciada entre as áreas de estudo onde a dinâmica de produção do açaí produzido nas ilhas tem relação com a ocorrência dos casos agudos por transmissão oral na área urbana. Estes achados devem ser considerados na formulação das políticas públicas para o controle da doença na região amazônica.

Palavras chave: Doença de Chagas Aguda, Amazônia, Epidemiologia

## ABSTRACT

### ECO-EPIDEMIOLOGY OF ACUTE CHAGAS DISEASE IN AMAZON AREA. MUNICIPALITY ABAETETUBA, PARÁ STATE, BRAZIL, 2008-2009

In the Brazilian Amazon descriptions of Acute Chagas Disease (ACD) have been limited to oral outbreaks and isolated cases analysis. Between 2005 and 2012, the Pará State, under systematic surveillance of Chagas disease, recorded an increasing number of acute cases, especially in the northwest region. To assess factors associated with the risk of ACD, cross-sectional surveys were developed in urban, rural and island areas in Abaetetuba municipality, between 2008 and 2009. Findings in the fieldwork were confronted to the information recorded by the National System of Notifiable Diseases (SINAN) between 2005-2012. Surveys techniques included: a questionnaire, collection of biological samples for serological and parasitological studies, entomological catches in households and natural ecotopes to determine infestation levels, infection by *Trypanosoma cruzi* and the food source in triatomines; georeferencing was made of households, palm trees and human cases; environmental analysis assessed the degree of anthropization; climate data was included. From a population of 6213 residents (4.3% of the municipality), 4699 samples were analyzed, giving an overall prevalence of 2.54 per thousand inhabitants. Not domiciled triatomines were found and out of 250 specimens captured in palms, 85.20% was *Rhodnius pictipes*, whose infectivity was 11.26% and fed mainly with possum and rodent blood. Multivariate analysis demonstrated that fever, contact with triatomines, infested palms and wind speed are factors strongly associated (OR = 28.7; 14.5; 10.3 and 4.36 respectively) to the risk of contracting ACD, primarily on the island of Ajuai, less anthropized area, which at the time of the survey had an active and established enzootic cycle. The surveillance data showed significant association between the occurrence of ACD and the presence of edema, fever and having fed açai. We observed an epidemiology of ACD differentiated between the study sites, where the dynamics of açai produced in the islands has a relationship with the occurrence of acute cases by oral transmission in the urban area. These findings should be considered in the formulation of public policies for the control of Chagas' disease in the Amazon region.

Keywords: Acute Chagas Disease, Amazon, Epidemiology

## 1. Introdução

A doença de Chagas - DC existe há milhões de anos como uma enzootia em animais silvestres, que passou a se transmitir ao homem acidentalmente quando este invadiu os ecótopos silvestres (COURA, 2007).

Atualmente se sabe que sua distribuição vai desde o sul dos Estados Unidos até o sul da Argentina. Juntos a Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Paraguai, Peru e Uruguai tem 11 milhões de pessoas infectadas (MONCAYO, 1999).

Apesar de apresentar ocorrência antiga, a doença na sua forma aguda só foi descrita em 1909. A descoberta de Carlos Chagas, ao detectar o parasito em uma criança de 02 anos, em Minas Gerais, foi considerada um marco na história da medicina pelo descobrimento simultâneo do vetor (inseto conhecido popularmente como barbeiro – gênero *Triatoma*), do agente etiológico da doença (o protozoário *Trypanosoma cruzi*) e sua patologia (DIAS, 1934; LEWINSOHN, 1981; DIAS et al., 2002). Depois desta divulgação, a ocorrência de casos e surtos de DCA, de 1965 até 2007, demonstra que 06 episódios (15,4%) ocorreram na área não Amazônica, 33 (84,6%) na Região Amazônica e destes 22 (56,4%) no Estado do Pará.

Na Amazônia o primeiro caso humano autóctone foi registrado em 1969, na cidade de Belém, Estado do Pará por SHAW et al.. (1969); mas segundo BRICEÑO-LEÓN (2007) desde o início do século 20 tinha-se conhecimento da abundância de hospedeiros mamíferos potenciais reservatórios e vetores triatomíneos na Amazônia brasileira.

Entretanto, o conhecimento da doença Chagas na área amazônica é escasso, observando-se que a região era considerada indene para transmissão da doença até 2005 (VALENTE et al., 1999; OPAS, 2004; PINTO et al., 2008) e apesar da realização de dois grandes inquéritos nacionais, a magnitude da doença não foi dimensionada, pois não tiveram uma amostragem representativa para região.

O primeiro estudo no Brasil entre os anos de 1975 e 1980 sobre a infecção chagásica com alcance nacional teve como objetivo estimar a prevalência da infecção na população geral residente em área rural (SILVEIRA et al., 2011). Foram analisadas 1.352.197 amostras procedentes de 3.026 municípios de 24 estados excetuando-se São Paulo e Rio de Janeiro, ficando a positividade média nacional em 4,22; observando-se uma positividade não esperada para os estados amazônicos, sendo igual a 0,56 no estado do Pará.

O segundo inquérito nacional de soroprevalência da infecção chagásica, foi realizado entre 2001 e 2008, em menores de cinco anos. A prevalência para o Estado do Pará foi igual a zero (OSTERMAYER et al., 2011).

Atualmente, dentre os Estados brasileiros com maior número de ocorrências de casos agudos de DC, o Estado do Pará segue responsável por mais de 70% da totalidade. Dos 934 casos de doença de Chagas aguda do Pará, registrados no período de 2005 a 2012 pelo Programa Estadual de Controle da DC, o município de Abaetetuba foi o responsável por aproximadamente 19,61% (n=184) dos casos.

A via de transmissão oral tem sido amplamente comprovada e vários autores (LAINSON et al., 1980; SHIKANAI-YASUDA et al., 1991; COURA, 1997; CAMANDARROBA et al., 2002; VALENTE et al., 2002) tem demonstrado sua importância, frequência e visibilidade na cadeia epidemiológica da DC. No Pará, tem merecido atenção tanto pelos serviços de saúde quanto pelas instituições de pesquisa científica, uma vez que o maior número de casos advém dos surtos por transmissão oral na forma de surtos restritos a grupos de convivência familiar, laboral e comunitária (microepidemias) (SHAW et al., 1969; VALENTE et al., 1993, 1999, 2000, 2002, DIAS et al., 2002; BELTRÃO et al., 2009; NÓBREGA et al., 2009).

Um dos gatilhos para todo o processo de atenção à região amazônica e, por conseguinte ao Pará, ocorreu após o surto de transmissão oral por caldo de cana em Santa Catarina (ANDRADE et al., 2006), que contribuiu para a mudança de estratégia política e o fortalecimento da vigilância na Amazônia, com enfoque primordial para a transmissão oral da DC.

O conhecimento da cadeia de transmissão da doença de Chagas na região amazônica até hoje não está devidamente caracterizado e constitui um grande desafio para a compreensão da magnitude da doença, particularmente no Pará, tanto pela aparente extensão da problemática quanto pela falta de informação sistematizada que apoie a definição das diretrizes e, portanto, a tomada de decisões desde o Programa de Controle de Doença de Chagas - PCDC.

Com a execução do Plano de Intensificação, por meio de eixos de intervenção de Gestão, Vigilância Epidemiológica, Vigilância Laboratorial, Atenção Básica, Atenção de Média e Alta Complexidade, Vigilância Sanitária, Vigilância Ambiental e Entomológica e Educação em Saúde e Mobilização Social (PARÁ, 2007), um novo cenário para DC no Pará

veio à tona e com estas interfaces mais delimitadas, foi possível começar a delinear o perfil epidemiológico da doença, suas peculiaridades, e a possibilidade da emergência e dispersão da doença de Chagas humana na Amazônia (DIAS et al.; 2001, 2002).

A partir desta constatação, o estado do Pará e o Ministério da Saúde elaboraram o Plano de Intensificação das Ações de Controle da Doença de Chagas no Pará, validado pela Resolução nº 91 (Diário Oficial do Estado do Pará (25/01/2008) e aprovado pela Comissão de Intergestores Bipartite do Pará – CIB/PA. O objetivo foi a redução da ocorrência de casos de DCA, realização de diagnóstico, tratamento oportuno e seguimento do paciente, diminuição da exposição ao risco para transmissão vetorial, diminuição do risco de transmissão oral por alimentos e redução da letalidade. Nesse contexto, o estado considerou 86 municípios como prioritários para o desenvolvimento do Plano, seja por pertencerem à área de incentivo financeiro à produção de açaí e/ou pela ocorrência de casos de DCA (PARÁ, 2007).

Com base na informação de que Abaetetuba é o segundo município com maior número de casos de DCA no Estado e que aparentemente não reúne um ciclo enzoótico capaz de gerar todos estes casos, foi considerada a necessidade de investigar a natureza da dinâmica epidemiológica da DCA na área, considerando a via oral como principal geradora de casos.

Este município tem sua atividade econômica baseada na agricultura de subsistência e é o segundo maior fornecedor de açaí para dentro e fora do Estado. Este fator econômico, vinculado à informação da ocorrência de casos de DCA, desencadeou a elaboração de um trabalho de campo para avaliar esta área de risco de transmissão de *T. cruzi* e ampliar o olhar sobre uma doença considerada negligenciada e vinculada à pobreza (DIAS, 2007; COURA, 2007; WHO, 2008).

Nesse contexto, conhecer e analisar a doença de Chagas na Amazônia, especialmente numa área onde a vigilância está sistematizada, significa fomentar o conhecimento da doença aguda e fortalecer as ações para o seu controle. Com esta finalidade, procuramos respostas para as seguintes hipóteses:

- a) Quais são as áreas de risco e os fatores de risco para DC em Abaetetuba?
- b) Qual é a magnitude da doença medida como soro prevalência da DC?
- c) Quais elementos entomológicos se encontram ao nível local?
- d) Qual a influência da antropização e de fatores climáticos para a ocorrência de DC?



Como esse modelo teórico de controle da DC, proposto pelo Consenso Brasileiro em doença de Chagas nunca havia sido testado. E ainda, como os resultados positivos em casos humanos e triatomíneos sugerem autoctonia da DC em Abaetetuba, justifica-se uma análise epidemiológica para ampliar o conhecimento sobre os fatores que podem determinar a ocorrência da doença e estabelecer critérios de risco e indicadores que possam subsidiar a vigilância.

## **2. Revisão da literatura**

### **2.1. Doenças emergentes - Considerações preliminares**

As atividades humanas têm ameaçado e causado alteração do meio físico, em boa parte responsabilizada pelas mudanças climáticas regionais e globais. Em que pesem os esforços da Organização Mundial da Saúde (OMS) com seus programas de erradicação, as populações humanas veem-se ainda a braços com endemias infecciosas (FORATTINI, 2006).

Segundo relatório da ONU, 1992, sobre os efeitos do aquecimento global e mudanças climáticas, entre outros agravos, ocorrerão surtos epidêmicos em países ricos e pobres: “No plano da saúde, as doenças tropicais vão se espalhar para além das zonas quentes. Nos países desenvolvidos a mortalidade vai aumentar, devido ao calor, a umidade e a contaminação”. O aumento das doenças infecciosas que prosperam em climas quentes pode ser atribuído à mudança do clima, especialmente a malária, o dengue e o cólera. De acordo com os cientistas, este aumento já afetou sistemas físicos e biológicos em várias partes do mundo, alterando o comportamento de alguns animais (<http://www.onu.org.br/rio20/1992-2012/>).

O modelo da teoria dos focos naturais proposto pelo parasitologista russo Pavlovsky, na década de 30, apesar de insuficiente para dar conta de explicações atuais na epidemiologia das doenças e da sua transformação pela ação do homem, representa uma possibilidade de análise mínima do espaço enquanto categoria da epidemiologia (SILVA, 1997).

O processo de urbanização de doenças transmitidas por vetores tem sido incrementado pelo crescimento demográfico, intensificação do processo migratório, aparecimento de grandes centros urbanos em áreas onde não havia tais adensamentos populacionais (CDC, 1994), e pelas interações comerciais entre cidades e países, que têm sido intensificadas por meios de transporte cada vez mais sofisticados e rápidos e ainda pelo contrabando de espécies silvestres.

Atualmente não podemos prever. O que podemos é entender melhor a relação entre a interferência humana no ambiente e as doenças, investigar antes o quanto as mudanças podem interferir nessa relação, ao contrário do que ocorreu quando da colonização da Amazônia que fez os casos de malária aumentarem de 100 000 para 1 milhão em poucos anos. Oppenheimer

escreveu: “Temos hoje a dolorosa certeza, de que o poder de modificação, nem sempre conduz ao bem, necessariamente” (AMATO, 1997).

KRAUSE, 1992 afirma que “uma nova epidemia pode estar sendo incubada agora mesmo em uma mega cidade, sem saneamento e superpovoada, do mundo não desenvolvido ou nas florestas remotas da África, América do Sul ou Ásia – regiões esparsamente povoadas que recentemente têm sido alteradas pela civilização moderna”.

Os novos agentes etiológicos têm, provavelmente, sua origem nas amplas transformações sociais observadas nos últimos 25 anos, acompanhadas de alterações importantes em vários ecossistemas (BARATA, 1997).

As transformações na dinâmica populacional decorrentes do processo de envelhecimento, do seu crescimento em determinadas condições, da mobilidade e da diferenciação e exclusão de determinados grupos contribuem para o surgimento de novos agentes etiológicos com características insuspeitas de infectividade, patogenicidade e virulência (POSSAS, 1994), ou ainda de alterações importantes nesses agentes, propiciando troca de material genético entre eles, capacidade de sobrevivência em vários ambientes, ocupação de novos nichos ecológicos, aumento da infectividade e maior capacidade de colonização.

Esses fatores têm alterado o quadro epidemiológico das doenças antigas tornando-as novas em ambientes onde não estavam presentes. Tal fato, de certa forma contradiz a ideia de que estaríamos em uma fase de transição epidemiológica naturalmente fundamentada na progressão etária da população.

Estes fatos, portanto, caracterizam o atual perfil epidemiológico brasileiro e regional, marcado pela polarização entre doenças ditas de primeiro mundo e doenças da pobreza. Ele é observado não só no Brasil, como também em vários países da América Latina, somando-se ao crescimento dos problemas ambientais e de eventos violentos, ameaçando exceder os limites do sistema de saúde (FRENK, 1992; PRATA, 1992).

De acordo com AMATO (1997), doença emergente é um conceito histórico e sua dinâmica está baseada na inter-relação entre variação microbiana, mudanças nas populações de vetores induzidas por condições econômicas e biológicas e expansão e transformação da população humana. Segundo o autor, os americanos nativos sofreram infecções emergentes quando do primeiro contato com os espanhóis. Estima-se que 54 milhões de nativos foram mortos pela introdução de doenças, ou seja, 90% da população original.

O Center for Disease Control (CDC) define doença emergente como aquela cuja incidência aumentou nas últimas décadas ou tende a aumentar no futuro, incluindo aqui a emergência de problemas novos. Exs.: AIDS, cólera, doenças causadas por agentes microbianos resistentes aos desinfetantes e medicamentos, as produzidas pela exposição a animais como o hantavírus e doença de Lyme; e, ainda, as doenças tropicais: malária, dengue, leishmanioses e doença de Chagas e as decorrentes de vigilância epidemiológica ineficiente ou insuficiente (CDC, 1994).

As tentativas de controle das doenças infecciosas e parasitárias têm sido equivocadas, resultado da falta de compreensão mais ampla de como se dá a dinâmica do processo infeccioso, dos erros conceituais a respeito do que venha a ser controle e erradicação de doenças transmissíveis e da ausência de informações sistematizadas sobre o comportamento destas doenças (WALDMAN et al., 1999).

“A epidemiologia está primeiramente interessada na ocorrência da doença por tempo, lugar e pessoas. Ela tenta determinar se houve aumento ou decréscimo da doença ao longo dos anos; se uma área geográfica tem frequência da doença mais alta do que a outra e se a característica das pessoas com a doença distingue-se daquelas sem ela” (LILIENFELD & LILIENFELD, 1980).

CHERKASSKII 1988 acrescenta ainda os determinantes dos sistemas biológico, econômico e político. A compreensão do processo infeccioso se dá pela observação contínua dos diversos fenômenos que ocorrem de forma interdependente e inter-relacionada no âmbito dos sistemas e subsistemas envolvidos.

## 2.2. História da doença de Chagas

Depois de infectar, por milhões de anos, exclusivamente animais, o *T. cruzi* começou a infectar humanos e, conseqüentemente, a doença de Chagas tornou-se uma doença infecciosa emergente (DIE). Tal como acontece com muitas DIE, o evento chave na sua emergência foi uma alteração na relação vetor-hospedeiro-parasita resultante das interações antropogênicas nos habitats da vida selvagem que permitiram ao vetor o contato com o ser humano e subsequente transmissão do parasita zoonótico aos seres humanos (WOLFE et al., 2007).

ROTHHAMMER em 1985 relata lesões intestinais e cardíacas compatíveis com as da doença de Chagas em corpos mumificados. Estudos histopatológicos em múmias incas

peruanas mostraram ninhos de formas de amastigotas de *T. cruzi* em fibras cardíacas (FORNACIARI et al., 1992), confirmando a teoria clássica da origem andina de infecção humana pelo *T. cruzi* há cerca de 6.000 anos atrás, provavelmente quando a população adotou hábitos sedentários (FERREIRA, 2011).

No Brasil, a teoria foi que a doença teria sido introduzida no período colonial concomitante com a introdução do *Triatoma infestans*, que se adaptou às habitações precárias feitas de barro e pique, (DIAS et al., 2000). Porém dados obtidos com ferramentas moleculares (AUFDERHEIDE et al., 2004; LIMA et al., 2008) mostraram que tanto no Brasil como em outras partes do continente Americano a entrada de humanos no ciclo de transmissão zoonótica do *T. cruzi* provavelmente começou logo que este chegou ao continente americano (ARAÚJO et al., 2009).

O certo é que a descoberta da doença coube a Carlos Chagas quando foi designado a realizar trabalho clínico e profilático de malária na estrada de ferro Central do Brasil em Lassance – Minas Gerais e observou pessoas com sintomas adversos àqueles da doença. Conforme ilustrado na célebre frase de Oswaldo Cruz publicada neste mesmo ano, *o descobrimento desta moléstia constitui o mais belo exemplo do poder da lógica a serviço da ciência. Nunca até agora, nos domínios das pesquisas biológicas, se tinha feito um descobrimento tão complexo e brilhante e, o que mais, por um só pesquisador* (MALAFAIA & RODRIGUES, 2010).

Este descobrimento foi um marco na história da medicina, uma vez que o cientista mineiro descobriu não apenas o vetor (inseto conhecido popularmente como barbeiro – gênero *Triatoma*) e o agente etiológico da doença (o protozoário *T. cruzi*), como ainda descreveu sua patologia. A divulgação deste marco data de 22 de abril de 1909, quando na ocasião uma nota prévia foi publicada na revista Brasil Médico e anunciava *nova espécie mórbida do homem*, produzida por um tripanossomo, o *T. cruzi* (CHAGAS, 1909), sendo neste mesmo ano publicado um artigo completo no primeiro volume da revista de Manguinhos, Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, o qual tratou do estudo sobre o ciclo evolutivo do *T. cruzi* (CHAGAS, 1909).

Chagas ressaltou, ainda, que se tratava de uma doença que afetava a população rural que morava em casas com condições satisfatórias para a colonização do vetor e, portanto passível de controle, como disse em 1911 na II Conferência da Academia Nacional de Medicina: “Cumprе salientar que o principal facto epidemiológico da moléstia é constituído pôr um insecto, companheiro constante do homem nos domicílios e, pôr isso mesmo,

facilmente atingível às medidas de destruição, medidas sanitárias nesse sentido, visando, sobretudo, modificar as condições de habitabilidade... importariam, sem dúvida, em acto administrativo do maior proveito” (DIAS & SCHOFIELD, 1999).

Em 1934 Chagas descreveu sua distribuição assim: “Primeiramente verificada no Brasil em Minas Gerais, esta tripanosomíase não é exclusiva do nosso país, foi observada em outros países da América Central e Sul. Na Argentina, nas províncias de Tucumán e Catamarca, muitos casos foram observados com verificação de parasitas no sangue periférico, tanto quanto no Peru, Venezuela, San Salvador e recentemente no Panamá”.

Carlos Chagas registrou os primeiros casos de infecção pelo *T. cruzi* na Amazônia Brasileira em macacos *Saimiri sciureus* capturados no Estado do Pará (CHAGAS, 1924). Em 1938, FERREIRA & DEANE identificaram um protozoário indistinguível de *T. cruzi* em diversos mamíferos silvestres e triatomíneos.

### 2.3. Distribuição da doença de Chagas

Hoje se sabe que a doença se estende desde o sul dos Estados Unidos até o sul da Argentina, estima-se que ainda existam entre 12 e 14 milhões de infectados na América Latina, com mais de 60 milhões de pessoas sob risco de transmissão, em cerca de 18 países endêmicos (WHO, 2002).

Por muitas décadas a doença de Chagas foi estritamente rural, existindo apenas em zonas marcadas pela pobreza e exclusão. A doença foi simbolizada pela família de camponeses e da cabana rural cheia de triatomíneos. No entanto, mudanças nas áreas rurais, migrações para as cidades, o aumento da pobreza no meio urbano, transformou a doença em fenômeno igualmente urbano. O símbolo não é mais a cabana rural, mas os bancos de sangue, os imigrantes e pacientes em hospitais que procuram ajuda e atenção (BRICEÑO-LEON & GALVÁN, 2007). Em todos os países as pessoas vivem mais nas cidades do que no campo, aliás, 70% da população é urbana (CELADE, 2004). Ao mesmo tempo, observa-se o crescimento da pobreza nas cidades e, portanto o aumento da prevalência da doença nesse meio.

Em seu contexto geral e frente à evolução política e social do continente, a doença de Chagas humana constitui-se um exemplo particular e característico na América Latina, pois

reflete e sofre as consequências da história social e da questão da equidade na região (DIAS, 2007).

Mudanças no comércio, produção e finanças no mundo estão afetando a presença da doença de Chagas. Pode-se observar claramente tal fato em dois processos que ocorrem em locais completamente diferentes, por um lado, a presença da doença de Chagas, nos Estados Unidos e Europa desde a chegada cada vez maior de imigrantes latino-americanos, e, do outro, a crescente presença da doença de Chagas na Amazônia (BRICEÑO-LEON & GALVÁN, 2007).

Na região Amazônica, apesar de se encontrar uma grande quantidade de vetores e de animais que são reservatórios do parasita, foi apenas recentemente que os casos autóctones foram encontrados e um aumento notável deles pode ser observado (COURA et al., 2002, JUNQUERA et al., 2005). Alguns fatores importantes, tais como o desmatamento, a eliminação das fontes de alimento silvestres dos vetores, o processo de ocupação de novos territórios, o aumento do sedentarismo da população, a difusão de um novo tipo de casa e a incorporação da presença de animais domésticos em casa (COIMBRA & SANTOS, 1994, COIMBRA et al., 2004), produzem um habitat atraente que pode ser visitado e colonizado pelos vetores da doença.

#### 2.4. Vetores

Há mais de cem anos atrás, médicos entomologistas sugeriram uma conexão entre a diversidade de espécies e a transmissão de doenças transmitidas por vetores a seres humanos (SERVICE, 1991).

Sem dúvida o fato mais consistente da tripanossomíase nas Américas está no registro da presença dos vetores invertebrados, aliás, fundamental na descoberta de Carlos Chagas (SCHOFIELD, 1998; DIAS, 2000).

Frei Reginaldo de Lizarraga foi o primeiro a descrever os aspectos e hábitos de triatomíneos, provavelmente *T. infestans* em 1590, quando inspecionava conventos do Peru ao Chile (VELAZCO & RIVAS, 2007).

O primeiro triatomíneo foi formalmente descrito em 1773 por DE GEER como *Cimex rubrofasciatus*, 60 anos mais tarde esta espécie foi classificada como do gênero *Triatoma* por

LAPORTE (1832-1833). Em 1811 LATREILLE classificou duas espécies que chamou de *Reduvius dimidiatus* e *Reduvius geniculatus* ambos do Equador. KLUG (1834) descreveu o *Reduvius infestans* no sudeste da América do Sul. BURMEISTER (1835) foi o primeiro entomologista a chamar atenção para o hábito hematofágico do triatomíneo, até então desconhecido, apesar de ter sido referido por vários viajantes que faziam expedições à América do Sul.

Estes insetos receberam numerosos nomes, muitos sugeridos por observação indígena de seus aspectos morfológicos e hábitos: barbeiro, chupão, chupança, fincão, furão, bicudo, percevejo, bicho de parede, bruxa, percevejo do sertão, percevejo grande, procotó, porocotó, baratão, cafote, cascudo, piolho de piaçava, rondão, vum-vum, vinchuca (ARGOLO, 2008).

Seus habitats primários são tocas, buracos de animais, ninhos de aves e marsupiais, edentados, roedores e carnívoros. São encontrados em rochas e muros de pedras, em buracos de árvores, palmeiras e bromélias. No peri domicílio ocorre em currais, estábulos, em casa de coelhos, porcos, galinhas e dentro das residências (ARGOLO, 2008).

Nas habitações humanas preferem lugares escuros como armários, fendas nas paredes, colchões, quadros, etc. Não voam muito, são atraídos pela luz e assim adentram nos domicílios.

Triatomíneos pertencem a ordem Hemiptera, família Reduviidae e subfamília Triatominae, tem porte grande, hematofagos restritos podem realizar canibalismo e coprofagia podendo assim transmitir o *T.cruzi* de vetor a vetor. São ovíparas, as fêmeas tem um período de 3 a 4 meses de oviposição e produz de 100 a 200 ovos por ano. Os ovos rompem-se de 10 a 20 dias após a copulação, a ovoposição pode durar por vários meses. O número de ovos varia de acordo com a espécie e com os fatores externos como alimento, temperatura e umidade. Há cinco estádios ninfais e todos são hematofagos estritos. O ciclo de vida completo pode variar de 90 dias até 2 anos (LENT, 1979). A maioria das espécies é silvestre, possui hábitos noturnos, tendem a voar pouco, e as fêmeas são mais ativas do que os machos e apresentam com maior capacidade de dispersão e longevidade.

De acordo com NEIVA & LENT (1941) até 1941 haviam listado 89 espécies distribuídas em 63 países. Em 1979 LENT & WYGODZINSKY estudaram e publicaram 110 espécies válidas de Triatominae distribuídas em tribos e gêneros (LENT, 1999). Das 142 espécies conhecidas que estão divididas em 5 tribos e distribuídas em 15 gêneros (SCHOFIELD & GALVÃO, 2009), 48 foram identificadas no país, das quais 30 já foram



capturadas no ambiente domiciliar e 34 na região amazônica. Dentre todos os gêneros, o *Triatoma*, *Panstrongylus* e *Rhodnius* são epidemiologicamente os mais importantes.

Um amplo levantamento entomológico realizado no Brasil entre 1975/1983 demonstrou que 17 (dezesete) espécies vivem no ambiente domiciliar com níveis variáveis de colonização e infecção. As espécies *Triatoma sordida*, *Triatoma infestans*, *Panstrongylus megistus*, *Triatoma pseudomaculata* e *Triatoma brasiliensis*, são consideradas de especial importância na transmissão da doença ao homem (SILVEIRA et al., 1984). À exceção do *T. infestans*, as outras espécies são nativas: *T. sordida* é encontrada onde há cerrado, *P. megistus* em áreas úmidas (costeira e ao longo dos rios), *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata* são nativos da região semiárida, entretanto, com o programa de controle do *T. infestans* implantado em 1983 houve uma drástica redução destas espécies (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Outras espécies como o *Triatoma rubrovaria* no Rio Grande do Sul e *Rhodnius neglectus* em Goiás vem colonizando as habitações humanas e tendem a assumir também um papel na transmissão domiciliar. Deve-se fazer referência ao *Triatoma vitticeps* pelas altas taxas de infecção natural (Espírito Santo, Rio de Janeiro e Minas Gerais), *Rhodnius nasatus* pela frequência com que é capturado em áreas localizadas (CE e RN), *Rhodnius prolixus* pelo fato de ser a principal espécie em alguns países (Colômbia e Venezuela) e por ter sido identificado em focos naturais (macubeiras) no Estado de Tocantins (SILVEIRA et al., 1984).

Segundo JUNQUEIRA et al., (2005), na Amazônia Brasileira foram registradas 16 espécies (essencialmente silvestres) de triatomíneos. Apesar de todas serem consideradas potenciais vetores, somente algumas espécies oferecem risco para a população como: *Rhodnius pictipes*, *Rhodnius robustus*, *Panstrongylus geniculatus*, *Panstrongylus herreri* e *Triatoma maculata*, conforme VALENTE (1999), TEIXEIRA et al., (2001), Consenso Brasileiro em doença de Chagas (MS, 2005), AGUILAR et al., (2007) e PATTERSON et al., (2009).

Atualmente, as evidências sugerem que às espécies do gênero *Rhodnius* apresentam um papel importante na transmissão da DC na Amazônia e em outras regiões Neotropicais. Os ecótopos preferenciais da maioria das espécies deste gênero incluem as palmeiras, especialmente as do gênero *Attalea* (Aracoideae) que possuem anatomia favorável para a proliferação desses hemípteros e representam um ecossistema único albergando ampla gama de reservatórios, tais como: marsupiais, quirópteros, roedores e bradipodídeos (LENT, 1979; MILES et al., 1981; ROMAÑA et al., 1999; GAUNT & MILES, 2000; ABAD-FRANCH et

al., 2001; MONTEIRO et al., 2002; ZELEDÓN et al., 2006; ABAD-FRANCH & MONTEIRO, 2007; DIAS et al., 2008; GURGEL-GONÇALVES, 2008).

Dentre as espécies do gênero *Rhodnius*, destaca-se *R. pictipes* que apresenta ampla distribuição geográfica (36 eco regiões da Amazônia) e tem sido capturada com frequência invadindo as habitações humanas, em diversas localidades da Região Amazônica, geralmente infectado e atraído pela luz (PÓVOA et al., 1984; SOUZA et al., 1988; AMUNÁRRIZ et al., 1991; VALENTE et al., 1999; LUITGARDS-MOURA et al., 2005, ABAD--FRANCH et al., 2009).

FÉ et al., 1989 analisando ocorrência de casos autóctones da DC, na Região do Alto Solimões, Estado do Amazonas detectaram a presença de 22 exemplares de *R. pictipes*, sendo 12 no intradomicílio e 10 em palmeiras localizadas no peridomicílio. A investigação entomológica incriminou esta espécie como potencial vetor responsável pela ocorrência dos casos.

Todas as espécies são vetoras em potencial, mas em poucos casos estão aptas a serem efetivas na transmissão da doença em homens, pois dependem dos seguintes fatores: (LENT, 1979)

- A. Adaptação da vida em habitações humanas;
- B. Alto grau de antropofilia;
- C. Curto espaço de tempo entre alimentação e defecação;
- D. Ampla distribuição geográfica.

Entretanto, é importante destacar excetuarem-se os casos de acidentes como aqueles provenientes de maceração do inseto no momento do preparo de alimentos culminando na doença aguda de etiologia oral (MS, 2005).

A domiciliação dos triatomíneos pode ser entendida como uma rota evolucionária do predador pela fonte de alimentação onde o habitat doméstico representa simplesmente um tipo particular de “ninho” de vertebrado. É um processo de especialização que envolve simplificação genética e características fenotípicas e por essa razão, irreversíveis. Espécies selváticas podem se especializar por habitats domésticos, porém perdem a capacidade de readaptação nos ambientes silvestres (SCHOFIELD, 1998).

Entretanto é importante destacar que na Amazônia, principalmente no Estado do Pará, a transmissão da doença de Chagas, tem sido relacionada principalmente as espécies *R.*

*robustus*, *R. pictipes* e *P. geniculatus*, que invadem as residências sem colonizá-los, (COURA et al., 1994; 2002). Esta invasão geralmente se dá pelo inseto em busca de alimento, tendo em vista que a alteração do ambiente silvestre impõe restrições de área e alimento aos reservatórios silvestres e em consequência perda da fonte alimentar natural do triatomíneo que são então atraídos para o domicílio em busca de fonte alternativa de alimento, aumentando assim o risco de transmissão da doença de Chagas. (NOIREAU et al., 1995; 2005; GALVÃO et al., 2003).

A análise de padrão alimentar dos vetores oferece parâmetros para o melhor entendimento do comportamento de espécies em área de transmissão de *T. cruzi*. Pode ser considerado como indicador, em determinados ambientes, dos possíveis hospedeiros naturais que estejam participando na manutenção do ciclo enzoótico, contribuindo para a identificação do reservatório (LOROSA et al., 2003; CARANHA et al., 2006).

## 2.5. Reservatórios

A primeira infecção natural em mamífero foi registrada em gato por CHAGAS em 1909, e seguida em crianças. CHAGAS (1924) também encontrou *T. cruzi* em macacos *Chrysothrix sciureus* capturados no Pará.

O *Callitrix penicillata* foi a primeira espécie de primata não humano utilizada como modelo experimental para a doença de Chagas por Oswaldo Cruz e Carlos Chagas, em 1909. Estes animais desenvolveram satisfatoriamente a infecção aguda, entre 20 a 30 dias após o contato com triatomíneos infectados. O *Callitrix* também tem sido utilizado para testes de imunização, inferindo sobre a competência imunógena de alguns candidatos à vacina humana. <http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=101>

Foram descritos mais de 200 espécies de mamíferos com a presença de *T. cruzi* (DEANE, 1961; SHERLOCK, 1997). Os registros de mamíferos infectados englobam uma diversidade de espécies: marsupiais (*Didelphis* sp, *Philander* sp, *Marmosa* sp) roedores (*Nectomys* sp, *Neotoma* sp, *Akodan* sp, *Rattus* sp, *Proechymis* sp) carnívoros (*Procyon* sp, *Tayra* sp, *Urocyon* sp) e primatas (*Saimiri* sp, *Aotus* sp, *Leontocebus* sp, *Cebus* sp) e o homem (CIDEIM, 1994). Nem todos são importantes reservatórios, tendo em vista os que coabitam ou estão próximos ao homem como o cão, rato, gambá, tatu tem uma maior

importância epidemiológica. As aves e animais de sangue frio são refratários à infecção, mas são de relevância, uma vez que podem servir de fonte alimentar para o vetor (MS, 1998).

Na Amazônia brasileira, a transmissão enzoótica de *T. cruzi* entre mamíferos silvestres tem sido reconhecida por muitas décadas (DEANE, 1984; LAINSON et al., 1979), o *Didelphis marsupialis*, *Philander opossum*, *Dasyopus novencinctus*, *Tamandua tetradactyla*, *Saimiri sciureus*, *Chiropotes satanas* (VALENTE et al., 1992) foram encontrados parasitados com *T. cruzi*.

O estudo da interação do *T. cruzi* com marsupiais considerado o mais importante e mais antigo reservatório, tem contribuído com novos dados sobre a biologia e ecologia do flagelado. DEANE et al., em 1984, descobre estágios tipicamente encontrados em triatomíneos, também no lúmen das glândulas anais de *D. marsupialis* evidenciando que este animal, além de reservatório pode ser um vetor (SOUSA, 1999). Além de ocupar o ambiente silvestre este, pode ser frequentemente encontrado próximo às residências e considerado um importante elo entre o ciclo de transmissão silvestre e o doméstico (JANSEN et al., 1999).

Por envolver em seu ciclo uma multiplicidade de espécies de mamíferos potenciais reservatórios, o ciclo de transmissão da DC é complexo. Algumas teorias a esse respeito sugerem que o risco estaria vinculado a abundância ou redução da diversidade de mamíferos e seleção daqueles reservatórios mais susceptíveis ao *T. cruzi*, (KEESING et al., 2006, ROQUE et al., 2008) o que poderia aumentar a proximidade e risco da infecção ao homem.

## 2.6. Agente etiológico

Antes da descoberta da Doença de Chagas e do conhecimento da importância do barbeiro, quando trabalhava na profilaxia da malária em Rio das Velhas, Carlos Chagas observara uma doença que denominou de doença mórbida do homem. Após isto descobriu o *T. cruzi* em um triatomíneo (CHAGAS, 1909), que lhe foi trazido com histórico de hematofagia em humanos, e em sangue de gato (PRATA, 1999). Em contato com Oswaldo Cruz publicou em alemão a descrição das espécies: *Trypanosoma minasense* n. sp. e *T. cruzi* n.sp., nome dado em homenagem a Oswaldo Cruz (LENT, 1999).

Primeiramente denominou-o *Schizotrypanum*, mas logo corrigiu seu erro (CHAGAS 1913). A evolução do parasita no *Triatoma infestans* e a possibilidade de outras espécies atuarem como vetoras, por ex. o *Triatoma infestans*, foi reportada por CHAGAS em 1913.

O *T. cruzi* é um protozoário flagelado da ordem Kinetoplastida, família trypanosomatidae, caracterizado pela presença de um flagelo e uma única mitocôndria. No sangue dos vertebrados ele se apresenta sob a forma de tripomastigota e nos tecidos como amastigotas. Embora capaz de recombinação *in vitro* (GAUNT et al., 2003), o *T. cruzi* se reproduz predominantemente por fissão binária. Conseqüentemente, o seu genótipo diplóide nuclear é transmitida em bloco para sua progênie.

O *T. cruzi* tem uma grande variabilidade intraespecífica verificada pela morfobiologia, o que possibilitou uma ampla distribuição geográfica na América Continental e diversidade de hospedeiros (DEANE, 1961, SHERLOCK et al., 1997). Alguns autores acreditam que esta diversidade aconteceu por recombinações genéticas (SOUZA, 1999, BOGLIOLO et al., 1996, CARRASCO et al., 1996). Estudos de DNA que utilizaram uma variedade de técnicas demonstraram a variabilidade do parasita (MACEDO & PENA, 1998).

O estudo da eletroforese enzimática define três sub populações (zymodemas) no Brasil, associadas ao ciclo doméstico (ZII) ou ciclo silvestre (ZI e ZII) (MILES et al., 1978). Recentemente estudos moleculares o dividem em duas linhagens filogenéticas distintas: Linhagem I (ciclo domiciliar) e Linhagem II (silvestre). (FERNANDES et al., 1998). JANSEN et al., 1999 sugerem, em suas observações que a dispersão do *T. cruzi* no ambiente silvestre pode ocorrer através de ciclos de transmissão distintos e independentes devido a fatores ainda desconhecidos. Esta versatilidade atinge também os tecidos como glândulas e cartilagens (DEANE et al., 1984). Este aspecto aliado a grande variabilidade de hospedeiros o classificam como o organismo com mais sucesso de adaptação á vida parasitária.

BRISSE et al., (2000) propuseram a subdivisão em seis linhagens ou DTUs (Discret Taxonomica Units) I, IIa, IIb, IIc, IId, IIe sendo o DTUI corresponde a linhagem *T. cruzi* I e o DTU IIb à linhagem II. As sublinhagens IIa, IIc-e incluem as cepas híbridas e aquelas pertencentes ao zimodema 3.

Em 2006, FREITAS et al., propuseram a existência de uma terceira linhagem designada de *T. cruzi* III. Atualmente os isolados de *T. cruzi* são distribuídos em seis linhagens ou DTUs I-VI (ZINGALES et al., 2009)

Na Amazônia Brasileira marsupiais do gênero *Didelphis* são os espécimes que apresentam as maiores prevalências de infecção por *T. cruzi* associado à linhagem TCI, entretanto em Marsupiais do gênero *Monodelphis* o zimodema 3 (linhagem TCIIc = TcIII), (PÓVOA et al.,1984; YEO et al., 2005).

Recentes especulações situam a diferenciação entre os dois grupos primordiais de *T. cruzi* caracterizados bioquímica e molecularmente. O grupo I está basicamente ligado a uma evolução primitiva em marsupiais e o grupo II, provavelmente posterior, aos primatas. O *T. cruzi* I refere-se à maioria dos isolados da selva amazônica e de transmissão doméstica ao norte da linha equatorial, estando originariamente vinculado ao gênero *Didelphis*, de larga distribuição em toda a América. O grupo II vincula-se à maioria dos casos humanos da América Austral e está espalhado no Cone Sul através de populações domésticas de *Triatoma infestans*. Supõe-se que *T. cruzi* II tenha sua origem no grupo I, foi transferido de marsupiais para primatas e roedores que emergiram na América do Sul 25 milhões de anos após os marsupiais (PRATA et al., 2011). Outra hipótese situa esta propagação a partir de edentados que compartiam seus nichos terrestres com roedores e uma série grande de triatomíneos rupestres (MILES et al., 2004; ZINGALES et al., 1999; MONTEIRO et al., 2010).

## 2.7. Ciclo Evolutivo do *T. cruzi*

### 2.7.1. No vetor invertebrado

Durante o repasto sobre mamíferos infectados, os vetores ingerem formas tripomastigotas do parasita. No estômago dos triatomíneos, ocorre a transformação em esferomastigotas e epimastigotas. Durante a vida do inseto há a tendência de que uma população de epimastigotas permaneça no intestino médio do inseto, em multiplicação sendo que alguns indivíduos ficam aderidos a mucosa do tubo (DIAS & MACEDO, 2005).

A diferenciação em tripomastigotas ocorre nos tubos de Malpighi, que são eliminados para o meio externo, na forma metacíclica (forma infectante), durante as dejeções em uma mistura de fezes e urina. O ciclo completo dura de duas a quatro semanas. (BRENER, 1997).

### 2.7.2. No hospedeiro vertebrado

O parasita necessita obrigatoriamente invadir uma célula para completar seu ciclo. Essa interiorização é feita por fagocitose mediada por receptores da membrana plasmática da célula hospedeira, com etapas de adesão e reconhecimento. Quando ocorre a penetração, as formas tripomastigotas transformam-se em amastigotas. A cada 12 horas ocorre um processo

de divisão podendo variar de 50 a 500 amastigotas por célula parasitada. As formas amastigotas se diferenciam em tripomastigotas, sendo a forma viável quando há o rompimento da célula que caindo na corrente sanguínea irão parasitar outras células.

A preferência pela localização em células cardíacas, da musculatura lisa e do sistema nervoso, apresenta implicações no curso clínico da enfermidade, imediata ou tardiamente (ANDRADE, 2000).

## 2.8. Aspectos Clínicos

### 2.8.1. Fase aguda

Após cair na corrente sanguínea e na corrente linfática, os tripomastigotas dispersam-se por todo o organismo, em vários tecidos e órgãos preferencialmente o miocárdio. Ocorre então uma intensa parasitemia, que pode ser detectada por exames parasitológicos diretos. Nesta fase ocorre febre que pode persistir por até 12 semanas, mal estar geral, cefaleia, edema de face, membros inferiores ou generalizado hipertrofia dos linfonodos e hepatoesplenomegalia leve ou moderada, icterícia e dor importante em epigastro ou hipocôndrio direito, podendo, ainda, ocorrer sangramento digestivo. Pode apresentar o sinal e porta de entrada aparente (Sinal de Romana<sup>1</sup>). É possível detectar anticorpos IgM que coincidem com a queda da parasitemia circulante, com aumento gradual de anticorpos IgG (SESPA, 2009). Nesta fase os sinais e sintomas podem progredir para formas agudas graves que podem levar a morte ou desaparecer espontaneamente evoluindo para fase crônica (SESPA, 2009).

---

<sup>1</sup> Sinal característico da porta de entrada da infecção. Nome dado em homenagem ao seu descobridor Cecílio Romana, que em 1935 publicou suas observações acerca da “conjuntivite esquizotripanósica unilateral”, resultando o valor patognomônico na fase inicial da doença de Chagas humana. É uma inflamação local causada pelo protozoário, nem sempre está presente ou é observada, as pálpebras e as conjuntivas de um dos olhos apresentam-se edemaciadas, com uma coloração róseo - violácea que aparece ao redor do edema palpebral, é elástico e pouco doloroso.

### 2.8.2. Fase Crônica

1. Forma Indeterminada: Paciente assintomático. Baixa parasitemia e altos níveis de anticorpos. Este quadro pode durar toda a vida da pessoa infectada ou pode evoluir para uma fase crônica clinicamente definida ou subaguda (LOPES & CHAPADEIRO, 2004).
2. Forma cardíaca: Evidências de acometimento cardíaco que evolui para miocardite dilatada, insuficiência cardíaca congestiva, insuficiência cardíaca fulminante ou arritmias graves e morte súbita. Seus sinais e sintomas são: palpitação, dispnéia, edema, tosse, tonturas, desmaios, acidentes embólicos, sopro sistólico, entre outros. Ocorre em 30% dos casos crônicos e é a maior responsável pela mortalidade na DC (MS, 1998).
3. Forma Digestiva: Acometimento digestivo que evoluiu para megacólon ou megaesôfago, exatamente os seguimentos que trabalham conteúdos mais sólidos, envolvendo alterações motoras, anatômicas, de absorção e de secreção. Ocorre em 10% dos casos (LOPES & CHAPADEIRO, 2004; ANDRADE, 2000).
4. Forma Associada: Ocorrência concomitante compatível com as formas cardíaca e digestiva. A característica desta fase é a presença constante de anticorpos IgG e raros parasitas circulantes. Pode ser assintomática e sem comprometimentos cardíacos e do aparelho digestivo.
5. Forma crônica nervosa: Apesar da infecção acometer o sistema nervoso no homem e em animais de laboratório, seu significado ainda não está muito bem esclarecido. Há comprometimento dos sistemas motor periférico e central, este último em alguns pacientes agudos e imunodeprimidos (SIQUEIRA-BATISTA, 1996; ANDRADE, 2000).

### 2.9. Mecanismos de transmissão

Os mecanismos de transmissão conhecidos são:

1. Vetorial: ocorre por contato com excretas de triatomíneos infectados através da pele lesada ou de mucosas, durante ou logo após o repasto sanguíneo. Período de incubação de 4 a 15 dias, foi a fonte de infecção mais importante, no Brasil, antes da interrupção da transmissão pelo *T. infestans* sendo responsável por 70 a 90% dos casos.
2. Transfusional/transplantes: Passagem de parasitas por transfusão de hemoderivados ou transplante de órgãos de doadores infectados a receptores susceptíveis. Já foram descritos



casos em transplante renal, cardíaco, pancreático e de medula. Período de incubação de 30 a 40 dias ou mais, e é a fonte de infecção em 1 a 20% dos casos.

3. Vertical: Passagem de parasitas de mulheres chagásicas para seus bebês durante a gestação ou parto. Período de incubação em qualquer período da gestação ou parto. 0,5 a 10 % dos casos.

4. Acidental: Contato da pele lesionada ou mucosa com material contaminado, durante o manuseio- de material humano ou experimental contaminado com *T. cruzi*, principalmente em laboratório, especialmente sangue, fezes de triatomíneos e formas de cultura. Período de incubação de aproximadamente 20 dias. 0,2 a 0,5% dos casos.

5. Oral: As evidências experimentais até o momento sugerem que a transmissão oral pode ocorrer a partir de formas tripomastigotas, epimastigotas e provavelmente de amastigotas e massas celulares originárias de mamíferos ou vetores contaminados, ou ainda de cultivos artificiais do parasita. A ingestão de alimentos contaminados com protozoários vivos provenientes de excretas de triatomíneos ou pelo inseto (transmissão vetorial passiva ou oral) tem sido observada com maior frequência e é responsável por surtos em diversos locais. Período de incubação de 3 a 22 dias (OPAS, 2009; SESPA, 2009; DIAS & MACEDO, 2005). Atualmente é a fonte de infecção mais importante sendo responsável por 70 a 80% dos casos, principalmente nos estados amazônicos.

## 2.10. Diagnóstico

O diagnóstico da doença de Chagas deve ser apoiado pela epidemiologia, clínica e confirmado pelo diagnóstico laboratorial realizado com técnicas apropriadas, reagentes adequados e seguindo as boas práticas de laboratório (LUQUETTI & RASSI, 2000).

### 2.10.1. Diagnóstico na fase aguda

Diagnóstico parasitológico: Os exames parasitológicos são aqueles em que o parasita é observado diretamente pelo laboratorista e, são definidores do quadro de infecção por *T. cruzi* em processo de investigação. É definido pela presença de parasitas circulantes demonstráveis no exame direto do sangue periférico:

- Pesquisa a fresco de tripanosomatídeos: Exame de primeira escolha. Ideal que o paciente esteja febril no ato da coleta ou em coleta 12 a 24 horas após a primeira caso esta seja negativa;
- Métodos de concentração: Apresentam maior sensibilidade e utilizado quando o teste a fresco for negativo. Recomenda-se o método de concentração que são: Strout, microhematócrito e creme leucocitário.
- Lâmina corada de gota espessa ou esfregaço: Método de menor sensibilidade que os anteriores, porém utilizado em larga escala na região Amazônica em ações de diagnóstico de malária, sendo uma importante fonte de detecção de casos de DCA.

Diagnóstico Sorológico: A presença de anticorpos anti *T. cruzi* da classe IgM é indicativa da fase aguda quando associada a alterações clínicas e epidemiológicas. A confirmação de casos por pesquisas de IgG demanda duas coletas que possibilitem comparar a soroconversão ou a variação de três títulos sorológicos, (imunofluorescência) com intervalo de 21 dias entre as coletas.

Diagnóstico Molecular: O diagnóstico por meio de reação em cadeia da polimerase – PCR (Polymerase Chain Reaction) é de uso restrito e usado pelos centros de pesquisa em caráter experimental.

O diagnóstico diferencial na fase aguda deve ser feito em relação a febre tifóide, leishmaniose visceral, esquistossomose mansônica, mononucleose infecciosa, toxoplasmose, malária e outras doenças febris.

#### 2.10.2. Diagnóstico na fase crônica

Diagnóstico Parasitológico: Os métodos parasitológicos são de baixa sensibilidade para infecções a mais de 180 dias devido a parasitemia subpatente nesta fase.

Diagnóstico Sorológico: O indivíduo que apresentar anticorpos anti – *T.cruzi* por meio de dois testes sorológicos de princípios distintos ou com diferentes preparações antigênicas, com quadro indicativo da doença ou vínculo epidemiológico, é considerado infectado. É recomendado o uso de metodologias de maior complexidade a partir de testes de IFI-IgM (Imunofluorescência Indireta com pesquisa de IgM), Western Blot (WB) e, eventualmente ELISA IgM (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay com pesquisa de IgM), além dos testes convencionais já utilizados: IFIIgG, hemaglutinação indireta (HAI) e ELISA.

Outras metodologias ainda podem ser utilizadas, tais como: xenodiagnóstico, hemocultivo, biópsia ou PCR (MS, 2005; OPAS, 2009; SESP, 2009).

### 2.11. A Doença de Chagas na Amazônia Brasileira

A entrada do homem no ambiente silvestre e seu contato com ciclos já estabelecidos entre animais silvestres e seus parasitas, muitas vezes capazes de infectar e causar doença humana, não ocorre somente para a doença de Chagas. Esse tipo de situação tem despertado a atenção de pesquisadores e profissionais de saúde pela sua estreita relação com a emergência e/ou re-emergência de várias doenças infecciosas (SUTHERST et al., 2001; KRUSE et al., 2004).

A perda da biodiversidade é uma consequência imediata do constante crescimento das cidades e da expansão da atividade agropastoril. Essas consequências criam uma série de situações que favorecem a emergência ou re-emergência das tripanosomíases: (a) diminuição e fragmentação da cobertura vegetal original, resultando em um maior contato entre os animais silvestres e os animais domésticos/homem, e em modificação na ecologia do vetor, do parasita e de seu hospedeiro; e (b) uma situação ambiental das áreas peri-urbanas semelhante ao meio rural, consequência da condição social da população que ocupa a periferia das cidades. Um aspecto importante a ser considerado diz respeito às espécies de mamíferos silvestres sinantrópicos e seu contato com animais domésticos e peri-domiciliares. Este intercâmbio pode resultar em novas áreas endêmicas. Adicionalmente novos casos humanos podem surgir a partir da expansão de um foco zoonótico residual (ASHFORD, 1996).

No final dos anos 70, a área que apresentava risco de transmissão vetorial da doença de Chagas (área endêmica) compreendia 18 estados brasileiros, nos quais se comprovou a presença de triatomíneos domiciliados. A região Amazônica estava excluída desta área de risco (MS, 2005; OPS, 2004).

O primeiro caso humano autóctone na região Amazônica foi registrado em 1969, na cidade de Belém, no Estado do Pará por SHAW et al., (1969). Mas segundo BRICEÑO-LEÓN (2007) desde o início do século XX tinha-se conhecimento da abundância de hospedeiros mamíferos potenciais reservatórios e vetores triatomíneos na Amazônia brasileira. Desde então, casos autóctones foram relatados em número crescente.

Os recentes surtos de doença de Chagas por via oral vêm demonstrando o quanto são complexos os ciclos de transmissão do *T. cruzi*, evidenciando que as características epidemiológicas dessas parasitoses vêm adquirindo um novo perfil (VALENTE et al., 1999; COURA et al., 2002; NÓBREGA et al., 2009; PEREIRA et al., 2009; TATTO et al., 2007). Este novo recorte vem mostrando o quanto são simplistas a adoção de medidas de controle da doença de Chagas baseada apenas no controle de vetores domiciliados.

Portanto, estudos da doença de Chagas na Amazônia devem considerar as diferentes características epidemiológicas e o padrão da infecção, os quais se modificam de uma região para outra em função: (a) dos padrões ecológicos das áreas de ocorrência, incluindo variações na vegetação, clima, diversidade; (b) de fatores demográficos como emigração de pessoas e animais domésticos oriundos de regiões endêmicas; (c) da favelização de áreas peri-urbanas; (d) das atividades agrícolas; (e) da condição socioeconômica e cultural da população; (f) de diferentes subpopulações de parasitas e espécies de vetores; (g) da presença ou ausência de hospedeiros reservatórios, domésticos e/ou silvestres; e h) da alteração do habitat original com consequente domiciliação e antropofilização dos hábitos alimentares dos vetores hematófagos (DESJEUX, 2001; GUERIN et al., 2002; WERNECK et al., 2002; 2003).

## 2.12. A vigilância da doença de Chagas

A Doença de Chagas é uma enzootia, portanto natural no ambiente silvestre, há milhares de anos, em uma relação sustentada entre os parasitas, vetores e reservatórios (ABAD-FRANCH et al., 2007). Sua importância científica ocorreu quando o homem passou a ser um componente no ciclo da doença. Tal fato deve-se provavelmente ao processo de sedentarismo das populações pela apropriação do meio ambiente diante da necessidade de terras para cultivo de alimentos ou exploração dos recursos naturais. Para que haja a transmissão ao ser humano se requer um conjunto de condições ambientais e sociais que permitam o encontro entre ele, o vetor e o parasita em um mesmo momento e em determinado espaço (BRICEÑO-LEÓN, 2009).

O ato de apropriação do meio ambiente e nele criar condições para sobrevivência, como construção de moradias e currais para seus animais domésticos favorece esse encontro. As precárias condições de moradias, de saneamento e a falta de higiene propiciam o estabelecimento de colônias de triatomíneos no intra e peridomicílio que a procura de abrigo e

alimentos acabam por domiciliarem-se (DIAS & SCHOFIELD, 1998). Portanto a partir desse processo consideram-se dois ciclos diferentes: o ciclo silvestre, o ciclo doméstico (intra e peridomicílio) (FORATTINI, 1980; ARGOLO et al., 2008). O próprio Carlos Chagas, em seus estudos sobre a doença na floresta Amazônica em 1924 encontrou símios infectados que comprovaram a existência desse ciclo silvestre (CHAGAS, 1924).

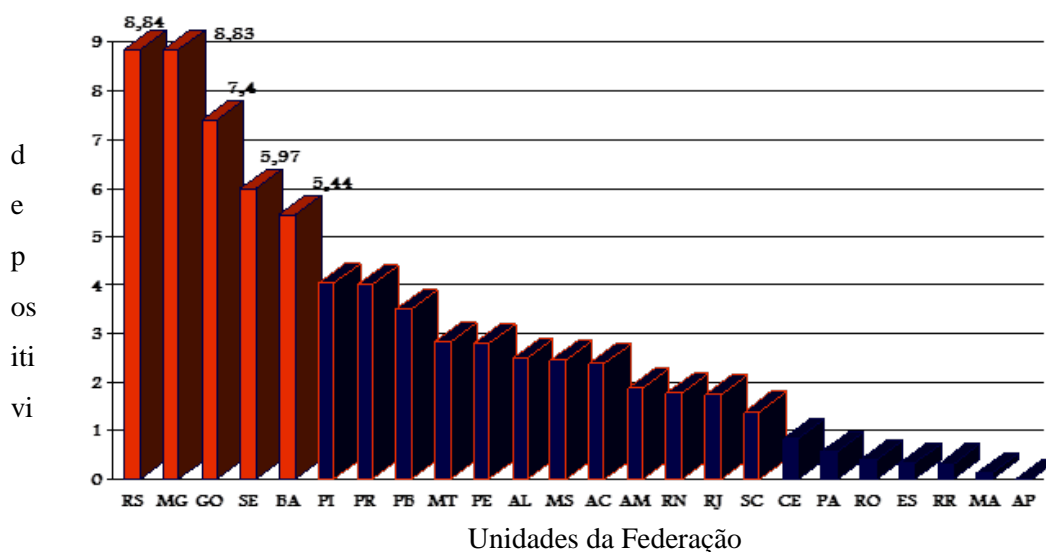
O fenômeno de domiciliação de triatomíneos culminou no desenvolvimento de zonas endêmicas da DC, representadas por 21 países. Na década de 40 DIAS & PELEGRINO (1948) iniciaram experimentos com inseticidas, baseados no êxito do controle da malária com uso de inseticidas residuais. Na década de 60 na Venezuela (GABALDÓN, 1965) e Argentina (SOSA-ESTANI & SEGURA, 2007) se criaram programas de controle, uma vez que a malária havia sido controlada e os recursos destinados a este poderiam ser alocados ao controle da DC.

No Brasil, o programa se iniciou em 1975, mas somente entre 1983 e 1986 é que foi possível alcançar uma cobertura da área endêmica. Apesar dos progressos alcançados com o Programa, as atividades de controle não foram contínuas, sofrendo interrupções, principalmente o advento da dengue e em vista da prioridade que foi dada a este problema de saúde pública, que acabou por receber para o seu controle os recursos antes destinados à contenção da DC (DIAS, 1987).

Ainda que houvesse dados sobre a prevalência da doença no país, a informação era fragmentada, produto de diversos estudos em diferentes áreas, com métodos e técnicas de colheita e processamento laboratorial não padronizado, não permitindo a comparação dos resultados. Assim entre os anos de 1975 e 1980 o Brasil realizou o primeiro estudo sobre a infecção chagásica com alcance nacional com o propósito de estimar a prevalência da infecção chagásica na população geral residente em área rural. As amostras foram coletadas em papel de filtro especialmente desenvolvido para o inquérito, e os procedimentos foram padronizados evitando-se qualquer distorção nos resultados (SILVEIRA et al., 2011).

Foram analisadas 1 352 197 amostras procedentes de 3 026 municípios de 24 estados excetuando-se São Paulo e Rio de Janeiro. A média Nacional foi de 4,22. Nos Estados da Amazônia, os resultados surpreenderam, pois alguns municípios tiveram elevadas taxas de prevalência (Barcelos, Novo Airão e Japurá), uma vez que não havia relato de domiciliação de triatomíneos nem da presença do *Triatoma infestans* (principal transmissor da doença no país) e qualquer indício de transmissão ativa (SILVEIRA et al., 2011).

A hipótese de transmissão extradomiciliar por *Rhodnius brethesi*, associada à extração de piaçaba, no município de Barcelos, Amazonas, foi confirmada em trabalhos posteriores (SILVEIRA & PASSOS, 1986; COURA et al., 1994). Nos demais estados da Amazônia com alguma prevalência, como o Acre (2,39) e o Pará (0,56) admitiu-se que tal transmissão seria devido à migração de infectados de áreas endêmicas. (Figura 1)



Fonte: CAMARGO et al., 1984

**Figura 1. Soroprevalência da infecção chagásica. Distribuição por Estado. Inquérito Sorológico Nacional. Brasil. 1975/1980.**

Entre 1975 e 1983, paralelamente ao inquérito de soroprevalência, foi realizado um amplo levantamento entomológico dos vetores domiciliados. Os resultados mostraram que a área de risco para a transmissão vetorial abrangia 36% do território nacional em 2 493 municípios distribuídos em 18 estados, sendo que, 711 municípios de 11 estados (Figura 2) foram positivos para o principal vetor, *Triatoma infestans* (VINHAES & DIAS, 2000).



Fonte: Ministério da Saúde. 2005

**Figura 2. Mapa das áreas de risco da doença de Chagas.**

Sobrepondo-se os resultados dos dois inquéritos nacionais, ou seja, a distribuição geográfica das principais espécies de vetor (*Triatoma infestans*, *Panstrongylus megistus*, *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata* e *T. sordida*) às taxas de soroprevalência, sendo que o principal interesse era confirmar a importância de cada uma delas na transmissão domiciliar da DC, ficou evidente uma relação direta entre a presença do *T. infestans* e altas taxas de prevalência da infecção humana (PASSOS & SILVEIRA, 2011).

Além desses dois inquéritos, entre 1977 e 1981, realizou-se um Inquérito eletrocardiográfico em onze estados com as maiores taxas de soro reagentes. Os achados corroboraram a existência de diferenças regionais em relação às manifestações clínicas da DC no país (COURA, 1975; SILVEIRA & REZENDE, 1994) fato associado às variações de linhagens de *T. cruzi* nas diferentes regiões (PASSOS & SILVEIRA, 2011).

Diante deste cenário, a maturidade da comunidade científica e condições políticas favoráveis para cooperação e ação de caráter regionais e dos programas de controles exitosos baseados no uso de inseticidas residuais para o controle de vetores, foram criadas as “iniciativas regionais” fomentadas pela Organização Panamericana de Saúde. A mais exitosa foi a Iniciativa do Cone Sur criada em 1991 com o objetivo de eliminação *Triatoma infestans*, naqueles países em que este era o principal vetor da endemia (SALVATELLA, 2007; SCHOFIELD & DIAS, 1999).

Com o êxito da Iniciativa do Cone Sur, outras foram criadas como a Iniciativa Andina, a Iniciativa Centroamérica em 1997 (GUHL, 2007; SALVATELLA, 2007) e a mais recente A Iniciativa Amazônica – AMCHA. (OPS, 2004), destinada ao controle do *R. prolixus*, *R. robustus*, *P. geniculatus* e *R. brethesi* e que envolve nove países que fazem parte do bioma Amazônico.

Apesar da descontinuidade nas ações com o programa de controle do *T. infestans*, implantado em 1983, houve uma drástica redução desta espécie, assim como das espécies autóctones (secundárias), (MS, 1998) de tal forma que em 9 de junho de 2006 o Brasil recebeu a Certificação Internacional da Interrupção da transmissão da doença de Chagas pelo *Triatoma infestans* concedida pela OPS (OPS, 2007).

Por mais confiáveis que sejam os dados entomológicos, a comprovação de que a transmissão foi interrompida requeria o estudo da infecção na população humana, em grupos etários jovens, ou seja, na população nascida após se haver admitido, a partir dos indicadores entomológicos mencionados, que a transmissão tenha sido detida, ou seja, improvável (OSTERMAYER et al., 2011). O grupo mais indicado para esse estudo e recomendado pela OPAS é o de 5 anos (OPS, 2002).

Assim no período de 2001 a 2008 foi realizado no Brasil o segundo inquérito de soroprevalência da infecção chagásica com o objetivo de avaliar o estado da transmissão da infecção/doença de Chagas na área rural e com isso um redimensionamento das ações de controle, assumindo que houve importantes mudanças no nível e padrão de transmissão vetorial. O percentual de positividade atingiu 0,03% (32/104.954) sendo que 20 (0,02%) por provável transmissão congênita e 11 (0,01%) por provável transmissão vetorial (Quadro 1) (OSTERMAYER et al., 2011).



**Quadro 1. Distribuição dos participantes com positividade isolada ou em conjunto com positividade materna, segundo estado, município de residência e a categoria de positividade para doença de Chagas nas regiões Norte e Nordeste.**

Categoria Região/UF/Município	Apenas mãe +	Apenas criança +	Mãe + e criança +	Criança + e mãe não localizada
<b>Norte</b>				
Acre Cruzeiro do Sul			1	
Amazonas Juruá		1		
<b>Nordeste</b>				
Maranhão Riachão	1			
Piauí Cap. Gervásio Oliveira		1		
		1		
Ceará Quixelo		1		
		1		
R. Grande do Norte Varzea		1		
Paraíba Emas		1		
		1		
Pernambuco Flores	1			
	São José do Belmonte	1		
	Panelas		1	
Alagoas Igaci	1	2		
	Matriz de Camaragibe		1	
Bahia Boa Vista do Tupim	2			
	Campo Formoso	1		
	Cariranha	1		
	Correntina	2		
	Esplanada			1
	Maragogipe			
	Ruy Barbosa	1		
	Serra do Ramalho	1		
				1

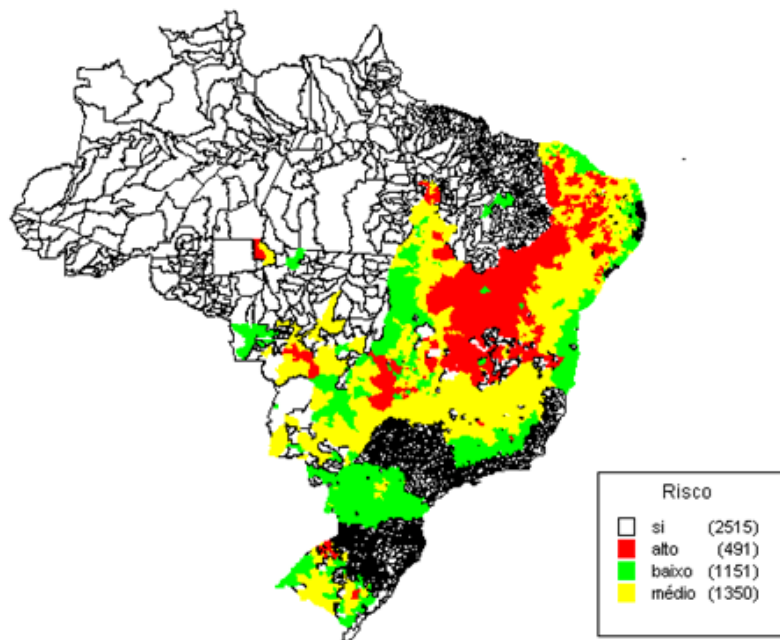
Fonte: Inquérito Nacional de Soroprevalência da Infecção Chagásica (INSIC). Brasil, 2001 - 2008.

Se por um lado a certificação foi um reconhecimento ao sucesso no controle da transmissão, por outro produziu a falsa ideia que o problema havia sido resolvido, influenciando diretamente na sua prioridade como problema de saúde pública com impactos negativos sobre a vigilância da endemia.

Pelo baixo nível de risco, hoje existente, poderá ser inclusive justificável que em muitos casos a doença de Chagas não faça parte da pauta das prioridades de governo. Com isso, o que se propõe é a determinação mais precisa possível do risco de fato existente, em cada área, ou município, e a definição de ações de vigilância e controle que sejam a ele proporcionais. (MS, 2005; SILVEIRA, 2004).

Foram propostos indicadores e variáveis para estratificação do risco, sua demonstração e o estabelecimento de ações foram pactuadas pelas esferas de governo federal, estadual e

municipal, e um novo mapa das áreas de risco, selecionadas em baixo, médio e alto risco, foi elaborado. (MS, 2006). (Figura 3)



Fonte: MS. 2006- elaborado por George Luis Lins Machado Coelho

**Figura 3: Mapa da estratificação de risco das áreas de risco para transmissão de DC no Brasil.**

### 2.13. A mudança de paradigma na vigilância epidemiológica da doença de Chagas

Desde que o ciclo de transmissão da doença foi elucidado em 1909 (BARRETO, 1964; DEANE, 1964; 1967) e com o registro dos primeiros casos autóctones (COURA, 1966; SHAW, 1969), o sucesso do controle da transmissão vetorial da doença de Chagas, proporcionado pelas extensas ações do Ministério da Saúde em conjunto com os estados e municípios nos últimos 40 anos, promoveu redução na prevalência dos casos crônicos do agravo. No entanto, tornou-se evidente a ocorrência de casos da doença na sua forma aguda (DCA), em especial a partir do surto por transmissão oral em Navegantes/SC (MS, 2005), principalmente por ser esta uma área considerada sem risco para a transmissão.

A ocorrência de episódios de DCA de nos últimos 42 anos, de 1965 até 2007, (

Tabela 1 **Erro! Fonte de referência não encontrada.**), evidenciou melhor os mecanismos de transmissão habitualmente considerados excepcionais (oral, vetorial extra domiciliar e vetorial intradomiciliar sem colonização) (AGUIAR & AGUIAR, 1999; PRATA, 2001; MS, 2005). Tais mecanismos de transmissão apresentam particularidades que têm fomentado inúmeras discussões entre os profissionais do serviço e da pesquisa, o que tornou necessário aceitar que, ao contrário do que se postulava, a região Amazônica, que não fazia parte do mapa nosológico da doença não é área indene.

**Tabela 1. Série histórica dos surtos do Brasil. 1965 a 2007**

1965	→ Teutônia/RS = 17 casos
1968	→ Belém/PA = 4 casos (Shaw)
1979	→ Riacho de Santana/BA → 20 casos (Barret)
1983	→ Belém/PA = 3 casos (Souza)
1984	→ Macapá/AP = 6 casos (Rodrigues)
1984	→ Macapá/AP = 2 casos (Rodrigues)
1986	→ Catolé do Rocha/PB = 26 casos (ShikanaiYasuda)
1988	→ Belém/PA = 3 casos (Souza)
1988	→ Cametá/PA = 5 casos (Souza)
1991	→ Icoaraci/PA = 4 casos (Crescente)
1992	→ Afuá/PA = 5 casos (Valente)
1993	→ Rio Branco/AC = 3 casos (Viana)
1996	→ Viseu/PA = 3 casos (Valente)
1996	→ Belém/PA = 4 casos (Valente)
1996	→ Mazagão/AP = 17 casos (Valente)
1997	→ Santana/AP = 4 casos (Valente)
1998	→ Abaetetuba/PA = 13 casos (Pinto)
1999	→ Pau d'Arco/Santarém/PA = 11 casos
Maio/2004	→ Tefé/AM = 8 casos
Nov/2004	→ Igarapé do Fortaleza/Santana/AP = 26 casos
Nov/2004	→ Marabaixo/Santana/AP = 3 casos
Mar/2005	→ Navegantes/SC = 24 casos
Jul/2005	→ Marambaia/Belém/PA = 3 casos
Mar/2006	→ Redenção/CE = 8 casos
Mai/2006	→ Macaúbas/BA = 7 casos
Jun/2006	→ Mojuí dos Campos/Santarém/PA = 20 casos
Ago/2006	→ Abaetetuba/PA = 11 casos
Ago/2006	→ Barcarena/PA = 11 casos
Ago/2006	→ Paragominas/PA = 2 casos
Set/2006	→ Belém/PA = 2 casos
Set/2006	→ Belém/PA = 3 casos
Out/2006	→ Tucuruí/PA = 4 casos
Out/2006	→ Ibipitanga/BA = 6 casos
Out/2006	→ Cachoeira do Arari/ Marajó/PA = 11 casos
Out/2006	→ Macapá/AP = 2 casos
Out/2006	→ Ananindeua/PA = 3 casos
Jan/2007	→ Ananindeua/PA = 5 casos
Jan/2007	→ Belém/PA = 2 casos
Mar/2007	→ Coari/AM = 25 casos

Fonte: MS, adaptado por Tatto, E., 2007

A esse perfil soma-se a sua ocorrência em regiões da América do Sul, até recentemente consideradas livres da doença, como a Amazônia onde se tem reportado a infecção autóctone com morbidade e mortalidade com destaque para o aumento do registro de

casos agudos, da presença de indivíduos sorologicamente positivos para a infecção chagásica autóctone na Região e dos primeiros casos de cardiopatia chagásica crônica autóctone na microrregião do Rio Negro Até a presente data, não está claro se esse número crescente de casos humanos é devido ao aumento na transmissão ou resultante de uma busca ativa de casos positivos, como no Estado do Pará, onde há um número maior de pequenos surtos, atribuídos à infecção oral através de alimentos contaminados, denotando um caráter particular de transmissão (ALBAJAR et al., 2003; XAVIER et al., 2005; COURA et al., 1999; VALENTE et al., 1999; VALENTE et al., 2000).

Na Amazônia até agora não foi comprovada a existência de vetores adaptados ao domicílio, no que se refere a reservatórios vertebrados, o *T. cruzi* foi encontrado infectando as seguintes ordens de mamíferos: Chiroptera, Rodentia, Edentata (Xenarthra), Carnivora, Marsupialia (Didelphiomorpha) e Primates (JUNQUEIRA et al., 2005). O risco potencial para o homem são a caça, a pesca, e a atividade extrativista. O atual desflorestamento, o tipo de casa na Região, a criação de animais domésticos, especialmente nos sítios e colocações de seus habitantes, são outros importantes fatores de risco (COURA et al., 1999).

A ingestão de alimento contaminado com fezes de triatomíneo ou com a urina de marsupiais, assim como a ingestão de carne mal cozida de animais silvestres infectados são, entre outros, os prováveis mecanismos de transmissão. Esse tipo de transmissão pode ser, em parte, explicada pelo fato do *T. cruzi* sobreviver em temperaturas semelhantes às do vetor, ao redor dos 26°C, tal fato é especialmente relevante em regiões tropicais com altas e mantidas umidade e temperatura ambiental, fatores esses que favorecem a transmissão (OPS 2006; PEREIRA et al., 2009).

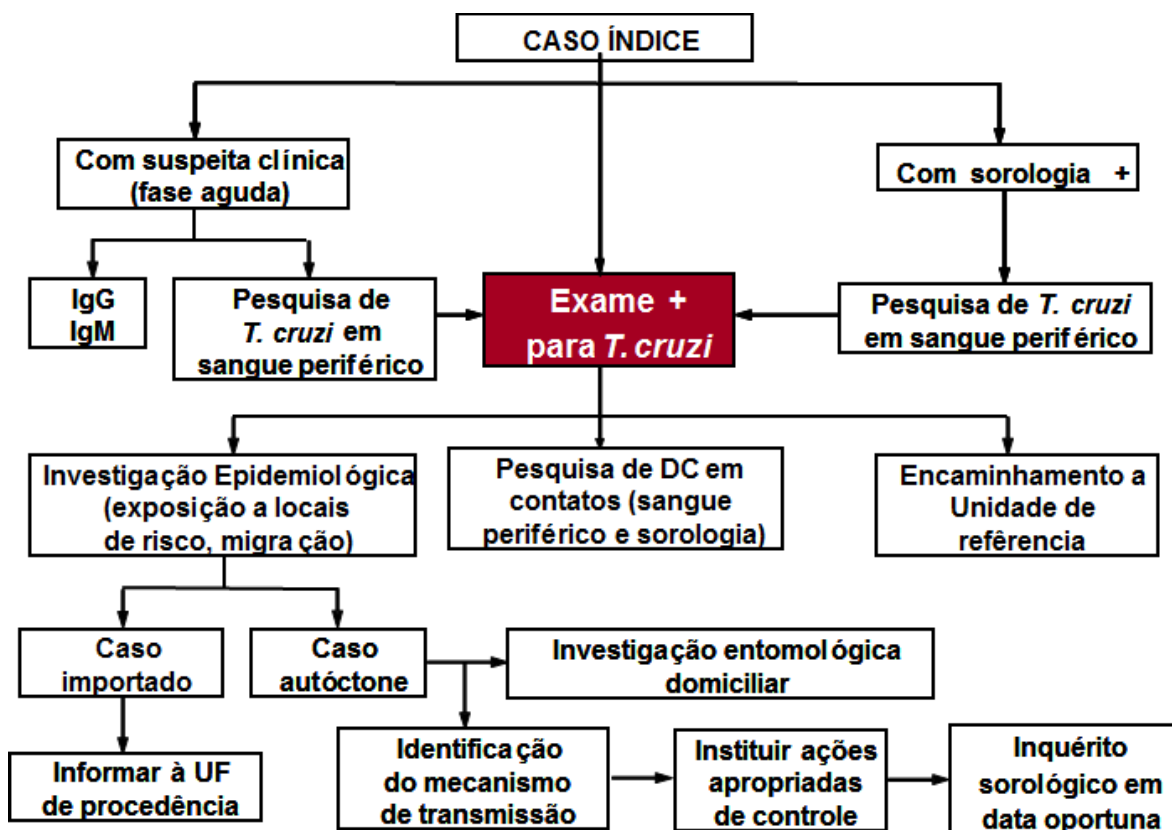
Em 2002 A oficina de trabalho realizada em Palmari, Amazonas, constituiu-se como o marco inicial de uma nova iniciativa continental para a prevenção, a vigilância e o controle da doença de Chagas na Região Amazônica. Nela se concluiu que dada a grande distribuição de vetores e os numerosos reservatórios infectados identificados, as evidências de casos humanos agudos e crônicos, as crescentes migrações humanas e a ação antrópica de invasão da floresta e seu desflorestamento, existiam concretas possibilidades de emergência e expansão da endemia chagásica na Região, e que, portanto, seria necessário haver um objetivo e integrado esforço de vigilância, compartilhado por todos os Países da Região Amazônica (DIAS et al., 2002).

Em 2004, já constituída a "Iniciativa dos países amazônicos para a vigilância e o controle da doença de Chagas" (AMCHA), foi ressaltado que embora Carlos Chagas tivesse

descrito a presença do *T. cruzi* em mamíferos silvestres na Região (CHAGAS, 1924), pouca atenção foi dada ao fato, uma vez que escassas foram as investigações efetuadas no sentido de detectar a infecção humana autóctone. Somente nas duas últimas décadas é que esse panorama vem se modificando devido a estudos pontuais de grupos de pesquisa na Região, que têm demonstrado algumas das seguintes situações de transmissão: existência de transmissão em zonas rurais e periurbanas com vetores silvestres, triatomíneos colonizando de forma incipiente os domicílios (Roraima); surtos focais provavelmente associados com a transmissão oral com suco de açaí, nos Estados do Pará, Amapá, Acre e Amazonas, e transmissão vetorial em áreas de extração da fibra da piaçaba no Amazonas (Relatório Técnico, 2005)

Na Segunda Reunião da Iniciativa Intergovernamental de Vigilância e Prevenção da Doença de Chagas na Amazônia (AMCHA) (Relatório Técnico 2006), a doença de Chagas na Amazônia foi reconhecida como doença endêmica e problema de saúde pública e recomendou-se que nas estratégias de ação da AMCHA, o componente de morbidade e atenção médica ao doente/infectado pelo *T. cruzi* fosse, desde o início, uma prioridade integrada às demais atividades. E considerando a pouca visibilidade clínica e o limitado conhecimento existente na Amazônia, deviam-se identificar os serviços já instalados e/ou programas que ali atuam e que poderiam oferecer suporte às ações de vigilância epidemiológica e ambiental, como incluir a detecção de *T. cruzi* como rotina na leitura de gota espessa realizada em pacientes febris com suspeita de malária para a identificação de casos agudos de doença de Chagas. Foi elaborado e discutido um fluxograma (Quadro 2), onde estão representadas as ações a cumprir diante do caso agudo e do caso crônico de doença de Chagas.

**Quadro 2. Modelo de investigação de DCA**



Fonte: Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, MS/2005

Diante do exposto ficou claro a necessidade de um projeto de vigilância que possibilitasse a detecção do *T. cruzi*, em exames hemoscópios feitos de rotina nos casos suspeitos de malária. Como está detalhado no informe técnico da OPS (SILVEIRA, 2006), esse programa significaria:

“1º uma extraordinária oportunidade para que se conheça mais amplamente o problema apresentado pela emergência da doença de Chagas na região;

2º a possibilidade de se sistematizar a vigilância da doença de Chagas na Amazônia, fazendo uma vigilância de natureza pró-ativa, impedindo a transmissão endêmica em larga escala da enfermidade;

3º um excepcional e exemplar caso de uma vigilância integrada de doenças, desde que a ação a ser exercida é rigorosamente a mesma.”.

O consenso brasileiro em doença de Chagas, 2005, adicionalmente recomenda a identificar e mapear de marcadores ambientais a partir dos ecótopos preferenciais das diferentes espécies de vetores e diante de casos de DCA realizar pesquisa sorológica nos indivíduos residentes e inquéritos sorológicos na área de risco e em áreas silenciosas.

SILVEIRA, 2006, sugere que o achado do vetor deve demandar a princípio, como medidas mais imediatas, a classificação taxonômica e o exame do conteúdo intestinal dos insetos sempre que possível. Uma vez haja a suspeita de que possa estar atuando como vetor de *T. cruzi*, colonizando ou não o domicílio e/ou peridomicílio, é de interesse o estudo de fontes alimentares e a determinação das taxas de infecção natural. Caso venham a ser capturados no ambiente domiciliar deve-se delimitar a área de infestação, com a progressiva extensão da pesquisa entomológica a partir do “foco índice”. E, se comprovada infecção por *T. cruzi*, a população residente deverá ser submetida a exames sorológicos.

O estudo da fonte alimentar de triatomíneos é realizado com frequência, dada a importância que as informações daí provenientes contribuem para ampliar o conhecimento de seus hospedeiros naturais e seu papel na transmissão do *T. cruzi* ao homem. Várias técnicas podem ser utilizadas com esta finalidade, desde a análise microscópica do tipo de hemácia ingerida, até técnicas de biologia molecular (FORATTINI et al., 1982). Em 1960, um trabalho realizado por Siqueira mostrou ser possível obter, através da reação de precipitina, a origem alimentar de triatomíneos, mesmo daqueles que haviam se alimentado há mais de 120 dias (SIQUEIRA, 1960).

A ocorrência de resultados não reagentes da precipitina é, possivelmente, oriunda da insuficiência de material sanguíneo na amostra do conteúdo intestinal, ou à possibilidade de o animal que serviu de fonte alimentar não estar contemplado na bateria de antissoros utilizada. inúmeras outras espécies, podem apresentar as aves como principal fonte alimentar, na dependência de sua detecção em ecótopos habitados por estes animais reforça o conceito de que os focos peridomiciliares constituem importante espaço de reserva e manutenção de populações triatomínicas (DIAS, 2000; DIOTAIUTI, 1982).

Estudos epidemiológicos apontam que as aves domésticas apresentam papel importante na dinâmica de transmissão do *T. cruzi* ao homem, visto que embora refratárias, servem como fonte de alimentação para os triatomíneos no ambiente peridomiciliar, permitindo a presença de populações abundantes destes vetores próximas do homem, afora servirem de elo entre o ambiente silvestre e o ambiente domiciliar (GORLA, 2001).

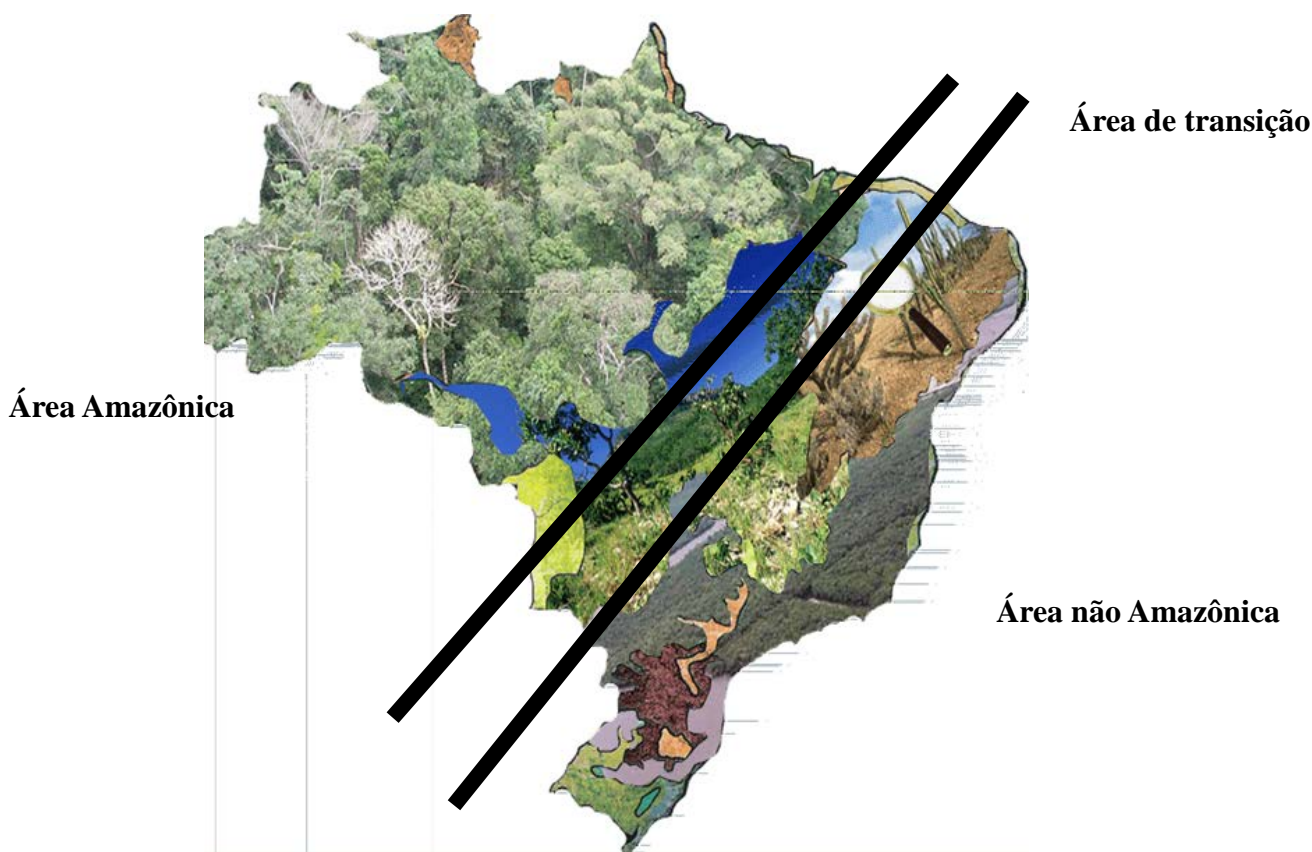
Por sorte, a transmissão de *T. cruzi* a um mamífero é um evento que ocorre com baixas probabilidades, em virtude de que a forma de contaminação através do vetor é pouco eficiente se comparado às vias de transmissão que ocorrem para outros patógenos (inoculação do microrganismo através do aparato picador-sugador do vetor) (VILLELA et al., 2010). Devido a este fator, a probabilidade de transmissão é baixa, e o número de contatos do triatomíneo com o homem precisa ser abundante para que a transmissão ocorra.

Numa última análise, todos estes mamíferos (gambás, roedores, cães e gatos) apresentam papel importante na transmissão do *T. cruzi*, visto que os mesmos, quando infectados, costumam manter alta taxa de infecção para os triatomíneos devido à elevada parasitemia que habitualmente apresentam (GORLA, 2001). Complementando a afirmação anterior, outras pesquisas também demonstraram que a presença de cães e gatos influencia no aumento da infecção dos triatomíneos, sendo importantes no ciclo de transmissão da moléstia no ambiente doméstico. (CATALÁ, 1996; SILVA, 1979).

Ainda que não tenha critérios sólidos para determinar áreas de risco na região Amazônica, pois estão em construção, admite-se que as áreas de alto risco são aquelas em que foram detectados casos agudos da doença. A predição de áreas onde poderão ocorrer casos depende de estudos sistemáticos que integrem o homem e os elementos determinantes para a produção da doença.

Portanto o modelo de vigilância vigente, não era mais adequado a epidemiologia da doença. Isso demandou a organização de um modelo de vigilância epidemiológica que se adaptasse ao atual quadro epidemiológico, com a incorporação de novas ferramentas e estratégias de investigação que levasse em consideração as peculiaridades do país quanto a sua geografia, biodiversidade, estrutura populacional e fatores socioeconômicos culturais. Diante disto a vigilância foi particularizada conforme as especificidades de três grandes áreas: Amazônica, não Amazônica e de transição, (Figura 4) e a proposta de uma abordagem sistêmica com a integração de distintos elementos além do controle químico vetores. (dados não publicados), (Figura 5).





Fonte: Elaborado por Soraya O dos Santos. 2006

**Figura 4 . Estratificação das áreas para a vigilância da doença de Chagas.**

Para elaboração deste mapa de estratificação foram considerados os seguintes critérios:

Área não Amazônica: dados históricos do Programa Nacional de DC no Brasil, onde o controle da doença foi pautado em aplicações sistemáticas de inseticidas para eliminação do *Triatoma infestans* e vetores secundários domiciliados;

Área de transição: Estados onde há municípios com características de ecossistemas amazônicos e a metodologia de controle é baseada na detecção de casos agudos e também há controle com produtos químicos em municípios com triatomíneos domiciliados;

Área Amazônica: Programa de controle da DC baseado em detecção de casos agudos integrados a rotina da malária. Não há controle com inseticidas pela não presença, até o momento, de vetores domiciliados.



Fonte: Soraya O. Santos e Erica Tatto, 2007

**Figura 5. Fluxograma de abordagem sistêmica do programa de controle da doença de Chagas**

O programa de controle da doença de Chagas a semelhança de outros programas de controle de doenças transmitidas por vetores teve origem em uma estrutura organizacional verticalizada que teve o sucesso naquelas condições sociais, políticas e ambientais, assim seria um retrocesso a retomada desse modelo ao nível atual de desenvolvimento atual.

Com a criação do sistema único de saúde e a descentralização do programa, a responsabilidade passou a ser dos três níveis de governo sendo que a execução das ações coube aos municípios e excepcionalmente dos estados e da federação.

Apesar de todas as dificuldades para a descentralização não há como negar os seus avanços, pois considera as peculiaridades das diferentes regiões do país e impõe iniciativas de integração entre os diferentes níveis de serviços e instituições afins ou complementares, o que permite a socialização das informações e intercâmbio de conhecimento entre os diferentes atores, tornando a sua sustentabilidade possível, já que torna todos corresponsáveis pelo processo.

Partindo-se do pressuposto que o conhecimento do ambiente e suas alterações são fundamentais para a identificação das causas e ocorrências de eventos epidemiológicos, não há como se pensar em vigilância para a doença de Chagas sem considerar a inserção de aspectos relacionados com o ambiente.

Para que a determinação de indicadores e mapeamento de áreas de risco tenha um grau confiável de precisão, é importante que sejam avaliados e monitorados os dados coletados em campo, para isso, ferramentas de geoprocessamento, sensoriamento remoto e uso de imagens de sensores óticos e de radar são imprescindíveis para obtenção de respostas ágeis e eficazes da ocorrência de DCA admitindo-se que as variáveis de interesse estão em algum lugar no espaço e que eventualmente estão correlacionadas.

Estudos piloto da proposta de um novo modelo de vigilância foram realizados quando da ocorrência dos surtos de Santa Catarina, Ceará, Santarém e Abaetetuba (objeto desta Tese) e de forma sistemática como componente do “Protocolo de ações para determinar áreas de risco para a transmissão de *T. cruzi* na região Amazônica” que faz parte do Plano de Intensificação das Ações para o Controle da doença de Chagas no estado do Pará, onde é cada vez mais comum a abertura de novas frentes agropecuárias, a construção de represas e rodovias, a implantação de atividades mineradoras, a extração de madeiras e plantação e/ou cultivo de extensas áreas de monocultura, como por exemplo, o açaí. Tais atividades promovem a alteração da fauna silvestre e peridoméstica, desalojando e atraindo para ecótopos artificiais triatomíneos e reservatórios silvestres do *T. cruzi* e, portanto podem interferir como fator de risco para a ocorrência da doença de Chagas humana.

### 3. Justificativa

Do total de casos e surtos da doença na fase aguda, pouco se sabe sobre os fatores de risco para a ocorrência da doença por transmissão vetorial e oral. A falta de especificação da metodologia de investigação de casos e surtos utilizada em grande parte das atividades não permite determinar com clareza qual o alimento implicado em boa parte dos surtos, bem como garantir a ausência de fatores de confusão.

Nos últimos anos, tem sido observada uma nova característica com relação à sazonalidade da doença de Chagas aguda na Região Amazônica. Dados do IEC postulavam que o aumento da doença somente ocorria a partir de julho, decrescendo a partir de dezembro. No entanto, levando-se em consideração as informações obtidas nos últimos três anos mediante o acompanhamento dos casos, é possível observar que essa afirmação precisa ser mais bem avaliada, uma vez que são observados outros picos da doença no primeiro semestre do ano.

A detecção de casos de infecção aguda com ou sem expressão clínica é possível pelo diagnóstico parasitológico e já existem rotinas instituídas na vigilância da malária que se cumprem de forma regular e extensivamente, o que possibilita a identificação do *T. cruzi* em exames hemoscópicos dos suspeitos de malária. Esta integração de vigilância de duas doenças favorece a sistematização das atividades do programa na região, possibilitando assim o conhecimento mais amplo do problema, e uma vigilância de natureza pró-ativa de forma a impedir a transmissão em larga escala.

Porém este enfoque não é o suficiente para o entendimento da transmissão da doença na região, uma vez que a produção de lâminas para a malária, em vários locais não é exercida regularmente onde há possibilidades de transmissão de Chagas,

Conseqüentemente outros componentes devem ser desenvolvidos como o monitoramento das condições ambientais, climáticas, ocupação de território, desmatamento e outros condicionantes que podem interferir como fator de risco para a ocorrência da doença.

Atualmente, em função dos recorrentes casos notificados, da possibilidade de inferir os períodos de maior ocorrência no ano e alguns fatores predisponentes, considera-se a possibilidade da doença de Chagas se configurar em uma endemia na região Amazônica, que necessita ter suas características epidemiológicas mais bem determinadas.

Para este estudo, foi elaborada uma estratificação epidemiológica das áreas de risco do Estado do Pará com base em quatro critérios estabelecidos no Plano de Intensificação das Ações para o Controle da DC:

1. Municípios com maior número de casos de DCA no Estado do Pará;
2. Municípios com produção e consumo de açaí;
3. Municípios cobertos pela Equipe da Saúde da Família;
4. Municípios com ambiente típico do Pará para a ocorrência de casos de DCA (área de várzea, características da mata nativa, presença de palmeiras de açaí e importante antropização).

A partir desta análise o município de Abaetetuba (ainda que sendo o segundo com maior número de casos após Belém) e considerando a factibilidade para a investigação, foi selecionado como área de estudo por:

1. Apresentar elevado número de DCA;
2. Ser importante produtor e consumidor de açaí;
3. Estar coberto pelo programa de Agentes Comunitários de Saúde e Equipe da Saúde da Família;
4. Ter ambiente típico para a ocorrência de casos de DCA (área de várzea, características da mata nativa, presença de palmeiras de açaí e importante antropização).

Assim, com os resultados deste estudo pretende-se ampliar o conhecimento sobre a ocorrência de DCA e estabelecer fatores associados ao risco da infecção por *T. cruzi* que possam subsidiar a vigilância epidemiológica para prever áreas susceptíveis e condições favoráveis à ocorrência de casos da doença na região Amazônica.

## **4. Objetivos**

### **4.1. Objetivo Geral**

Avaliar os fatores associados ao risco de infecção por doença de Chagas aguda no município de Abaetetuba, segundo as dimensões demográficas, clínicas, epidemiológicas, entomológicas, ambientais e climatológicas.

### **4.2. Objetivos específicos**

- Analisar a epidemiologia da DCA no município de Abaetetuba-Pará na série temporal de 2005 a 2012;
- Determinar a positividade da infecção por *T. cruzi* para doença de Chagas na população humana com métodos parasitológicos e sorológicos;
- Identificar as espécies de triatomíneos presentes na área de estudo, níveis locais de infestação, infecção e fonte alimentar;
- Determinar o grau de antropização e a relação entre os casos humanos e ecótopos silvestres;
- Elaborar o modelo ecoepidemiológico da dinâmica local da doença de Chagas Aguda

## 5. Metodologia

### 5.1. Desenho do estudo

O estudo epidemiológico conduzido, com predomínio do tipo transversal, constou dos seguintes componentes: a) análise da casuística de DCA no município de Abaetetuba em oito anos de vigilância, baseado nos registros do Sistema Nacional de Agravos de Notificação (Sinan), b) trabalho de campo em áreas de risco epidemiológico para DC, onde foram obtidas as informações sobre o georreferenciamento das residências dos casos infectados com *T. cruzi* segundo inquérito parasitológico e sorológico em 5 áreas do município de Abaetetuba. Estas informações foram coletas em 05 cortes, entre abril 2008 e dezembro de 2009, c) pesquisa entomológica em domicílio e peridomicílio, em ecótopos naturais nessas mesmas áreas e d) análise espacial da distribuição dos casos humanos, das palmeiras e dos triatomíneos capturados durante o período 2008-2009.

Antes do início das atividades de campo a equipe de trabalho, assim como os enfermeiros, médicos e agentes comunitários de saúde das equipes de saúde da família responsáveis pelo atendimento às populações, receberam capacitação em tópicos específicos para o bom desenvolvimento do projeto.

Etapas dos estudos epidemiológicos – No treinamento foram abordadas as etapas do inquérito de prevalência e as estratégias para evitar vieses de observação, seleção, aferição e de informação (carga horária de 20 horas). Foi ministrada pelo Laboratório de Epidemiologia da UFOP e Programa Nacional de doença de Chagas do Ministério da Saúde. Para o inquérito entomológico o apoio foi oferecido pelo Laboratório Nacional e Internacional de Taxonomia do Instituto Oswaldo Cruz / FIOCRUZ.

## 5.2. População e área de Estudo

Abaetetuba (Figura 6) localiza-se a uma latitude 01°43'05" sul e a uma longitude 48°52'57" oeste, estando a uma altitude de 10 metros. Sua população estimada em 2012, segundo o IBGE, foi de 147.846 habitantes. A cidade cresceu às margens do Rio Maratauíra (ou Meruú), um dos afluentes do Rio Tocantins. O município pertence à mesorregião do Nordeste Paraense, microrregião de Cametá e contém cerca de 80 ilhas. A cobertura vegetal original representada pela Floresta Hileiana de grande porte (floresta densa de terra firme), que recobria maior parte do município indistintamente, é praticamente inexistente, dando lugar à floresta secundária, intercalada com cultivos agrícolas. Já as áreas de várzea apresentam sua vegetação característica, com espécies umbrófilas latifoliadas (de folhas largas), intercaladas com palmeiras, dentre as quais desponta o açaí como uma espécie de grande importância para as populações locais. Clima úmido apresenta altas temperaturas, inexpressiva amplitude térmica, ventos variáveis conforme o período chuvoso e precipitações ambulantes. O período chuvoso estende-se de janeiro a julho, sendo os meses de fevereiro a abril os de maiores volumes pluviométricos; e os de menores, os meses de outubro e novembro. O município destaca-se como o 3º maior produtor de bacuri e cupuaçu, maior produtor de manga do Estado e 2º maior produtor de açaí do Pará; fornecendo a fruta para a região metropolitana, que serve tanto ao consumo local como para a distribuição a outros estados, assim como para a exportação. (<http://pt.wikipedia.org/wiki/Abaetetuba>). Apesar de não ser o enfoque deste estudo, esta comercialização entre o município e a cidade de Belém sugere o envolvimento do açaí contaminado por *T. cruzi* influenciar no número de casos de DCA em Belém.

O município é composto por aglomerados de pessoas que vivem nas denominadas zonas urbanas, estradas (plantações nas margens das estradas) e ilhas (pessoas que vivem em áreas ribeirinhas, com mata nativa ou modificada).

Grande parte da população que vive em áreas ribeirinhas, ou nas demais áreas, desloca-se para as ilhas a fim de extrair cachos de açaí para o consumo próprio ou para a venda no comércio local ou regional. Adicionalmente, há uma parcela da população que se expõe a áreas de zona rural/silvestre para o cultivo de agricultura de subsistência ou extrativismo vegetal de outros produtos.



No período de 2005 a 2012, Abaetetuba foi responsável pela notificação de 19,40% dos casos agudos de doença de Chagas do Pará e uma incidência de 41,93/100.000 hab. em 2012. Adicionalmente, observaram-se relatos frequentes da ocorrência de triatomíneos no interior das residências em áreas ribeirinhas, urbanas e rurais, onde não é realizada investigação epidemiológica adequada.



Fonte: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Abaetetuba>. Escala: 1: 18.000.000

**Figura 6. Mapa – Abaetetuba - PA**

#### 5.2.1. Seleção das localidades e período do estudo

Diante das características do ciclo da transmissão da doença, as coletas para o estudo foram realizadas em 5 etapas: no mes de agosto em Panacauera, nos meses de abril/maio de 2008 em Genipaúba e Ajuái e em outubro/dezembro de 2009 em Francilândia e São Sebastião. Foram selecionadas localidades cobertas pelo PACS/PSF de acordo com os seguintes critérios (Figura 7):

- Ilha sem casos registrados de DCA – Ajuái
- Ilha com registro de caso de DCA - Panacauera
- Área rural com casos registrados de DCA - Genipaúba

- Áreas urbanas (bairro) com registro de casos de DCA - Francilândia
- Áreas urbanas (bairro) sem registro de casos de DCA – São Sebastião



**Figura 7. Localização das áreas de estudo. Abaetetuba- PA**

A ilha de Ajuai é uma área de várzea que apresenta vegetação característica, com espécies umbrófilas latifoliadas (de folhas largas), intercaladas com palmeiras, dentre as quais desponta o açaí em 55% da área como uma espécie de grande importância para as populações locais. Tem como rios: Alto Ajuai, Baixo Ajuai, Ajuazinho, Riozinho, Rio Abaeté e Igarapé Mujumiri. A população da ilha está estimada em 3033 habitantes. Está situada entre as coordenadas: S 01°44'55.8" W 49°04'04.1. Não houve nenhum registro de DCA no período de 2006 a 2009. Porém em 2010, após a seleção das localidades e as pesquisas realizadas para este estudo, foi notificado um caso na ilha, no mês de agosto.

Genipaúba possui uma área de 1200 ha. Faz parte da área rural de Abaetetuba e na época de chuvas somente se tem acesso ao local pelo rio. Sua população de 399 habitantes é composta por descendentes de quilombolas, tendo na pesca e na agricultura familiar sua principal fonte de subsistência. Está entre as coordenadas: S 01°46'04.0" W 48°53'39.7. O

plântio de açáí predominou em 60% da área. Em 2008, notificou um caso de DCA em uma criança com 6 anos e um adulto que veio a óbito.

Os bairros de Francilândia e São Sebastião ficam próximos ao centro da cidade e são locais onde os principais problemas são a ocupação desordenada e falta de saneamento básico além do alto índice de criminalidade. Nessas áreas, o habitat original foi drasticamente alterado restando poucos remanescentes que se caracterizavam por propriedades particulares repletas de plantas oportunistas e alguns indícios de mata natural. A população estimada dos dois bairros é de 2223 habitantes. Está situada entre as coordenadas: S 01°47'07.9 e W 049°04'80.7. Francilândia em 2008 registrou um surto por transmissão oral por açáí, que envolveu oito pessoas.

Panacauera foi a primeira área na qual foi avaliada a metodologia deste estudo, isso se deveu a notificação de um caso em uma criança de 8 anos de idade, que foi descartado por erro no diagnóstico, porém o estudo foi importante para que a metodologia fosse padronizada. A ilha situa-se a margem do rio de mesmo nome está entre as coordenadas geográficas S 01°47' 21 e W 049°04'08. A população era composta de 637 indivíduos em 2008. A vegetação é classificada como uma floresta de várzea de água barrenta apresenta o solo do tipo glei hidromórfico, é plano e talhado por pequenos igarapés que inundam todo o ambiente quando a maré enche. A fisionomia desta referida vegetação é de uma floresta aberta com presença de poucos cipós, apresentando internamente muitas palmeiras, principalmente o açáí (*Euterpe oleracea*), o qual é a maior fonte de renda e consumo de todas as famílias da ilha.

Em toda a área, se observou que a maioria dos moradores realiza manejo nos açazais financiados pelo BASA (Banco da Amazônia), derrubando, com auxílio de motosserra algumas espécies de madeiras e outras palmeiras, com a finalidade de “limpar” as áreas para que as touceiras de açazeiros possam se desenvolver livremente sem competição com outras espécies, ou seja, utilizam técnica de monocultura. Tal assertiva é corroborada pelo fato de que o “açáí” predominou em 60% das áreas demonstrando-se, assim, que essa esta espécie frutífera é a força e a razão desse povo sobreviver nesse ambiente natural além do peixe e do camarão.

### 5.3. Fonte de dados epidemiológicos

#### 5.3.1.1. Casuística da doença de Chagas em Abaetetuba

Os dados para a análise dos casos do município de Abaetetuba no período de 2005 a 2012 foram extraídos do banco do Sistema Nacional de Agravos de Notificações (Sinan) (Anexo 1) (Portaria GM/MS Nº 2325 de 08 de dezembro de 2003).

Como neste banco são obrigatoriamente registradas as notificações negativas, antes da análise, procedeu-se a “limpeza” dos dados seguindo-se os critérios para definição de casos agudos da doença (MS, 2005; OPAS, 2009; SESPA, 2009).

Foram inseridas em planilha Excel as informações caso a caso por sexo, idade, ano e mês da notificação, tipo do evento (se isolado ou surto), fonte de notificação, local da infecção (rural, urbano ou ilha), provável alimento envolvido, data do início dos sintomas, exames realizados, método de confirmação de diagnóstico, data do início do tratamento, óbito, data do óbito e sintomatologia.

Nesta mesma planilha acrescentaram-se os dados climatológicos da temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), precipitação pluviométrica (mm), umidade relativa (%) e velocidade do vento (m/s) registrados diariamente pela estação de Cametá-PA do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Considerou-se a informação anterior há 30 dias a partir da data de notificação, pois é o tempo médio que se observa entre os primeiros sintomas e o diagnóstico da DCA no estado do Pará.

O risco da doença na população foi estimado pela incidência anual (Positivos pela população no ano da notificação dos casos) em cem mil habitantes.

#### 5.3.2. Inquérito parasitológico e sorológico humano

Por meio do cadastro de famílias realizado pelos agentes de saúde foi elaborada uma relação nominal de todos os habitantes das localidades. Como na ilha e no meio rural não havia numeração de referência nas residências, uma equipe foi designada para numerar e georreferenciar todas as casas, ao mesmo tempo em que um técnico do município preparava um croqui de toda a área a ser estudada (Anexo 2). No caso do meio urbano foi utilizada a numeração existente nas casas e também foram georreferenciadas.

Antes de serem iniciadas as atividades de campo, foram realizadas reuniões com as comunidades para o esclarecimento da metodologia de trabalho e palestras sobre a transmissão da doença de Chagas. Na oportunidade, foi informado o local onde as pessoas poderiam coletar as amostras de sangue.

Para a realização do inquérito foram organizadas três equipes. Uma fixa, uma móvel e outra composta por microscopistas que faziam a leitura de lâminas de exames a fresco em um laboratório instalado previamente em cada localidade.

A equipe fixa coletava amostras de sangue das pessoas que se dirigiram ao local determinado, ao passo que cabia à equipe móvel a coleta de amostras de participantes que estavam, por diversos motivos, impedidos de se deslocarem. Ao final do período da coleta foi feito um levantamento e realizada busca ativa, casa a casa, dos faltantes.

Seguindo a metodologia aplicada nos Inquéritos Nacionais (SILVEIRA, 1984; OSTERMAYER, 2011) para a avaliação de tripanosomatídeos no universo da população residente foi coletada amostra de sangue da polpa digital em papel de filtro (Whatman nº 1, Qualitative Filter Paper, Maidstone, England) para triagem, estas amostras foram submetidas a testes de triagem pela técnica de ELISA pelo Instituto de Pesquisa e Diagnóstico de Campo Grande-MS (IPD/APAE).

Durante a coleta, foi questionado aos participantes se tiveram febre nos últimos trinta dias e/ou tiveram contato com triatomíneos, nos indivíduos que confirmaram pelo menos uma das questões, foi coletada uma amostra de sangue da polpa digital em lâmina para realização de gota de sangue a fresco, e foi aliqüotada outra de sangue venoso para pesquisa do parasita no creme leucocitário e para análise por IFI (CAMARGO, 1966), ELISA, HAI e IgM. Ao final, ambas as amostras foram encaminhadas para processamento no Laboratório Central do Estado (LACEN - PA) e na Fundação Ezequiel Dias (FUNED - MG).

Após a realização do estudo sorológico, cada resultado foi classificado como se segue: 1) resultado positivo no papel de filtro confirmado pelo estudo do soro. Conclui-se que é caso sorologicamente confirmado de infecção pelo *T. cruzi*, susceptível a tratamento etiológico; 2) resultado positivo no papel de filtro não confirmado pelo processamento das amostras com soro; trata-se de falso positivo no papel de filtro, não confirmado pelo resultado no soro; 3) resultado positivo no papel de filtro e indeterminado no soro ou negativo no papel filtro e reagente no soro que se consideraram como reação cruzada com outra doença.

Foram inseridas em planilha Excel as informações individuais por número e coordenadas geográficas do imóvel, sexo, idade, data da coleta, febre, contato com triatomíneo (picada ou encontro do inseto na residência), tipo de amostra de sangue coletado, resultados dos exames de laboratório e resultados finais.

Nesta mesma planilha acrescentaram-se os dados climatológicos da temperatura, precipitação pluviométrica, umidade relativa e velocidade do vento registrados diariamente pela estação de Cametá-PA do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Considerou-se a informação anterior há 30 dias a partir da data da coleta de sangue.

A prevalência da doença na população foi estimada pelos positivos em relação aos examinados em um grupo de mil habitantes.

A todos os participantes do projeto foi apresentado um termo de consentimento livre e esclarecido conforme aprovação pelo CEP da UFOP (código 0029.0238.000-09).

### 5.3.3. Processamento das amostras

Após recepção das amostras em papel filtro no laboratório, foi checada de cada amostra a data de encaminhamento e o tamanho das gotas. As amostras foram armazenadas a -20°C, até o processamento, em geral no decorrer de sete dias. No dia anterior à execução dos testes, a primeira gota de sangue foi dividida ao meio e recortado o papel de filtro excedente. A metade de uso foi eluída com 62µL de solução salina tamponada, pH 7,0 e mantida a 4°C durante 14 às 16h (overnight). A outra metade foi mantida a -20°C, para eventuais repetições.

#### 5.3.3.1. ELISA

ELISA é um teste imunoenzimático, onde as cavidades das tiras de microplacas são previamente sensibilizadas com antígeno de *T. cruzi* para a detecção direta de anticorpos no soro humano ou no plasma de pacientes infectados com o *T. cruzi*. (VOLLER et al., 1976).

Os anticorpos presentes nas amostras são capturados pelos antígenos do *T. cruzi*. Após uma etapa de lavagem os anticorpos capturados são ligados com o conjugado (anti-IgG humano marcado com enzima peroxidase). Durante a etapa de detecção, a peroxidase presente no complexo conjugado - antígeno - anticorpo, reage com um substrato cromogênico (TMB).

A reação enzimática é parada ao adicionar ácido sulfúrico e a reação passa a apresentar uma coloração amarela em caso de positivo (reagente). Nas cavidades em que não houver anticorpos específicos não ocorrerá desenvolvimento de cor, o que caracteriza uma reação negativa (não reagente). Foram considerados os seguintes parâmetros:

A intensidade da cor da reação é lida em espectrofotômetro usando filtro de 450nm

Amostra utilizada: Soro

Cut-off = 0,300

Resultados: Segundo a densidade ótica (DO):

Amostras reagentes: são as que apresentarem DO igual ou superior ao cut-off

Amostras não reagentes: são as apresentarem DO inferior ao cut-off

#### 5.3.3.2. Hemaglutinação Indireta (HAI)

A reação de HAI é baseada na aglutinação de hemácias sensibilizadas com antígeno do *T. cruzi* em presença do soro contendo anticorpos contra esse parasita. A leitura é visual (KNIERIN & RUBINSTEIN, 1970; CAMARGO, 1971).

.Amostra utilizada: Soro

#### 5.3.3.3. Gota de sangue examinada a fresco

Gota de sangue examinada a fresco

Pesquisa direta na amostra biológica, sem fixação e coloração. O sangue é coletado entre a lâmina e a lamínula e examinado com aumento de 400 vezes (x) no microscópio ótico. Os parasitas são visualizados pelos movimentos rápidos entre as hemácias (LUQUETI & RASSI, 2000).

#### 5.3.3.4. Método de concentração de parasitas – creme leucocitário

Este método é utilizado na rotina de confirmação de casos agudos no estado do Pará e por isso foi incluído no presente estudo. Permite a investigação direta do parasita na amostra concentrada por centrifugação. O protocolo estabelecido pelo LACEN-PA consiste na coleta de 10 ml de sangue em tubos com anticoagulante e centrifugado a 1500 rpm por 10 minutos. Após a centrifugação retira-se com auxílio de uma pipeta, a camada superior de plasma, mantendo no tubo a interface fina que contém os glóbulos brancos e a camada de células vermelhas inferior. Com o auxílio de outra pipeta coleta-se a camada mais clara de glóbulos brancos (creme leucocitário ou *buffy coat*). Este creme pode ser examinado entre a lâmina e a lamínula em aumento de 400 vezes ou pode ser confeccionado esfregaços. Neste caso após a fixação, cora-se pelo GIEMSA durante 25 minutos, lava-se a lâmina e após secagem deve ser examinada em microscópio óptico com aumento de 400 x e 1000 x (com imersão).

#### 5.3.3.5. Imunofluorescência indireta – IFI IgM e IgG

Os anticorpos presentes no soro de pacientes portadores de doença de Chagas, quando incubados sobre uma lâmina contendo antígeno de *T. cruzi* previamente fixado, são revelados através de uma antiglobulina humana marcada pela fluoresceína (conjugado) (FIFE & MUSCHEL, 1959; CAMARGO, 1966).

Amostra utilizada: Soro

Cut-off = 1/40

Resultados:

Reação Positiva- fluorescência verde brilhante, periférica ou por toda a membrana e superfície do tripanosoma.

Reação Negativa – Os tripanosomas apresentam cor vermelha ou coloração verde fosca limitada ao corpo do parasita.



#### 5.3.4. Inquérito entomológico

Para a Amazônia Brasileira ressalta-se que não existem metodologias padronizadas e/ou institucionalizadas para pesquisas de campo e controle de triatomíneos silvestres. Por este motivo elaborou-se um roteiro de pesquisa entomológica. (Anexo 3). O inquérito investigou níveis de infestação, infectividade e fontes alimentares dos triatomíneos.

Metodologia de captura: Para obter informações sobre os níveis de infestação domiciliar e dos ecótopos naturais dos potenciais vetores, durante o estudo foram testadas metodologias de captura como: pesquisa de insetos no domicílio pela técnica hora-homem, (tempo de captura gasto para pesquisar cada domicílio), instalação de armadilhas tipo Noireau (NOIREAU et al., 2002), instalação de armadilha tipo Shannon (SHANNON, 1939) e dissecação de ecótopos potenciais. Entretanto as informações das armadilhas Shannon não foram utilizadas pois resultaram todas negativas.

Os domicílios selecionados para pesquisa foram aqueles em que os indivíduos, durante a coleta de sangue, declararam ter tido febre nos últimos trinta dias e/ou contato com triatomíneos. Este contato referiu-se a picada ou encontro do vetor no domicílio.

A pesquisa ativa foi realizada por dois capturadores no ambiente externo e dois no interno, através de captura manual, com o uso de pinça e com o auxílio de fonte artificial de iluminação e desalojante químico (piriza) na diluição de 2% em água, sempre quando não foi detectado o vetor por observação direta. No sentido de sistematizar a busca, seguiu-se uma sequência na pesquisa. Teve início no cômodo de acesso, iniciando-se pelo canto mais à esquerda e seguindo no sentido horário. A seguir foram verificados móveis e utensílios existentes. Concluída a pesquisa em um cômodo passou-se ao seguinte. Existindo dependências à esquerda e à direita, de início toma-se aquela da esquerda. A sequência em cada um dos cômodos foi a mesma.

Uma vez feita a captura no interior do domicílio, fez-se a pesquisa das paredes externas da casa, também a partir do canto mais à esquerda. A pesquisa no peridomicílio foi iniciada pela revisão de cercas ou muros, seguindo-se a isso a busca em anexos propriamente ditos e em outros locais de abrigo de animais, onde houvesse potencial oferta de alimentos, sendo concluída no ponto inicial.

As armadilhas com atrativo animal (pintinhos de 2 dias) foram colocadas em potenciais ecótopos (palmeiras, abrigos de animais silvestres e domésticos). As armadilhas

foram construídas pelos técnicos das regionais de Saúde do Estado do Pará em conjunto com os técnicos do Ministério da Saúde, utilizando-se copos plásticos com tampas teladas na parte central. Na parte superior, é envolta por uma fita adesiva de dupla face que fixam o triatomíneo quando este tenta se alimentar,

Para a seleção das palmeiras foi avaliada, visualmente, a quantidade de vegetação epífita e material orgânico morto (folhagens, cascas, flores, frutas, fibras e epífitas) acumulada em suas coroas e talos (ABAD-FRANCH et al., 2007), portanto com probabilidade de presença de reservatórios e triatomíneos. As armadilhas Noireau foram colocadas na base e na copa das palmeiras selecionadas, para isto, foram usadas escadas e cordas para atingir as copas. Considerou-se palmeira positiva aquelas em que as armadilhas foram positivas (com triatomíneos) e somente estas foram dissecadas.

A palmeira positiva foi derrubada com auxílio de motosserra. Primeiramente, foram removidos cuidadosamente os ninhos e cascas de árvores e colocados sobre um pano branco para pesquisa de triatomíneos. A dissecação foi realizada a partir da retirada das folhas uma a uma, com facão, até chegar a região central chamada olho.

Transporte e dissecação dos triatomíneos: Os triatomíneos capturados foram depositados em recipientes com papel em sanfona alojados em isopor para manter um microambiente ideal para a sobrevivência dos espécimes e levados ao laboratório, instalado em cada localidade. Os insetos foram mantidos desta forma até o momento do exame para identificação e detecção de tripanosomatídeos (infectividade) pelas fezes ou de dissecação quando não havia conteúdo intestinal suficiente para análise. Os triatomíneos foram identificados segundo a classificação de LENT & WYGODZINSKY, 1979.

O estudo de infecção natural das espécies capturadas foi realizado por meio de suave pressão no abdome com auxílio de pinça entomológica, de modo que as fezes frescas, diluídas em solução salina, formassem fina camada delgada entre lâmina e lamínula para posterior exame em microscópio bacteriológico com aumento de 400X.

Teste de precipitina para identificar fontes alimentares dos triatomíneos: Para o estudo de fontes alimentares dos insetos capturados, foi utilizado o papel de filtro contendo a amostra do conteúdo intestinal de cada inseto que foi mergulhada em solução salina (NaCl 0,85%) e o eluato obtido examinado pela reação imunológica de precipitina por meio da técnica de tubos capilares (SIQUEIRA, 1960) com diferentes antissoros para detecção de sangue humano, ave,

cabra, boi, cão, gato, tatu, cavalo, ovelha, roedor, gambá e réptil, no laboratório Internacional de Taxonomia de Triatomíneos (Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ/RJ).

Os isolados de *T. cruzi* obtidos foram caracterizados por critérios moleculares. As hemoculturas foram analisadas no Laboratório de Biologia de Tripanosomatídeos (Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ/RJ), porém os resultados destas análises não serão aqui considerados por fazerem parte de outra tese.

Todas as informações entomológicas foram inseridas no banco de dados do inquérito humano.

### 5.3.5. Diagnóstico Ambiental

O diagnóstico ambiental foi desenvolvido paralelamente com a equipe do inquérito entomológico. Para a realização do levantamento das espécies vegetais, utilizou-se como ferramenta o método de Avaliação Ecológica Rápida (AER), um protocolo desenvolvido para inventário florístico qualitativo baseado em Pontos de Observação (PO's) pela The Nature Conservancy (SOBREVILA & BATH, 1992). Os PO's são áreas selecionadas com raio cruzado de 50 m onde são registradas todas as espécies de plantas. A cada espécie foi atribuída, de forma subjetiva, uma ocorrência ou densidade, podendo ser: **Abundante** - espécie cujas populações são muito numerosas e que chegam a formar mancha ou agregados mono específicos; **Comum** - espécie também numerosa, porém que não formam agregados; **Ocasional** - espécie cujo padrão de ocorrência assemelha-se àquele esperado ao acaso; **Rara** - espécie que ocorre em baixas densidades, com um indivíduo por Ponto de Observação.

Em Ajuá o registro das espécies de ocorrência foi por observação em 4 PO's ao passo que em Genipaúba foram 2 PO's.

Em Panacauera, pelo método de parcelas inventariaram-se 5000 m quadrados da área atrás da casa do caso suspeito, distribuída em 20 quadras de 25m de comprimento por 10m de largura, onde foram medidos e inventariados todos os indivíduos arbóreos com circunferência  $\geq$  a 31 cm e na Avaliação Ecológica rápida (AER) foram feitos 02 PO's. Nesses pontos foram utilizadas áreas pontuais com raio de 50m para cada ponto cardeal onde se registraram todas as plantas, independentemente dos seus hábitos.

Com base na exploração de espécies não madeireiras, na extração de espécies comerciais como a virola, pracuuba, macacauba e sucupira amarela e no percentual de área com plantio de açaizeiros, foi atribuída uma pontuação de 1 a 5, sendo 1 a área mais antropizada e 5 a área menos antropizada.

#### 5.3.6. Processamento e Análise de dados

Os dados utilizados neste estudo foram extraídos de duas fontes de coleta e organizados em planilhas individuais no programa Excel. O banco denominado de Vigilância foi elaborado a partir das informações dos casos agudos notificados no Sinan do Estado do Pará no período de 2005 a 2012. Procedeu-se a “limpeza” deste banco, retirando-se os casos negativos e os suspeitos que não foram encerrados no tempo devido, resultando em um universo amostral de 184 casos. As taxas de incidência foram calculadas para uma base de cem mil habitantes.

Para a elaboração do banco denominado Inquérito utilizou-se a Ficha de Cadastramento de Famílias (Ficha A) dos Agentes Comunitários de Saúde, respeitando-se os limites do território de cobertura de cada agente nas áreas selecionadas. Elaborou-se uma relação com os nomes dos moradores casa a casa. Esta relação foi atualizada durante a coleta da amostra de sangue ou na visita as residências. Com estas informações elaborou-se uma planilha em Excel com os dados individualizados daqueles que aceitaram participar do estudo. A amostra constou de 4699 indivíduos.

As residências das ilhas e ambiente rural foram identificadas com uma numeração sequencial e georreferenciadas. No caso da área urbana considerou-se a identificação existente e também se procedeu ao georreferenciamento.

Os casos de DCA foram analisados com respeito às dimensões epidemiológicas (variáveis epidemiológicas para doença de Chagas propriamente ditas, demográficas, entomológicas e clínicas), geográfica e ambiental (Tabela 2). A prevalência foi calculada para uma base de mil habitantes.

**Tabela 2. Variáveis de risco e unidades de medida e codificação**

<b>Definição de risco</b>	<b>Unidade de medida e codificação</b>
<b>Clínicas e Epidemiológicas</b>	
Sem Sintomas	1=sem sintomas/0=com sintomas
Com Edema	1=Com edema/0=sem edema
Com Hepatomegalia	1=Com hepatomegalia/0=sem hepatomegalia
Com Astenia	1=Com astenia/sem astenia=0
Com Febre	febre =1/sem febre=0
Transmissão Oral	1= caso oral/0= caso não oral
Transmissão Vetorial	1= caso vetorial/0= caso não vetorial
Contato com o triatomíneo	Com contato=1/Sem contato=0
Comeu açaí	comeu =1/não comeu=0
Idade<27 (média Vigilância)	≤27 anos=1/>27 anos=0
Idade>19 (média Inquérito)	≤19 anos=1/>19 anos=0
Sexo Masculino	1=Masculino/0=Feminino
Local de infecção- Meio rural	1=Rural/0=Urbano
<b>Ambientais e Climáticas</b>	
Rural (Inquérito)	1= rural/0=não rural
Urbano (Inquérito)	1=urbano/0=não urbano
Área com plantio de Açaí	Plantio=1/Sem Plantio=0
Ocorrência de Antropização	1=com antrop/0=Sem antrop
Velocidade do vento	Média (m/s)
Temperatura	Média (°Celsius)
Umidade	Média (%)
Precipitação	Média (mm)
<b>Entomológicas</b>	
Palmeiras infestadas	Presença=1/Ausência=0

As variáveis climáticas, não sendo dicotomizadas, receberam tratamentos como variáveis contínuas.

No banco do Inquérito foram acrescentados, ainda, os dados da pesquisa entomológica nas residências e ambiente silvestre, da pesquisa da infectividade e fonte alimentar, além do diagnóstico do ambiente. Todas as atividades foram georreferenciadas.

Na análise ambiental, considerou-se como critério para avaliar o grau de antropização e o risco, o percentual de palmeiras de frutos de açaí existentes nas áreas, a população de espécies arbóreas não madeireiras e a extração de espécies comerciais como virola, pracuuba, macacauba e sucupira amarela. Deste modo, elaborou-se uma escala de um a cinco conforme o grau de antropização.

O estudo utilizou o enfoque de risco em epidemiologia e o risco foi medido em forma absoluta (medidas de frequência, incidência, prevalência) e em forma relativa (Razão de Chances, Razão de Prevalência).

As análises foram desenvolvidas no programa de linguagem estatística R, livre para download no endereço [www.cran.r-project.org/](http://www.cran.r-project.org/), mais especificamente, através da função *glm*. Para avaliar o nível de associação entre os fatores estudados e à presença/ausência de casos de doença de Chagas no Pará utilizou-se o Modelo de Regressão Logística, tanto no contexto univariado, como no multivariado. Para medir fatores de risco associados ao número de casos de doença de Chagas entre os anos 2005 e 2012 utilizou-se o modelo linear generalizado Poisson com correção do fator de heterogeneidade presente nos dados (método Quasipoisson), tanto no contexto univariado, como no multivariado.

A análise univariada procurou atingir dois objetivos: 1) medir a associação individual das variáveis independentes com a presença/ausência de doença de Chagas para o banco Inquérito e com o número de casos por mês para o banco Vigilância. Para os dois bancos, a medida de associação utilizada foi a razão de chances, RC. Uma RC de 1 indicou não associação, menor de 1 indicou proteção e maior de 1 indicou associação. O nível de associação neste estudo foi estabelecido em 1,1 por consenso entre os consultores envolvidos. A RC foi calculada com o intervalo de confiança de 95% (IC 95%). Se este intervalo contivesse o 1, a variável não apresentava associação significativa com a doença 2) selecionar variáveis candidatas a participar do modelo multivariado, àquelas que apresentaram *p*-valor menor que 0.30 ( $p < 0.30$ ) no banco Inquérito e Vigilância e as variáveis qualitativas que diferiam entre os seus pares ( $p < 0,05$ ) no banco Vigilância.

Para compor o modelo multivariado para as análises da Vigilância e Inquérito:

- 1) Selecionaram-se as variáveis com nível de significância menor que 0.30 no modelo univariado;
- 2) Construiu-se a matriz de correlação entre as variáveis candidatas ao modelo multivariado;

- 3) As variáveis que apresentaram correlação razoável ( $\geq 0.60$ ) foram avaliadas e, se, do ponto de vista prático traziam informações similares foram eliminadas com o intuito de evitar colinearidade;
- 4) Selecionaram-se as variáveis importantes para o modelo multivariado através do procedimento stepwise-backward baseando-se no valor do Critério de Informação de Akaike (AIC) dos submodelos ajustados pelo método; Quanto menor o valor de AIC menor o erro e, conseqüentemente, melhor o modelo.

A validação do modelo multivariado para o banco do Inquérito foi feita através de medidas de bondade de ajustes aplicando-se a Curva ROC e o teste de Hosmer & Lemeshow. Para o banco da Vigilância a validação do modelo Quasipoisson foi através da análise do gráfico normal de probabilidade com envelope para o resíduo do modelo, neste caso se os resíduos do modelo caírem dentro da faixa do intervalo de confiança (envelope) o modelo estará ajustado.

Uma escolha natural de distribuição para modelar dados que representam a contagem de um determinado fenômeno, tal como, o número de casos de doença de Chagas é a Distribuição Poisson. É comum em dados de contagem ocorrer de a variabilidade observada exceder a variabilidade que o modelo teórico pode acomodar fenômeno conhecido como superdispersão. Detecta-se superdispersão, particularmente em um modelo Poisson quando o desvio do modelo é maior do que o número de graus de liberdade (HINDE & DEMÉTRIO, 1998). Para corrigi-la, foi utilizado o método da Quase-verossimilhança na estimação do fator de heterogeneidade e então adicionado esse parâmetro de dispersão no modelo. Em outras palavras, modificou-se a função de variância teórica do modelo para que a mesma pudesse ajustar a variabilidade excedente nos dados. Esse processo de modelagem recebe o nome de Quasipoisson. A qualidade do ajuste de um Modelo Linear Generalizado (MLG) (em inglês: Generalized Linear Models - GLMs) pode ser avaliado através de um gráfico normal de probabilidade preparado para a distribuição Poisson: Se os resíduos do modelo Poisson ajustado caírem dentro do intervalo de confiança, o modelo estará bem ajustado e, portanto, suas estimativas serão confiáveis.

Quando os valores da RC foram menores que 2 os resultados foram expressos em porcentagem e quando foram maiores, se expressaram em número de vezes. Em todas as análises o nível de significância adotado foi de 5% ( $p < 0,05$ ).

Para descrever a concordância entre os laboratórios e os métodos, utilizou-se a medida Kappa que é baseada no número de respostas concordantes. A estatística Kappa mede o grau de concordância além do que seria esperado tão somente pelo acaso. Se o Kappa foi igual a 0, indicou concordância nula, se ele foi maior do que zero, a concordância foi maior do que o acaso (teste monocaudal:  $H_0: \text{Kappa} = 0$ ;  $H_1: \text{Kappa} > 0$ ). No caso de rejeição da hipótese ( $\text{Kappa}=0$ ), a medida de concordância foi significativamente maior do que zero o que indicou que existe alguma concordância. Foi adotada a classificação proposta por LANDIS & KOCH (1977):

Valores de Kappa	Interpretação
<0	Não Concordância
0-0.19	Baixa Concordância
0.20-0.39	Concordância Moderada
0.40-0.59	Concordância Média
0.60-0.79	Concordância Substancial
0.80-1.00	Concordância Perfeita

Foram testadas as seguintes variáveis: Concordância entre todos os exames e laboratórios, concordância entre laboratórios, concordância entre laboratórios para exame Elisa, concordância entre os laboratórios para Hemaglutinação indireta e concordância entre os laboratórios para Imunofluorescência indireta.

As análises foram desenvolvidas no programa de linguagem estatística R, através biblioteca *concord*. O nível de significância adotado nas análises foi de 5%.



## **6. Resultados**

### **6.1. Casuística de DCA em Abaetetuba, período 2005 a 2012**

#### **6.1.1. Características clínicas e epidemiológicas**

Dos 937 casos de DCA, que ocorreram no período de 2005 a 2012 no Estado do Pará, o município de Abaetetuba, foi responsável pela notificação de 19,61% (n=184). No período, a incidência variou entre 0,76/100.000 habitantes e 41,55/100.000 habitantes, nos anos de 2005 e 2012, respectivamente. A letalidade no período foi de 2,17% (4/184 casos).

A faixa etária variou de 2 meses a 78 anos (mediana 31) sendo que a maior proporção de casos acumulados da série se concentrou nos grupos de 5 a 14 anos (21,20%), 25 a 34 anos (20,11%), sendo 61% dos casos nas faixas entre 5 e 34 anos de idade. O sexo masculino acumulou 51,08% dos casos.

A via de transmissão oral foi responsável por 60,87% dos casos sendo que o açaí esteve envolvido em 50,57% dos eventos registrados. Quanto ao método de diagnóstico, 72,30 % dos casos foram confirmados pelo parasitológico. Entre sintomas e sinais, a febre foi registrada com a maior frequência (72,28%) e 4,90% dos casos foram registrados como assintomáticos. (Tabela 3).

No que diz respeito à porta de entrada dos casos no sistema de informação: 66,84% (123) foram confirmados pelo setor de endemias da Secretaria Municipal de Saúde de Abaetetuba, 16,30% (30) por institutos de pesquisa, 10,87% (20) por hospitais dos municípios e 5,97% (11) excepcionalmente pelo Ministério da Saúde quando da investigação de surto oral no município.

**Tabela 3. Características epidemiológicas e clínicas dos casos de doença de Chagas Agudo em Abaetetuba – PA, 2005-2012.**

<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Idade (anos)</b>		
<5	7	3,8
5 – 14	39	21,2
15-24	30	16,3
25-34	37	20,11
35-44	21	11,41
45-54	20	10,87
55-64	13	7,07
>64	17	9,24
<b>Gênero</b>		
Feminino	90	48,91
Masculino	94	51,08
<b>Modo de Transmissão</b>		
Oral	112	60,87
Vetorial	8	4,35
Sem informação	64	34,78
<b>Diagnóstico de laboratório</b>		
Parasitológico	133	72,28
Sorológico	49	26,63
Parasita+Sorológico	2	1,08
<b>Sintomas e Sinais</b>		
Febre	133	72,28
Astenia	114	61,96
Edema de face e membros	43	23,37
Taquicardia/arritmia	27	14,67
Hepatomegalia	19	10,33
Assintomático	9	4,89

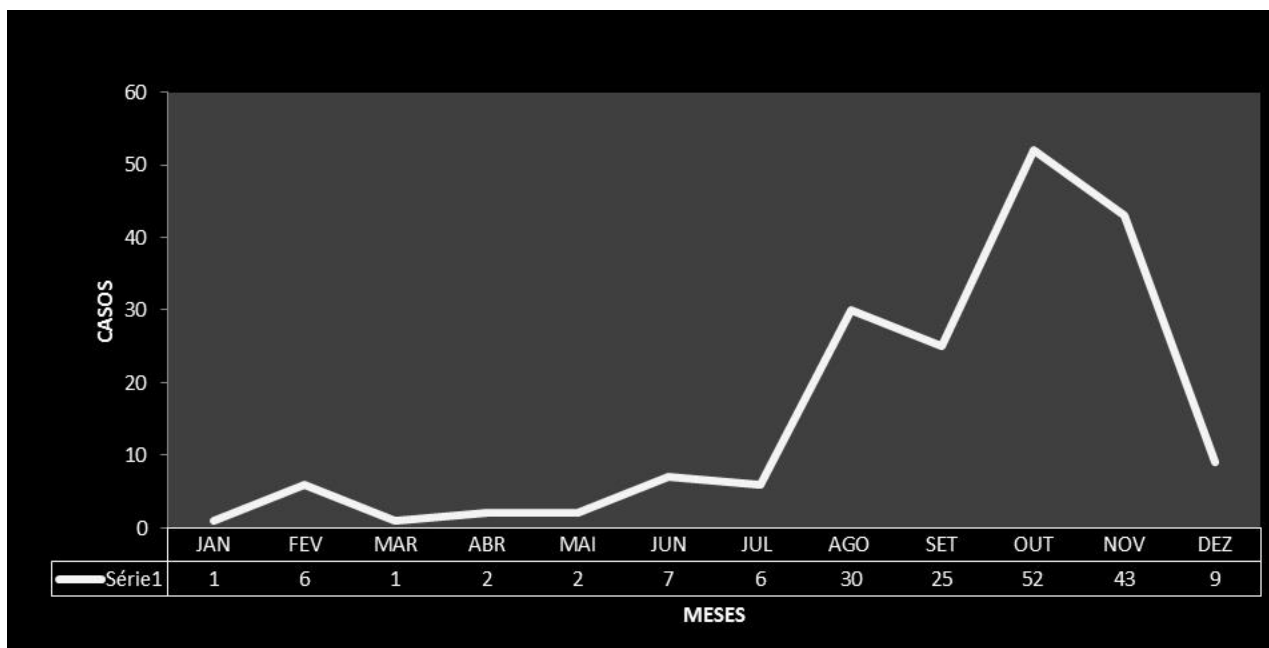
### 6.1.2. Distribuição temporal-espacial e sazonalidade da DCA em Abaetetuba.

Segundo o modelo Quasipoisson, os anos que mais tiveram casos da doença foram os anos de 2012 e 2009, em segundo lugar os anos de 2007, 2010 e 2006, em terceiro 2011 e 2008, sendo que o ano de 2005 foi o de menor número de casos. (Chi-quadrado= 334.31, gl=2,  $p < 0.0001$ ) (Tabela 4)

**Tabela 4. Distribuição dos casos por ano segundo o modelo Quasipoisson. Abaetetuba-PA, 2005-2012**

<b>Casos/Ano</b>	<b>2005</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>2009</b>	<b>2010</b>	<b>2011</b>	<b>2012</b>
<b>Casos</b>	1	13	17	8	58	17	10	60
<b>Ordem segundo análise Q-P</b>	4	2	2	3	1	2	3	1

A distribuição mensal de casos de DCA de 2005 a 2012 apresentou uma curva epidemiológica de sazonalidade (Figura 8) onde se observou um aumento discreto no primeiro semestre do ano, com tendência ascendente e outro aumento de maior amplitude a partir do mês de julho, com picos nos meses de agosto e outubro.



**Figura 8. Distribuição mensal dos casos acumulados de DCA no município Abaetetuba-PA, 2005-2012.**

A área urbana registrou o maior número de casos 70,65% (n=142) do total, excluído o ignorado (Tabela 5). Segundo o modelo Quasipoisson, há diferenças substanciais entre os semestres apenas para a área urbana. Para as ilhas, ao nível de 5% de significância não há diferenças entre os semestres.

**Tabela 5. Distribuição dos casos de DCA por área da infecção por semestre. Abaetetuba-PA. 2005-2012**

Área/Casos	I semestre		II semestre		Diferença	p-valor
	N	%	N	%		
Urbana	12	6,52	130	70,65	118	0.00597
Rural	7	3,8	1	0,54	6	0.568
Ilha	6	3,26	27	14,67	21	0.079
<b>Abaetetuba</b>	<b>25</b>	<b>13,66</b>	<b>158</b>	<b>86,33</b>	<b>133</b>	<b>0.0001896</b>

### 6.1.3. Análise Univariada - Vigilância

A Tabela 6 apresenta a associação individual de cada variável através da medida de razão de chances (RC) e seu intervalo com 95% de confiança (IC95%), bem como a significância de cada variável para o modelo através da medida do *p*-valor; variáveis que apresentam  $p < 0.30$  foram consideradas candidatas para o modelo multivariado.

**Tabela 6. Razão de Chances e nível de significância (*p*-valor), baseadas no modelo Quasipoisson univariado para a DCA segundo o banco de Vigilância, Abaetetuba- PA. 2005-2012.**

Variáveis	RC	IC95%	<i>p</i> -valor
<b>Clínicas e Epidemiológicas</b>			
Edema	1.33	(1.20;1.47)	0.0192
Hepatomegalia	1.25	(1.13;1.37)	0.0403
Astenia	1.11	(1.08;1.15)	0.0048
Febre	1.09	(1.07;1.12)	0.0062
Idade > e < de 27 anos	-0.01	(-0.03;0.02)	0.7753
Comeu açaí	1.11	(1.06;1.16)	0.0241
<b>Ambientais e Climáticas</b>			
Aumento da velocidade do vento	1.57	(0.76;3.26)	0.55
Aumento da Temperatura	2.96	(1.75;5.01)	0.2511
Aumento da Precipitação	-0.48	(-0.70;0.83)	0.5953
Aumento da Umidade	-0.13	(-0.08;-0.19)	0.0661

A interpretação dos resultados acima é a seguinte:

- Indivíduos que tiveram edema têm aproximadamente 33% mais chances de ter a doença;
- Indivíduos que tiveram hepatomegalia têm aproximadamente 25% mais chances de ter a doença;
- Indivíduos que tiveram astenia têm aproximadamente 11% mais chances de ter a doença;

- A chance de ocorrer doença de Chagas em indivíduos que apresentaram febre é 9 % maior do que a ocorrência de Chagas em indivíduos sem febre;
- A idade não tem impacto sobre o número de casos
- Indivíduos que comeram açaí tiveram aproximadamente 11% mais chances de ter a doença
- O incremento de 1 m/s na velocidade do vento implica no aumento de 57% de chance de um individuo ter a doença de Chagas;
- O acréscimo de 1°C na temperatura aumenta 3 vezes a chance de um individuo ter a doença;
- O acréscimo de 1 unidade de porcentagem na umidade do ar faz com que a chance de ocorrer a doença de Chagas diminua em 13%;
- O acréscimo de 1 mm na precipitação faz com que a chance de ocorrer a doença de Chagas diminua em 48%;

Considerando a importância epidemiológica das variáveis: sexo, local da infecção, tipo de transmissão, idade e sintomas foram comparadas com o modelo Quasipoisson, o qual determinou que não houve diferença significativa entre seus pares (Tabela 7).

**Tabela 7. Comparação entre níveis das variáveis explicativas segundo o modelo Quasipoisson**

<b>Variáveis Explicativas</b>	<b>RC</b>	<b>IC95%</b>	<b>P-valor Diff</b>
Mulheres	1.11	(1.09;1.12)	0.935
Homens	1.11	(1.10;1.12)	
Rural	1.18	(1.15;1.22)	0.076
Urbana	1.06	(1.05;1.07)	
Oral	1.12	(1.10;1.13)	0.478
Vetorial	1.10	(1.08;1.11)	
Idade>27	1.13	(1.11;1.16)	0.086
Idade<27	1.09	(1.07;1.10)	
Com sintomas	1.53	(1.19;1.96)	0.119
Sem sintomas	1.14	(1.09;1.19)	

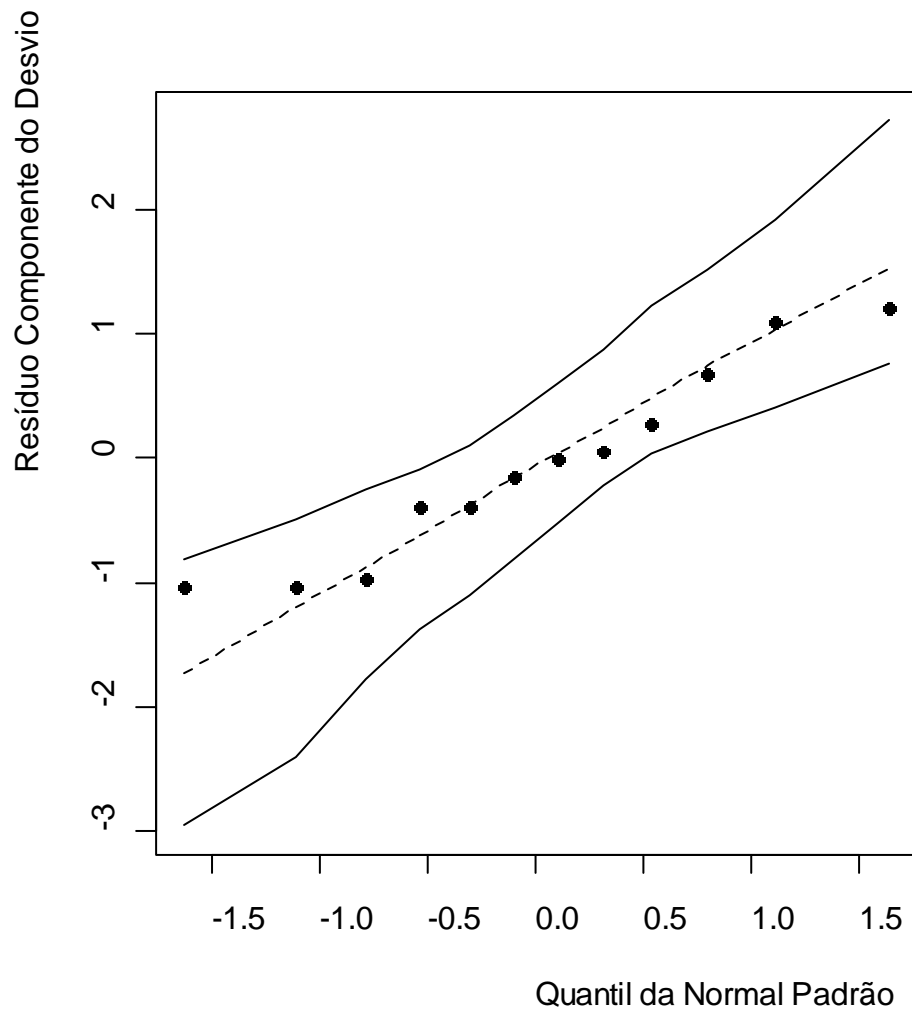
#### 6.1.4. Análise Multivariada – Vigilância

A análise multivariada ajustou como fatores associados ao risco de ter doença de Chagas agudo: a presença de edema, comer açaí e apresentar febre, com nível de significância estatística menor que 0,05. Os resultados estão apresentados na Tabela 8.

**Tabela 8. Modelo de regressão logística multivariada para doença de Chagas. Abaetetuba-PA. 2005-2012**

<b>Fatores associados ao risco</b>	<b>RC</b>	<b>IC95%</b>	<b>P-valor</b>
Edema	1.23	(1.19;1.28)	0.0004
Comeu açaí	1.14	(1.12;1.16)	<0.0001
Febre	1.08	(1.06;1.09)	0.0013

A Figura 9 demonstra que este modelo foi validado já que todos os resíduos estimados pelo modelo caíram dentro do envelope do gráfico normal de probabilidade.



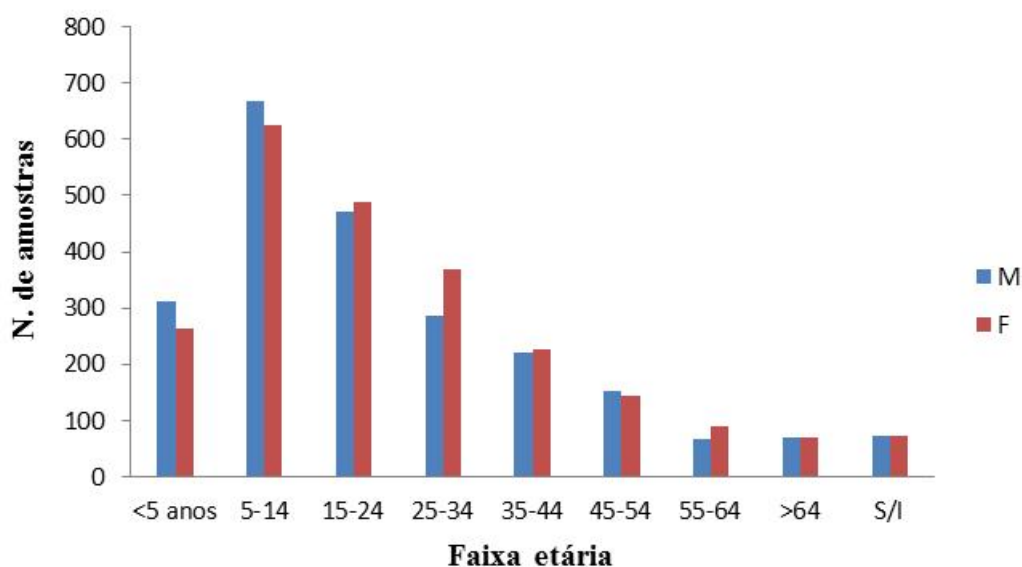
**Figura 9. Gráfico normal de probabilidade para o modelo Quasipoisson. Abaetetuba-PA. 2005-2012**



## 6.2. Positividade da infecção por *T. cruzi* em Abaetetuba

Para o inquérito parasitológico e sorológico humano, o plano amostral foi baseado na inclusão dos 6 213 residentes cadastrados pelos agentes comunitários do município de Abaetetuba, sendo que 3 033 em Ajuai, 320 em Genipaúba, 637 em Panacauera, 1651 em Francilândia e 572 em São Sebastião.

Desta população, foram obtidas 5566 (89,58%) amostras sendo que 867 (15,57%) amostras foram excluídas por diversos motivos: fungos, erros de cadastramento, material insuficiente. Foram consideradas válidas para processamento e análise estatística 4 699 amostras, ou seja, 75,63 % da população total. A distribuição das amostras por faixa etária e sexo foram 51,09% do sexo feminino e 48,91% do sexo masculino (Figura 10). A diferença não foi significativa ( $\alpha=0.0218$ ; IC=0,0071;0,0363;  $p= 0,4913$ ).



**Figura 10. Amostras para sorologia por faixa etária e sexo. Abaetetuba-PA. 2008-2009**

A prevalência geral foi de 2,54 por mil habitantes, sendo que a ilha de Ajuai foi a área com maior prevalência, seguida de Francilândia e Panacauera (Tabela 9).

**Tabela 9. População amostrada, positivos e prevalência segundo as localidades. Abaetetuba-Pará. 2008-2009**

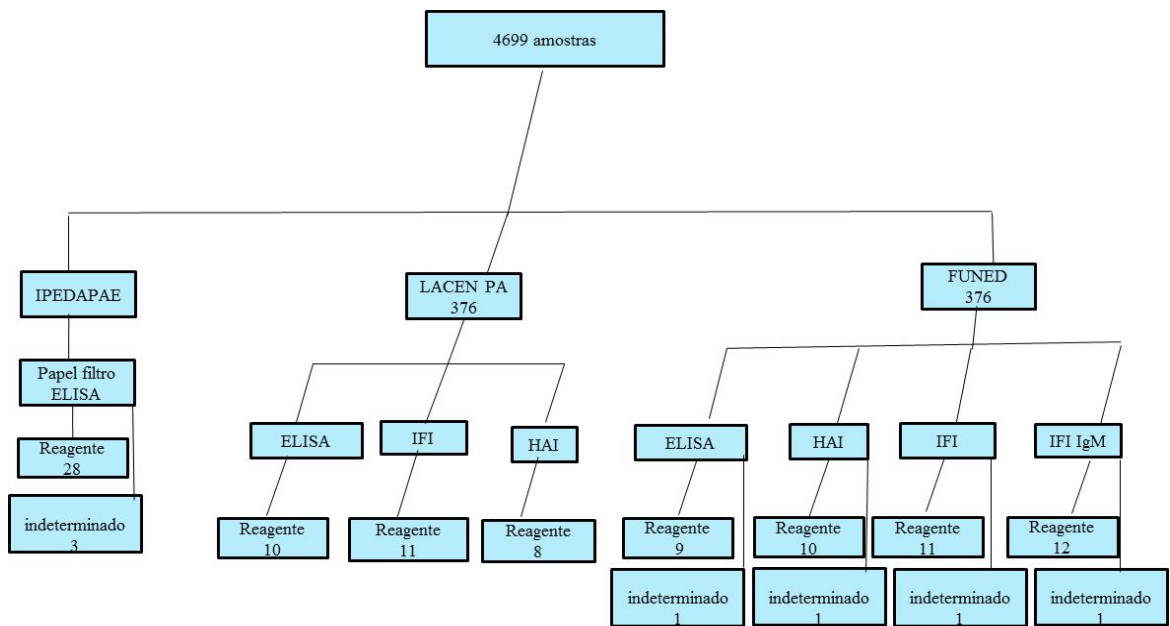
Localidades	População	População amostrada		Examinadas	Positivas	Prevalência	IC 95%
		N	%				
<b>Ajuai</b>	3033	2874	71,45	2167	8	3,67	(0.001711; 0.007545)
<b>Francilândia</b>	1651	1223	73,89	1220	3	2,45	(0.000634; 0.007789)
<b>Genipaúba</b>	320	399	75,63	242	0	0	-
<b>Panacauera</b>	637	573	89,95	573	1	1,74	(0.000091; 0.011236)
<b>São Sebastião</b>	572	497	86,89	497	0	0	-
<b>Total</b>	<b>6213</b>	<b>5566</b>	<b>75,63</b>	<b>4699</b>	<b>12</b>	<b>2,54</b>	<b>(0.001381; 0.004582)</b>

Na Tabela 10 abaixo se encontram os resultados das amostras de sangue coletadas de indivíduos que tiveram febre nos últimos 30 dias ou que tiveram contato com o triatomíneo (376/4699).

**Tabela 10. Positividade das amostras de sangue venoso em pessoas que declararam febre ou contato com triatomíneos. Abaetetuba-PA. 2008-2009.**

Localidade	Amostras sangue venoso	%	Amostras positivas	Positividade	IC 95%
<b>Ajuai</b>	130	34,57	8	6,15	(2,02;10,28)
<b>Francilândia</b>	17	4,52	3	17,64	(0.479;35,71)
<b>Genipaúba</b>	62	16,48	0	0	-
<b>Panacauera</b>	158	42,02	1	0,63	(-0.60;1,87)
<b>São Sebastião</b>	9	2,39	0	0	-
<b>Total</b>	<b>376</b>	<b>100</b>	<b>12</b>	<b>3,19</b>	<b>(1,41;4,97)</b>

Das 31 amostras reagentes na sorologia, 12 (0,25%) foram por dois métodos de princípios diferentes confirmando o diagnóstico de doença de Chagas, sendo que destas 6 (50%) amostras apresentaram IgM reagentes o que configura o diagnóstico de doença de Chagas aguda, todas na ilha de Ajuai. (Figura 11)



**Figura 11. Resultados das amostras por laboratório e métodos de diagnóstico. Abaetetuba-PA. 2008-2009**

Com relação à faixa etária dos positivos, 0,08% (4) foram em menores de 14 anos e 0,1% (5) nas faixas etárias somadas entre 35 e 54 anos. 7 (58,33%) foram do sexo masculino e 5 (41,66%) do sexo feminino. (Tabela 11)

**Tabela 11. Sorologia por idade, sexo, método de diagnóstico por laboratório, contato com triatomíneo e febre. Abaetetuba-PA. 2008-2009**

Localidade	Idade	Sexo	Febre	Contato Triatomíneos	PF IPEDAPAE	IFI LACEN	HAI LACEN	ELISA LACEN	IFI FUNED	HAI FUNED	ELISA FUNED	IFIIgM	Resultado
Alto Ajuai	3	M	S	N	+	1/160	R	R	NR	R	R	1/320	R
Baixo Ajuai	39	M	N	S	+	1/160	R	R	NR	R	R	1/80	R
Baixo Ajuai	63	F	S	N	+	1/40	R	R	NR	R	R	1/80	R
Baixo Ajuai	46	M	S	N	+	NR	NR	R	NR	R	R	1/160	R
Baixo Ajuai	21	M	N	S	+	1/160	R	R	NR	R	R	1/320	R
Baixo Ajuai	54	F	N	S	+	NR	R	R	NR	R	R	1/80	R
Baixo Ajuai	11	M	N	S	+	NR	R	R	NR	R	R	NR	R
Baixo Ajuai	5	F	S	N	+	NR	R	R	NR	R	R	NR	R
Francilândia	40	F	S	N	NR	1/40	R	R	1/160	NR	NR	NR	R
Francilândia	35	M	N	S	+	NR	NR	NR	1/40	R	NR	NR	R
Francilândia	5	M	S	N	+	1/80	NR	NR	NR	NR	NR	NR	R baixo título
Panacauera	99	F	N	N	+	NR	NR	NR	1/40	NR	NR	NR	R baixo título
Panacauera	7	F	N	S	NR	NR	NR	NR	1/10	NR	NR	NR	SU
Panacauera	64	F	N	S	NR	NR	NR	NR	1/10	NR	NR	NR	SU
Panacauera	12	M	N	S	NR	NR	NR	NR	1/40	NR	NR	NR	SU
Panacauera	5	M	N	S	NR	NR	NR	NR	1/10	NR	NR	NR	SU
Panacauera	40	F	S	N	NR	NR	NR	NR	1/10	NR	NR	NR	SU
Panacauera	9	F	N	S	NR	NR	NR	NR	1/40	NR	NR	NR	SU
Panacauera	25	M	S	N	NR	NR	NR	NR	1/40	NR	NR	NR	SU
Panacauera-Maúba	18	F	N	S	NR	NR	NR	NR	1/10	NR	NR	NR	SU
Genipaúba	24	F	N	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	R	NR	SU
Alto Ajuai	3	M	S	N	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	1/10	SU
Baixo Ajuai	2	M	S	N	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	1/10	SU
Baixo Ajuai	10	F	S	N	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	1/40	SU
Baixo Ajuai	43	F	N	N	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	1/20	SU
Baixo Ajuai	49	M	S	N	NR	NR	NR	R	NR	NR	NR	NR	SU
Baixo Ajuai	2	F	S	N	NR	NR	NR	NR	NR	R	NR	NR	SU
Baixo Ajuai	31	F	N	S	NR	1/80	NR	NR	NR	NR	NR	NR	SU
Baixo Ajuai	10	F	S	N	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	1/10	SU
Genipaúba	34	F	N	S	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	1/80	SU
Baixo Ajuai	31	F	N	S	NR	1/80	NR	NR	NR	NR	NR	NR	SU

IFI – Imunofluorescência indireta; ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; HAI – Hemaglutinação Indireta; PF – Papel Filtro; LACEN – Laboratório de Saúde Pública; IPED/APAE- Instituto de Prevenção e Diagnóstico da Associação de Pais e Mestres dos Excepcionais; FUNED-Fundação Ezequiel ;M- Masculino; F- Feminino; N- Negativo; S-Sim; NR – Não Reagente; R – Reagente ; SU - Suspeito

Considerando-se 5% de significância estatística, todos os testes e laboratórios apresentaram concordância perfeita entre seus resultados, conforme mostra a Tabela 12

**Tabela 12. Teste de concordância de Kappa. Abaetetuba-PA. 2008-2009**

Teste	Estatística Kappa	P-valor	Interpretação
1	kappa = 0.991796 , Z = 114.455	<0.0001	Concordância Perfeita
2	kappa = 0.998529 , Z = 93.6529	<0.0001	Concordância Perfeita
3	kappa = 0.999571 , Z = 37558.1	<0.0001	Concordância Perfeita
4	kappa = 0.999143 , Z = 37542	<0.0001	Concordância Perfeita
5	kappa = 0.997643 , Z = 61213.9	<0.0001	Concordância Perfeita

### 6.3. Inquérito entomológico

#### 6.3.1. Infestação em unidades domiciliares

As pesquisas entomológicas foram realizadas em 698 unidades domiciliares sendo que em nenhuma delas foi detectada a presença de ovos, ninfas ou adultos. (Tabela 13)

**Tabela 13. Número de casas pesquisadas por área por encontro de triatomíneos por estádio. Abaetetuba - PA. 2008/2009**

Bairro/estádio	Ajuái	Francilândia	Genipaúba	Panacauera	São Sebastião
<b>Ovos</b>	0/349	0/121	0/31	0/95	0/102
<b>Ninfas</b>	0/349	0/121	0/31	0/95	0/102
<b>Adultos</b>	0/349	0/121	0/31	0/95	0/102

### 6.3.2. Níveis de infestação e infecção com *T. cruzi* em ecótopos silvestres

Em todas as áreas do estudo, os triatomíneos capturados e analisados foram encontrados em ecótopos silvestres como palmeiras da espécie *Maximiliana maripa* (Aubl.) Drude, nome vulgar Inajá. Foram colocadas em média 50 armadilhas Noireau. Foram dissecadas 13 palmeiras que resultaram todas positivas e foram coletados 250 espécimes de triatomíneos. A espécie predominante foi *Rhodnius pictipes* em 85,20% (n=213) e 37 (14,80%) da espécie *Panstrongylus geniculatus*. 24 (11,26%) indivíduos da espécie *R. pictipes* estavam infectados. O número de triatomíneos coletados por palmeiras por área encontrou-se: Ajuai 12,83; Genipaúba 19; Francilândia 32; São Sebastião 13 e Panacauera 22,5. (Tabela 14)

Comparando a taxa de infectividade do *R. pictipes* em áreas rurais e ilhas com a área urbana, 11/107 (11,28%) e 13/106 (12,26%), respectivamente, verificou-se que a diferença não foi significativa ( $\alpha=0,0098$ ;  $p=0,5030$ ). (Tabela 14)

**Tabela 14. Espécies de triatomíneos capturadas, e infectadas por palmeira por localidade. Abaetetuba-PA. 2008-2009**

Tipo	Localidade	Palmeiras dissecadas N	Espécies de triatomíneos		Positivas	
			<i>Panstrongylus geniculatus</i> N	<i>Rhodnius pictipes</i> N	N	(%)
Ilha	Ajuai	6	6	71	10	14,08
Urbano	Francilândia	3	1	95	13	13,68
Rural	Genipaúba	1	0	19	0	0
Ilha	Panacauera	2	28	17	1	5,88
Urbano	São Sebastião	1	2	11	0	0

### 6.3.3. Fonte alimentar dos triatomíneos

De um total de 214 espécimes de triatomíneos analisou-se a fonte alimentar sendo que 64,01% dos vetores se alimentaram em uma mesma fonte, ave 89 (41,58%), roedor 48 (22,42%), gambá 1 (0,47%); 38 (17,75 %) reagiram para mais de uma fonte alimentar e em 20 (9,34%) não havia material suficiente para análise (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**). Os resultados demonstraram uma elevada ornitofilia do *R. pictipes*. Observou-se a positividade em exemplares que ingeriram sangue de ave e lagarto, os quais são refratários para infecção por *T. cruzi*. Somente foi possível avaliar a taxa de infectividade e a fonte alimentar de um espécime de *P. geniculatus* devido a insuficiência de conteúdo alimentar (Figura 12).

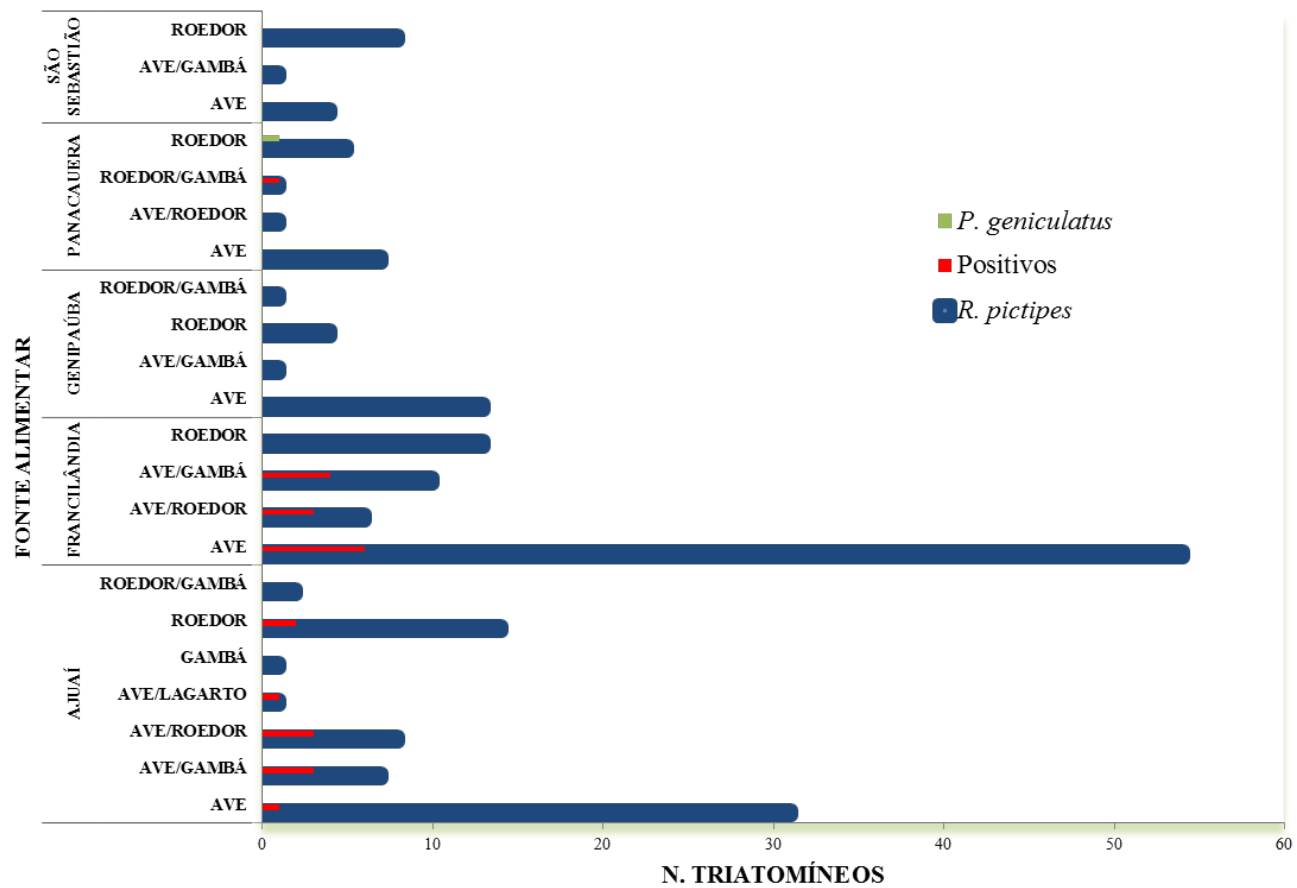


Figura 12. Distribuição das espécies de triatomíneos quanto à fonte alimentar e infectividade por área. Abaetetuba-PA. 2008-2009

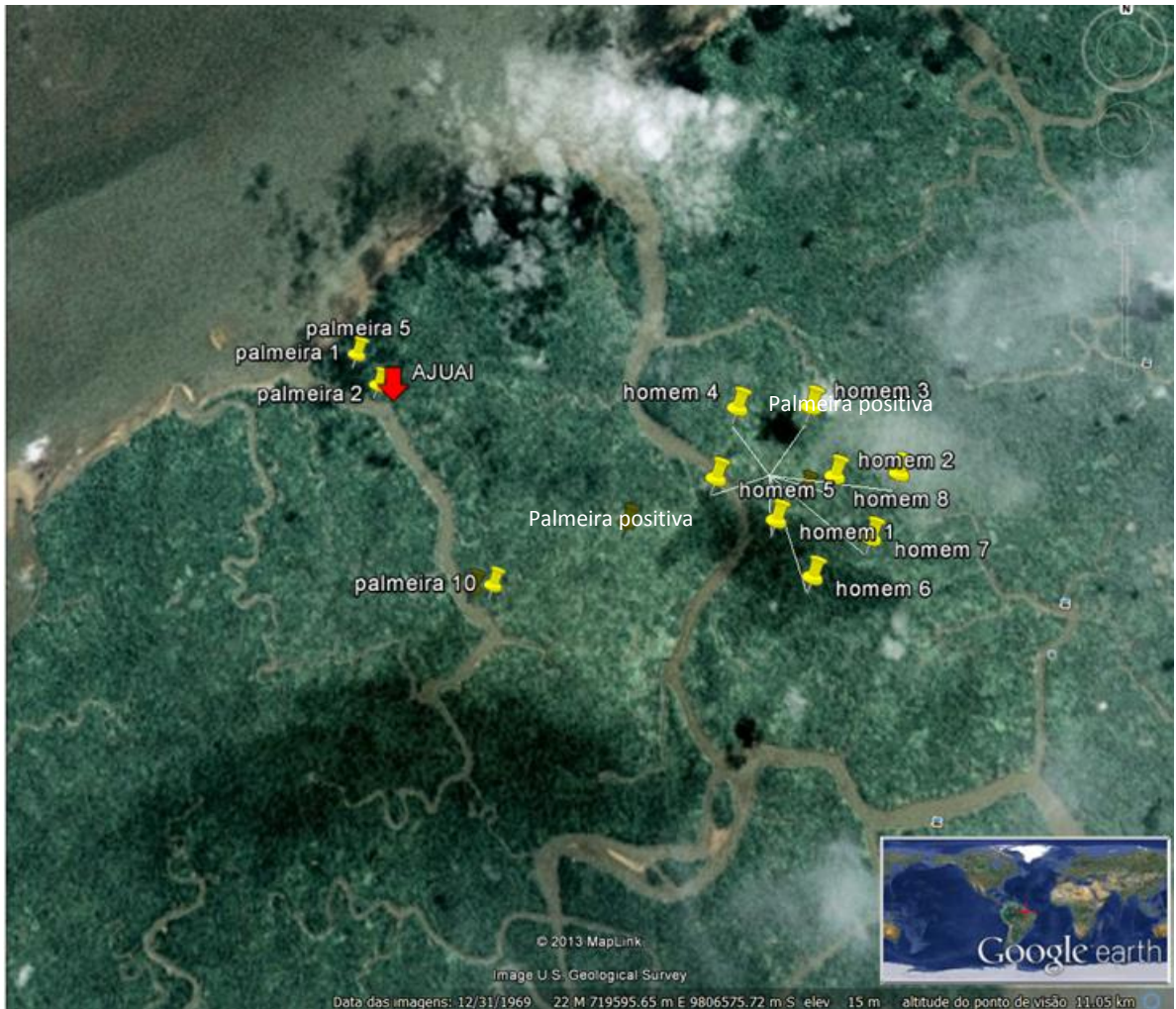


6.4. Grau de antropização e a relação espacial entre os casos humanos e ecótopos silvestres

A Tabela 15 mostra as áreas segundo o grau de antropização da área mais antropizada e menor risco de transmissão (São Sebastião) para aquela com menor grau de antropização e maior risco de transmissão de DCA (Ajuai). Nas Figura 13, Figura 14 e Figura 15 observa-se a proximidade entre as palmeiras infectadas e os casos humanos nas ilhas de Ajuai, Panacauera e bairro urbano de Francilândia, respectivamente.

**Tabela 15. Grau de antropização por área. Abaetetuba-PA – 2008-2009**

LOCALIDADE	CARACTERÍSTICAS			
	N de espécimes arbóreas identificadas	Espécimes de açazeiro		Score de risco e Grau antropização
		N	(%)	
São Sebastião	0	0	0	1
Francilândia	0	0	0	2
Panacauera	458	348	75,98	3
Genipaúba	31	18	58,06	4
Ajuai	181	99	54,69	5



**Figura 13. Casos Humanos e palmeiras infestadas na ilha de Ajuai. Abaetetuba-PA. 2008-2009**



**Figura 14. Casos humanos e palmeiras infestadas em Francilândia. Abaetetuba-PA. 2008-2009**



**Figura 15. Casos humanos e palmeiras infestadas em Panacauera. Abaetetuba-PA.2008-2009**

### 6.3. Modelagem do risco ecoepidemiológico da doença de Chagas

#### 6.3.1. Análise Univariada - Inquérito

A Tabela 16 apresenta a associação individual de cada variável através da medida de razão de chances (RC) e seu intervalo com 95% de confiança (IC95%), bem como a significância de cada variável para o modelo através da medida do *p*-valor; variáveis que apresentam  $p < 0.30$  foram consideradas candidatas para o modelo multivariado.

**Tabela 16. Razão de Chances e nível de significância, no modelo de regressão logística univariado. Abaetetuba-PA. 2008-2009.**

Variáveis Explicativas	RC	IC95%	<i>p</i> -valor
<b>Clínicas e Epidemiológicas</b>			
Febre	38.11	(21.24;68.40)	<0.001 <sup>1</sup>
Idade>19	2.08	(1.12 ; 3.85)	0.23 <sup>1</sup>
Sexo masculino	1.45	(0.81;2.62)	0.519
Infecção meio rural <sup>2</sup>	1.74	(0.89;3.39)	0.406
<b>Entomológicas</b>			
Contato com o triatomíneo	12.97	(7.19;23.37)	<0.001 <sup>1</sup>
Palmeiras infestadas	3.23	(1.14 ; 9.21)	0.261 <sup>1</sup>
<b>Ambientais e climáticas</b>			
Velocidade do vento	2.14	(1.14;3.18)	0.0552 <sup>1</sup>
Temperatura	1.36	(1.05;1.77)	0.234 <sup>1</sup>
Umidade	-0.03	(-0.01;-0.08)	0.522
Precipitação	-0.08	(-0.07;-0.14)	0.141 <sup>1</sup>
Área com plantio de Açaí	1.74	(0.89;3.39)	0.406
Ocorrência de Antropização	-0.24	(-0.04;-0.39)	0.239 <sup>1</sup>

<sup>1</sup>variáveis selecionadas como possíveis candidatas ao modelo multivariado

<sup>2</sup>Rural- ilhas e estrada

Analisando a associação individual das variáveis explicativas com a doença de Chagas, da Tabela 16 tem-se que:

- A chance de ocorrer doença de Chagas em indivíduos que apresentaram febre é 38 vezes maior do que a ocorrência de doença Chagas em indivíduos sem febre;
- Indivíduos que tiveram contato com o triatomíneo têm aproximadamente 13 vezes mais chances de ter a doença;
- Pessoas que moram em áreas com palmeiras infestadas apresentam 3 vezes mais risco do que as que moram em áreas que não apresentavam palmeiras infectadas;
- O incremento de uma unidade de medida na velocidade do vento impacta no dobro de chances de um indivíduo ter a doença de Chagas;
- Indivíduos acima de 19 anos tem o dobro de chances de ter a doença em relação indivíduos com idade menor ou igual a 19 anos;
- Residir em áreas com plantio de açaí tem 74% de chance de desenvolver a doença do que as pessoas que não residem nessas áreas;
- Residir em áreas rurais confere 74% de chance de desenvolver a doença do que as pessoas que não residem em área urbana;
- O Sexo masculino tem 45% de chance de desenvolver a doença;
- O acréscimo de 1°C na temperatura implica no aumento de 36% na chance de um indivíduo ter a doença;
- O acréscimo de 1 unidade percentual na umidade do ar faz com que a chance de ocorrer a doença de Chagas diminua em 3%;
- O acréscimo de 1 mm de água na precipitação do ar faz com que a chance de ocorrer a doença de Chagas diminua em 8%;
- A ocorrência de antropização na localização das casas diminui a chance da doença em 24%.

As variáveis incluídas no modelo multivariado foram: ocorrência de febre, contato com o triatomíneo, palmeiras infestadas, velocidade do vento, idade > 19, temperatura, umidade, precipitação e a ocorrência de antropização na área.

### 6.3.2. Análise Multivariada - Inquérito

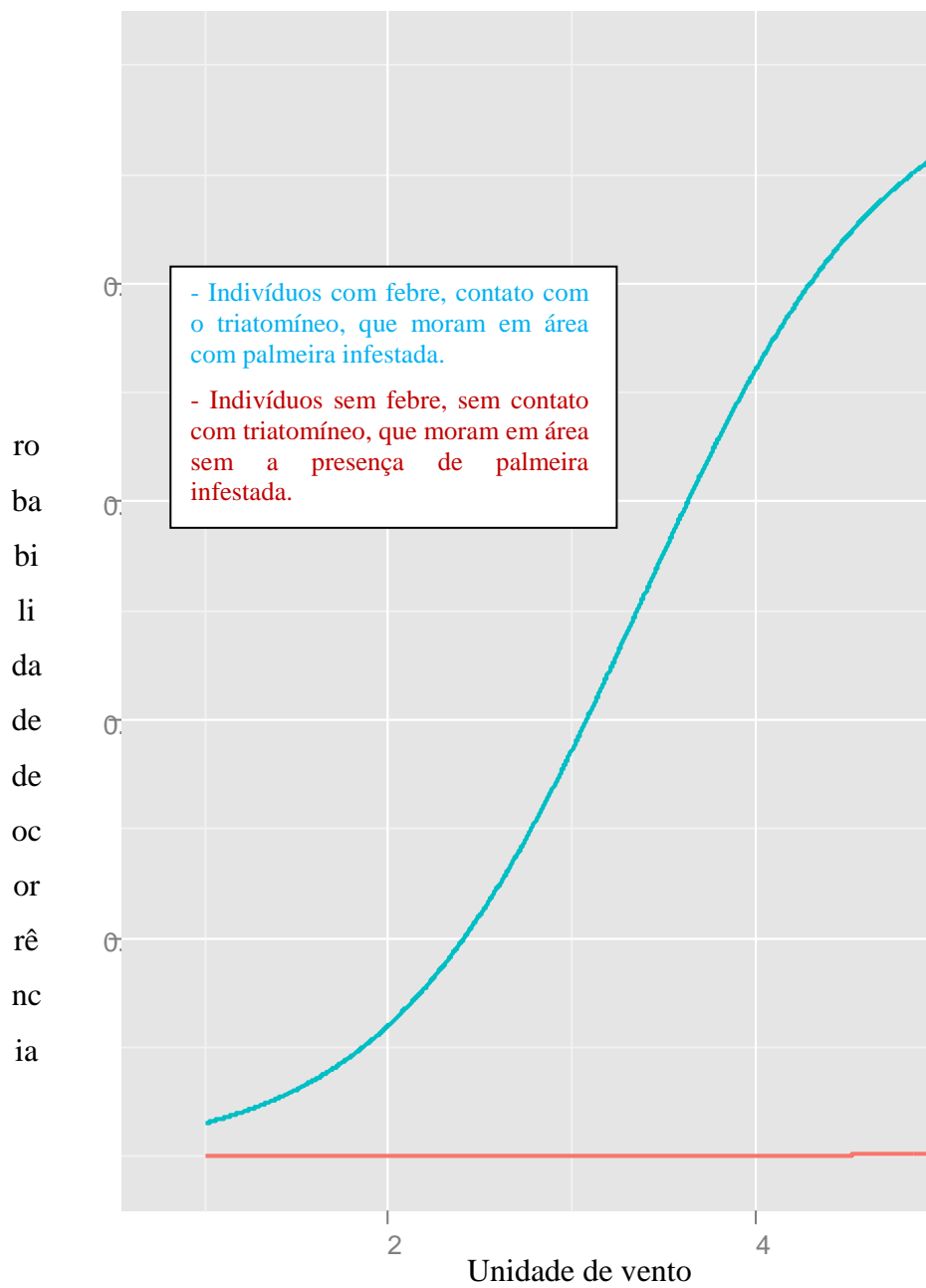
A Tabela 17 mostra o melhor modelo capaz de prever a presença/ausência da doença de Chagas identificando como fatores associados ao risco: apresentar febre, contato com o triatomíneo, morar em áreas onde a velocidade do vento tem aumentos e ter palmeiras infectadas.

**Tabela 17. Modelo de regressão logística multivariada para doença de Chagas. Abaetetuba-PA. 2008-2009.**

Variáveis Explicativas	RC	IC95%	P-valor
Febre	28.7	(15.16;54.21)	<0.0001
Contato com o triatomíneo	14.5	(7.29;28.68)	<0.0001
Palmeiras infestadas	10.3	(3.52;30.06)	0.02945
Velocidade do vento	4.36	(2.59;7.37)	0.00489

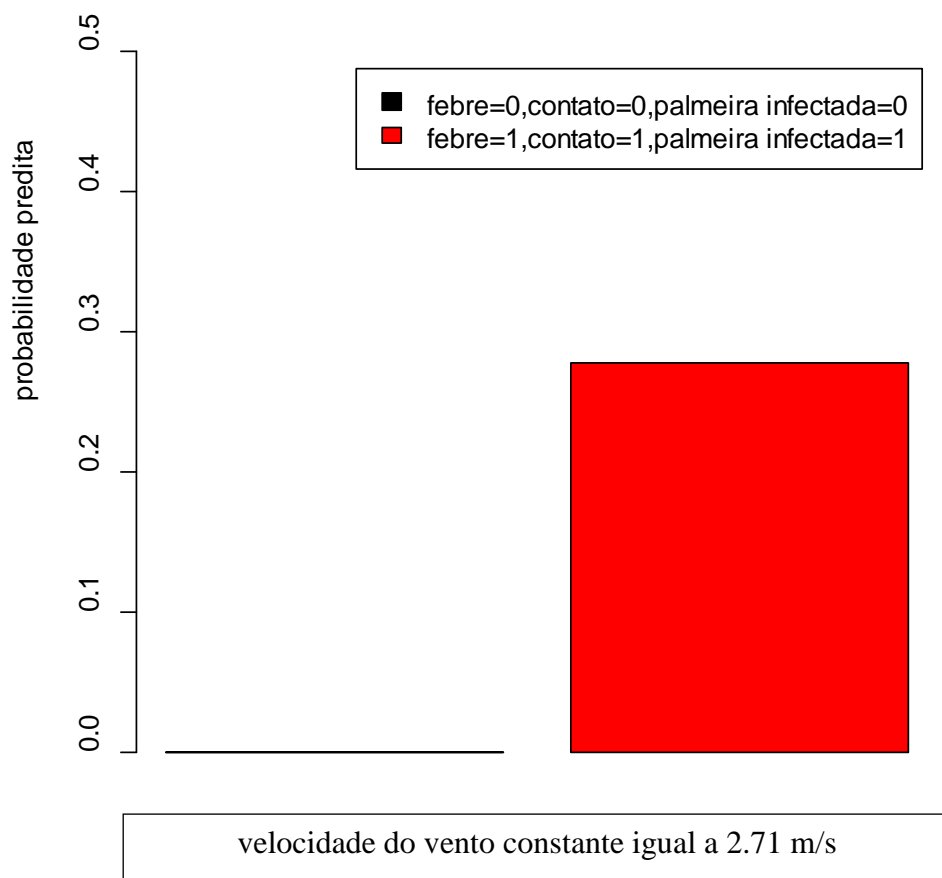
A Figura 16 mostra a probabilidade predita de ocorrência da doença variando a velocidade do vento e mantendo constantes as outras 3 variáveis, segundo o modelo de regressão logística multivariado. Nota-se que quando a velocidade do vento aumenta, a probabilidade de ocorrência da doença aumenta exponencialmente: A chance de um indivíduo contrair a doença quando ele apresenta sintomas de febre, tem contato com o vetor e mora perto de palmeiras infestadas aumenta em aproximadamente 4 vezes com o aumento de uma unidade na velocidade do vento.

A Figura 17 mostra a probabilidade predita do modelo considerando a velocidade do vento constante (média=2.71). Observa-se que a probabilidade de ocorrência da doença de um indivíduo com febre, que tem contato com o triatomíneo, residente em áreas com palmeira infestada, sob a exposição de velocidade do vento médio é de aproximadamente 0.29. Por outro lado, considerando o vento médio, mas sem a presença do efeito das demais variáveis, a probabilidade de um indivíduo se infectar é de apenas 0.00009.



**Figura 16. Probabilidade de ocorrência da DCA pelo modelo multivariado considerando variável a velocidade do vento. Abaetetuba-PA. 2008-2009**





**Figura 17. Probabilidade predita pelo modelo de regressão logística multivariado considerando a velocidade do vento constante na média igual a 2.71 m/s. Abaetetuba-PA. 2008-2009**

## 7. Discussão

A Amazônia até recentemente não fazia parte do mapa nosológico da doença de Chagas no Brasil, apesar dos relatos de ocorrência de casos agudos desde 1969. A prevalência registrada na região, durante o Inquérito Sorológico Nacional de doença de Chagas realizado entre os anos de 1975 e 1980 (CAMARGO et al., 1984) foi atribuída a reações cruzadas com outras doenças, amostras inadequadas e imigrantes infectados (crônicos) provenientes de áreas endêmicas.

No presente trabalho demonstramos que, embora estas variáveis sejam importantes; fatores geográficos, ambientais, culturais e ecológicos são de maior relevância e sua avaliação deverá ser parte integrante das políticas públicas visando a implantação de programas de prevenção.

O ambiente amazônico é complexo, podendo ser comparado à própria complexidade da transmissão da doença de Chagas. Assim como há diferentes ecossistemas, nesta região, diversas observações sugerem que a doença pode se comportar distintamente de acordo com o ambiente em que estiver inserida e influenciada pelo impacto causado pelas atividades humanas. O reconhecimento de que o território amazônico é complexo, multifacetado e que há diversidade regional, remete à necessidade de compreendê-lo melhor tal como os aspectos ecológicos e epidemiológicos da transmissão da doença na região.

Este estudo foi desenvolvido neste cenário, em localidades no município de Abaetetuba, que apresenta diversidade ecológica e perfil epidemiológico distintos. Tal fato nos permitiu analisar a doença em seu estado agudo, e confrontar este novo conhecimento com o existente sobre a doença crônica na região. A maior experiência com a forma crônica da doença definiu um conceito de risco dominante para o país, pautado segundo a transmissão dependente da distribuição da domiciliação triatomínica e da expansão dos espaços abertos uma vez que de acordo com FORATTINI, 1980, a transmissão não era possível em ambientes umbrosos como os da floresta amazônica, o que não levava em conta o risco da infecção pela via oral.

Os dados epidemiológicos necessários para avaliar a magnitude da DCA como problema de saúde pública na região amazônica são escassos e são obtidos por meio, sobretudo, de estudos realizados por centros de pesquisa em áreas de coletores de fibra de piaçava (*Leopoldina piassaba*), no Estado do Amazonas (COURA et. al., 1994; 1999; 2002) e

daqueles realizados durante a ocorrência de surtos orais principalmente no Estado do Pará (VALENTE et. al., 1999; 2000; 2005; VALENTE, 2008; 2011).

A partir de 2005, com a formalização da vigilância da doença no Estado do Pará, foi possível estabelecer uma rede de notificação, apoiada na vigilância da malária, em conjunto com as secretarias municipais de saúde, agentes comunitários de saúde, agentes de endemias e as ações da vigilância sanitária junto aos produtores e comerciantes de açaí. Para dar subsídio a vigilância rotineira, foi elaborado “O Protocolo de Ações de Campo”, no final de 2007, no qual foram selecionadas áreas de estudo com o objetivo de definir critérios para classificar áreas de risco para transmissão da doença de DCA na região Amazônica. Este protocolo foi desenvolvido com a colaboração de universidades, instituições de pesquisa e instituições do serviço público.

#### 7.1. Dinâmica local da DCA segundo o sistema de vigilância

A sistematização e a confiabilidade no registro de casos permitiu conhecer e avaliar a dinâmica da doença com uma série histórica que tem delineado um padrão na ocorrência da doença, o que não era possível analisando-se somente os relatos científicos publicados em artigos da área ou mesmo na investigação de surtos com resultados pontuais e nem sempre comparáveis entre si. Além disso, os resultados da vigilância forneceram os dados necessários para avaliar o risco de ocorrer a doença.

O aprimoramento do sistema de vigilância acarretou, como consequência esperada, o aumento significativo na detecção e notificação de casos agudos principalmente na região nordeste do Estado, foco desta discussão. Este incremento no número de casos de DCA, principalmente na forma oral, coincidiu com a iniciativa governamental de fomento ao agronegócio com recursos do Fundo Constitucional de Financiamento do Norte (FNO) e do Programa Nacional de Agricultura Familiar (PRONAF) e que incentivou pequenos e médios agricultores ao plantio de novos açaiçais (HOMMA et al., 2006).

Esta modalidade de transmissão que se distingue do padrão histórico do país, tem sido frequente na região norte (COURA et al., 2002; PINTO et. al., 1999; 2001; 2004; 2008; 2009; VALENTE et al., 2001; 2002; 2005; 2009; AGUILAR et al., 2007). No estado do Pará, entre os anos 1968 a 2007, o Instituto Evandro Chagas registrou 322 casos, ou seja, 8,7 casos por ano (VALENTE et. al., 2008), baseado no atendimento de casos que solicitavam o serviço e

no registro de casos em surtos. O sistema de informação apoiado pela sistematização da vigilância conduzida pelo Programa Estadual de controle da DC entre o ano 2005 e o ano 2012, registrou em média 134 casos de DCA ao ano, ou seja, houve um incremento de 1540% com a institucionalização da vigilância.

Estes resultados demonstram a importância da instalação do serviço de vigilância e sugerem que a doença, apesar de presente, não era visualizada e este distanciamento seguramente teve consequências graves para os doentes que não puderam ser tratados.

No Pará o município de Abaetetuba, no período de 2005 a 2012, destacou-se como importante área de risco para transmissão da doença, sendo responsável por 19,61% dos casos notificados no Estado. A incidência variou ao longo do período sendo que o ano de 2005 apresentou a menor incidência e o ano de 2012 a maior. Provavelmente essa variabilidade está relacionada à sensibilização da vigilância ao longo desses sete anos.

Como não há dados de tendência ou incidência anual para a região (GUHL & SCHOFIELD, 2004) ou considerou-se zero (MONCAYO & SILVEIRA, 2009) não foi possível correlacionar a frequência da doença aguda em Abaetetuba com outras áreas Amazônicas.

A literatura descreve que o risco da doença de Chagas de se tornar endêmica na Região Amazônica está relacionado fundamentalmente à intensa migração de pessoas tais como os migrantes das zonas rurais, antigos agricultores que chegaram à cidade para atividades laborais (COURA, 2006; ELLIS & WILCOX, 2009; JUNQUEIRA et al., 2005; BRICEÑO-LEÓN, 2009), carregando parasitas e vetores já adaptados ou pela adaptação de vetores e animais silvestres infectados ao domicílio humano, em consequência do desflorestamento incontrolado na região (OPAS/OMS, 2011). Relata-se ainda que para zonas urbanas as formas de transmissão mais frequentes seriam por transfusão e congênicas (RASSI Jr. & MARIN-NETO, 2010).

Ainda que neste estudo, a procedência dos habitantes e o tempo de moradia no Estado, não ser objeto de avaliação, a notificação de casos agudos de 2005 a 2012, a regularidade de ocorrência e a distribuição em 56 municípios apontam para uma situação endêmica, sugerida em 1995 por FRAIHA et al., e considerada como emergente por COURA (1999; 2007). Soma-se a isto que apesar do conceito de transmissão oral da doença de Chagas estar atribuído ao ambiente enzoótico, onde mamíferos reservatórios de *Trypanosoma. cruzi* e triatomíneos convivem naturalmente, mantendo o ciclo do parasita, neste estudo os resultados

demonstraram que a maioria dos casos ocorreu na área urbana normalmente sem condições para manter o ciclo biológico do parasita.

Em Abaetetuba, assim como em outras áreas do Estado, a maioria dos surtos está associada ao açaí (VALENTE et al., 1997, 1998, 1999, 2000, 2005, 2008, 2009, MILES et al., 2009, MILES, 2010; NÓBREGA et al., 2009; PINTO A et al., 1999; PANTOJA et al., 2000). Esta relação assemelha-se ao importante episódio que envolveu o suco de cana de açúcar no surto de DCA em Santa Catarina (STEINDEL et al., 2008) e na Vila de Mojuí dos Campos, Santarém-PA, onde a bacaba foi o alimento contaminado. (CRESPO et al., 2007).

Este estudo apontou uma letalidade de 2,17%, sendo que todos os óbitos tiveram como forma de transmissão a via oral, o que corrobora com a letalidade de 2.13% estimada para a Região Amazônica, decorrente de surtos orais (VALENTE, 2011).

Ao analisar a distribuição temporal, observamos uma sazonalidade bem definida, com aumento de casos a partir dos meses de junho a dezembro, sendo que a maior incidência ocorreu no mês de outubro. Estas observações reforçam aquelas apresentadas por VALENTE (2008) e PINTO (2008) no que se refere ao Estado do Pará.

Todavia, realizando uma análise mais acurada, com o modelo Quasipoisson, considerando as peculiaridades dos locais prováveis de infecção (urbano, rural e ilhas), observamos que as diferenças entre os semestres são significativas apenas para a área urbana, não havendo diferença na distribuição dos casos, por semestres, nos ambientes rurais e ilhas. Já quando se exclui o mês de outubro não se verificou nenhuma diferença entre os semestres. Esta sazonalidade coincide com a safra do açaí que alcança a sua máxima produção no período de junho a dezembro (ROGEZ, 2000).

## 7.2. Componente econômico na epidemiologia local da DCA

O açaí é a base da dieta cotidiana ao longo do ano e a principal fonte de renda das famílias que vivem nas áreas de várzea. O aumento de casos no período da safra sugere uma relação com aumento do consumo, pois há maior disponibilidade do fruto com preço mais acessível.

Sendo um hábito gastronômico cultural é consumido pela população em geral, por todas as faixas etárias e sem distinção de gênero, expondo indistintamente todas as pessoas ao

risco de contrair DCA, conforme demonstrado neste estudo na distribuição dos casos por faixa etária e sexo neste estudo. Os menores de 5 anos representaram o 3,8% dos casos do período sugerindo transmissão ativa e a possibilidade de transmissão vertical, porém não foram realizadas investigações neste sentido.

A produção do fruto é sazonal, porém, a partir dos anos 90, com o crescimento do mercado e o aumento da demanda, os extrativistas, que antes se dedicavam à coleta do fruto para sua subsistência, comercializando um pequeno excedente, passaram a se concentrar na coleta e venda da produção. Em virtude da valorização da polpa expandiram as áreas de cultivo (SAGRI, 2012), eliminando as espécies nativas levando a um sistema de monocultura, propiciando uma redução da biodiversidade do ecossistema de várzea. (HOMMA et al., 2006).

O valor do produto varia de acordo com a safra e entressafra. Segundo o Departamento Intersindical de Estatística e Estudos Socioeconômicos (DIEESE) no mês de outubro o preço tem um ligeiro recuo em relação aos demais meses da safra (JORNAL GLOBO, 2012). O aumento na oferta favorece o acesso ao produto e ao consumo e com isso a probabilidade de mais indivíduos contraírem a infecção pelo alimento contaminado.

Para o período de 2009-2012 comparativamente, os meses da entressafra, com preço do produto em alta, foram os que registram um número menor de casos de DCA; em contrapartida, os meses de safra, foram os que apresentaram maior número de casos. Segundo informação da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a curva de variação de preços no período de 2009 a 2012, é, grosso modo, o espelho da curva de sazonalidade da doença.

Outro dado importante refere-se ao ano de 2009 que teve a maior incidência de casos agudos e foi aquele em que a área plantada da palmeira aumentou em 981,64% em relação a 2005 (Sagri, 2012). Já o preço do açaí em 2012 nos meses de agosto, setembro e outubro teve o valor mais baixo sendo também os meses em que foram notificados 76% do total de casos do ano dos quais 87,5% corresponderam a área urbana.

Estes dados do mercado do agronegócio do açaí reforçam a possibilidade do seu envolvimento na dinâmica da transmissão oral de DCA em Abaetetuba e corroboram com a forte associação com o risco de infecção encontrada neste estudo para aqueles que ingeriram o suco, sugerindo que os frutos podem ser contaminados com *T. cruzi* no local de colheita (rural e ilhas) e quando comercializados, na forma de suco, originar os casos agudos na área urbana.

A possibilidade da sobrevivência do *T. cruzi*, em polpa de açaí, mesmo congelada, foi comprovada por PASSOS et al., 2012. Os resultados demonstraram que a sobrevivência e a

virulência do parasita foram preservadas após 144 horas na polpa mantida a 4<sup>o</sup> C, após 26 horas de congelamento (-20<sup>o</sup> C) e também após tratamento térmico combinado, Os autores concluíram que somente a pasteurização consegue eliminar o parasita (LABELLO et al., 2012; LABELLO BARBOSA, R., 2010)

Portanto ao contrário do que se divulga no site do Instituto Evandro Chagas que o suco de açaí congelado em casa a -20<sup>o</sup> C pelo menos por 8 horas pode ser consumido no dia seguinte, pois elimina o protozoário, está em desacordo com os estudos que descartam os processos de refrigeração e congelamento convencionais como métodos de prevenção da transmissão oral da doença.

### 7.3. Aspectos clínicos

Outra forte associação ao risco de apresentar DCA demonstrada neste estudo referiu-se a sintomatologia dos casos agudos em especial febre e edema. Segundo YOSHIDA (2008) e ALARCÓN DE NOYA et al., (2010), em surtos de DCA, em que a via de transmissão se deu por meio de alimentos contaminados, diferenças aparentes na clínica da doença por transmissão vetorial foram observadas, e os sintomas foram mais severos com a morbimortalidade mais elevada, provavelmente relacionada à maior carga parasitária e ao mecanismo eficiente de infecção através da mucosa do estômago.

A doença de Chagas na Amazônia foi diagnosticada, sobretudo, na fase aguda. Apesar do número crescente de casos, há poucos relatos sobre a evolução clínica dos casos agudos e dos casos crônicos, assim com a prevalência da doença na Região (FRAIHA et al., 1995; VALENTE V. et al., 2002; DIAS et al., 2002; XAVIER et al., 2006; BARBOSA-FERREIRA et al., 2010). TEIXEIRA et al., (2001) consideram que para cada caso agudo detectado podem ser estimados de 20 a 100 outros casos que não foram notificados, o que potencializa a gravidade da doença na Amazônia.

Os dados encontrados no inquérito do presente trabalho e os dados registrados pela vigilância epidemiológica da DCA do Pará são, ainda, validados pelas observações clínicas referentes a presença de edema e febre nos pacientes, relatadas por vários autores, quando da investigação de surtos pela ingestão de alimento contaminado com *T. cruzi* (MILES, 2010;

RODRIGUES et al.,1988; VALENTE et al.,1997; SOUZA et al., 1988; CRESCENTE et al., 1992; PINTO et al.,2009; PANTOJA et al., 2000; BORBOREMA et al., 2005).

Diante da impossibilidade logística de cobertura geográfica completa, os sistemas de vigilância dependem de uma combinação de duas estratégias: (i) detecção de casos febris, e (ii) a identificação de áreas de risco (MS, 2005). A primeira estratégia limita-se pela baixa sensibilidade do diagnóstico clínico, pois a detecção do *T. cruzi* em lâminas de sangue realizadas para o diagnóstico da malária depende dos níveis de parasitemia (COURA, 2007; PRATA, 2001), pelo desconhecimento da própria doença por profissionais da área da saúde e pelos esforços e recursos que devem ser despendidos para a capacitação desses profissionais.

A despeito disso, a febre tem sido um sintoma/sinal importante para o diagnóstico clínico da DCA e para o estabelecimento de uma vigilância de natureza pró-ativo por meio do diagnóstico parasitológico que é exercido de forma regular e extensiva pelo programa de malária. A integração das duas vigilâncias possibilitou a identificação precoce de casos pela identificação do *T. cruzi* nos exames hemoscópicos dos suspeitos de malária, sendo que em Abaetetuba a porta de entrada da maioria dos casos foi pelo setor de endemias da Secretaria Municipal de Saúde.

Este modelo de vigilância, baseado na detecção de casos agudos, distinto da área não Amazônica, pautada em ações sobre o vetor, se enquadrou perfeitamente na estratégia do programa de saúde da família, que objetiva identificar os problemas de saúde prevalentes e situações de risco aos quais a população está exposta detectando indivíduos e famílias expostos a esse risco (BRASIL, 1997). Esta estratégia condiz com a política estruturante dos sistemas municipais de saúde do Sistema Único de Saúde (SUS).

Da mesma forma, tal fato concretiza e avaliza o que foi preconizado pelo consenso brasileiro da doença de Chagas (MS, 2005) no que diz respeito à adoção de atividades específicas para a vigilância da DC na Amazônia Legal, onde ficou explícito a pesquisa do *T. cruzi* em lâminas de gota espessa em pacientes febris.

A segunda estratégia proposta pelo MS, exige uma clara compreensão do meio ambiente e as circunstâncias que indicam um maior risco de transmissão de doença, limitando-se esta estratégia, no caso do Pará, pela complexidade do ambiente, a vasta escala da região, a grande variedade de diferenças intra-regionais, as distâncias entre as sedes municipais e os ambientes onde que ocorrem os casos (rurais e ilhas), além dos recursos e logística necessária para essa locomoção.



#### 7.4. Aspectos ecológicos, climáticos, ambientais e entomológicos

Adotando o indicado pelo pré-citado consenso, além das análises dos dados secundários da vigilância, este estudo identificou e avaliou, por meio de inquéritos, os fatores de risco para a infecção por *T. cruzi* em grupos humanos residentes em área urbana, rural e ilhas do município de Abaetetuba, onde na ilha de Ajuai ocorreu a maior prevalência por mil habitantes, seguida por Francilândia (área urbana) e por Panacauera (ilha).

Os valores de prevalência obtidos para Abaetetuba foram significativamente mais elevados do que os registrados no inquérito de 2001-2008 (OSTERMAYER et al., 2011) onde a prevalência para o Estado do Pará foi de zero. Esta diferença pode se atribuída ao plano amostral e aos objetivos dos dois estudos. O inquérito nacional tinha como meta avaliar o impacto das ações sistemáticas que foram realizadas, no país, para o controle de vetor, verificando a prevalência em uma população amostral de até 5 anos de idade, enquanto no presente estudo a amostra considerou a população em geral. Comparado ao inquérito nacional de 1975-1980 (SILVEIRA et al., 2011; SILVEIRA & PASSOS, 1986), os resultados desta pesquisa se aproximam dos obtidos para os municípios amazônicos.

Das 12 amostras reagentes, apenas uma não foi positiva no papel de filtro, demonstrando ser um método válido para identificar áreas de risco para transmissão da DC. Foram encontradas evidências de casos de DCA, conforme os resultados da IgM, (SESPA, 2009) em residentes da ilha de Ajuai, onde não havia triatomíneos domiciliados assemelhando-se aos resultados observados em inquérito realizado no Estado do Amazonas por MAGALHÃES et al. (2011), porém pelo método Western Blot

Em grande parte das investigações ligadas aos surtos agudos da doença na Amazônia brasileira se reportam evidências do envolvimento de triatomíneos para a transmissão do *T. cruzi*, principalmente das espécies: *R. pictipes*, *R. robustus*, porém não foram encontrados indícios de colonização de vetores. Mesmo os triatomíneos das espécies *P. geniculatus* e *T. maculata* (associados a porcos domésticos e aves respectivamente), que foram encontrados muito próximos às residências, a domiciliação não foi confirmada (VALENTE et al., 1998; LUITGARDS-MOURA et al., 2005; ABAD-FRANCH & MONTEIRO, 2007). Porém, existe sempre a possibilidade destes vetores se domiciliarem e que este aspecto na transmissão oral é muito importante porque independe das características biológicas do inseto, como por exemplo o reflexo gastrocólico presente após o repasto do vetor.

Em Abaetetuba foi demonstrada a não domiciliação de triatomíneos nas unidades domiciliares pesquisadas, apesar dos relatos, por parte dos moradores, de encontros habituais de triatomíneos nos domicílios, normalmente alados e famintos como também observado por NAIFF et al., (1998) na cidade de Manaus.

Com respeito ao vetor, as investigações sobre o envolvimento de espécies silvestres da região Amazônica são escassas, na maioria dos casos referem-se aos hábitos alimentares (RODRIGUES & MELO, 1942), e à observação da taxa de infecção natural por tripanosomas (ALMEIDA, 1971; LAINSON et al., 1979; MASCARENHAS, 1986; ARAGÃO, 1983).

Neste estudo foram empregadas armadilhas de Shannon com atração luminosa, armadilhas tipo CDC com atração luminosa e combinada com atrativo animal (pintinhos e camundongos) no intradomicílio, peridomicílio e interior da mata. Somente na ilha de Panacauera um espécime foi atraído, porém completamente faminto, sem condições de análise de fonte alimentar ou infectividade.

O contato do homem com esses vetores tem se dado fora ou no interior do domicílio quando estes insetos são expulsos do seu habitat natural por algum fator externo (produtos químicos, fogo) ou devido à escassez de fonte alimentar nos ecótopos. Eles invadem as residências atraídos pela luz, por compostos orgânicos liberados pela fermentação espontânea de alguns frutos ou inclusive pelo próprio CO<sub>2</sub> desprendido pelo corpo humano. (NOIREAU et al., 1995; 2005; COURA et al., 2002; GALVÃO et al., 2003; SILVEIRA et al., 2002; PEREIRA, 2012; SARQUIS et al., 2006).

Alguns autores sugerem que atraídos pela luz artificial, espécimes adultos de triatomíneos poderiam entrar em uma residência e cair em um dispositivo de processamento de alimentos, o que é atualmente considerado como o principal mecanismo para a transmissão da doença (COURA et al., 2002; AGUILAR et al., 2007; VALENTE et al., 2009). Isto, porém deve ser visto com cautela, porque não foi adequadamente quantificado, já que em ao menos três surtos, não havia ponto de luz artificial. No surto em Cachoeira do Arari (VALENTE, 2011) o açaí foi processado de dia, manualmente, sem auxílio de máquina. Já no surto de Mojuí dos Campos, Pará (CRESPO, 2007) o alimento contaminado foi a bacaba, processado pela manhã sem qualquer ponto de luz artificial e finalmente, no importante surto em Santa Catarina (MS, 2005), a cana de açúcar foi triturada em máquina elétrica a luz do dia sem influência de luz artificial (comunicação pessoal).

Entretanto, relatos de emprego de armadilhas luminosas em ambiente silvestre (NOIREAU & DUJARDIN, 2001; ZELEDÓN et al., 2001; CARBAJAL DE LA FUENTE et al., 2007) e de laboratório (MINOLI & LAZZARI, 2006) mostraram que triatomíneos podem ser coletados rotineiramente com seu uso. Estudos realizados por CASTRO et al. (2010) no interior da floresta observaram uma maior produtividade no segundo semestre do ano, sendo a *R. pictipes* e a *R. robustus* as espécies mais frequentes.

Neste estudo somente duas técnicas de captura resultaram produtivas: a armadilha de Noireau (NOIREAU et al., 2002), colocada em palmeiras e a dissecação das palmeiras das espécies *Maximiliana maripa* (Inajá) predominante na área e próximas as residências, onde foram encontrados triatomíneos positivos. MAGALHÃES et al. (2011) avaliando palmeiras no Amazonas, obtiveram uma produtividade de 3,9 triatomíneos por palmeira, já nos nossos estudos esta relação foi acima de 12 triatomíneos.

Das 22 espécies de triatomíneos registradas na região Amazônica (GALVÃO et al., 2003) foram capturadas neste estudo espécimes de *R. pictipes* e *P. geniculatus*. Sendo que *R. pictipes* foi coletado em todas as áreas, sugerindo maior dispersão desta espécie que de acordo com GALVÃO et al. (2003), estaria relacionada diretamente com a dispersão de palmeiras que são seus abrigos preferenciais.

Muito se tem relatado na literatura sobre a importância desse habitat que existe há aproximadamente 65 milhões de anos ao longo da Bacia Amazônica (BARRET & GUERRERO, 1991), para manter o ciclo silvestre do *T. cruzi* (ABAD-FRANCH et al., 2007; 2009; BARRET & GUERRERO, 1991; COURA et al., 1994; CRESPO et al., 2007; DIAS et al., 2008; MACARENHAS, 1986). As palmeiras, preferencialmente os inajás, babaçu e urucuzeiro (MILES et al., 1981), têm sido frequentemente encontradas infestadas podendo atuar como uma importante fonte de abrigo para espécimes de *Rhodnius* na América e vários Biomas americanos, incluindo Amazônia (ABAD-FRANCH et al., 2010; FITZPATRICK et al., 2008; GURGEL-GONÇALVES et al., 2008; CALZADA et al., 2010; ROMANA et al., 1999).

## 7.5. Modelo ecoepidemiológico de risco para a doença de Chagas

ABAD-FRANCH et al., (2010) ao analisarem as palmeiras do gênero *Attalea* comprovaram que as palmeiras infestadas por espécies do gênero *Rhodnius* possuem altura média de 10 m, grande quantidade de matéria orgânica (casca, palha, flores, frutos, fibras e epífitas mortas) e quase sempre estão localizadas em ambiente florestal/rural, enquanto que o nível de infestação é nulo ou baixo em palmeiras pequenas e “limpas”. Os resultados obtidos pelos autores descrevem um padrão exclusivo de infestação de palmeiras que pode ser utilizado como um indicador de risco ecológico para a ocorrência de triatomíneos, na Amazônia o que corrobora com o modelo ecoepidemiológico ora apresentado que indicou uma forte associação de risco para a doença em indivíduos que residem em áreas com palmeiras infectadas.

Portanto a ilha de Ajuai, considerada a área do estudo menos antropizada, a ocorrência de triatomíneos em palmeiras foi maior que nas demais áreas inclusive do que a referida na literatura (VALENTE 2008; LAINSON et al., 1979; MILES et al., 1981). Alguns autores observaram que a fauna triatomínica em ambientes antropizados foi fortemente simplificada (NAIFF et al., 1998; VALENTE et al., 2009; BÉRENGER et al., 2009; CASTRO, 2010) e que o número de ordens, família e espécies diminuíram com a elevação do nível de antropização do ambiente (THOMANZINI & THOMANZINI, 2002). Já CONFALONIERI, 2000, refere que os agravos associados às paisagens naturais e prevalentes, são resultantes da exposição humana em atividades de subsistência ou pela proximidade e contato direto com os perigos biológicos oriundos da própria natureza estando associados a algum grau de antropização. Estes dados apoiam esta análise quanto à antropização que considerou também a diversidade florística das áreas.

Além disso, as palmeiras representam um ecossistema único albergando além dos triatomíneos, uma ampla gama de reservatórios, tais como: marsupiais, quirópteros, roedores e bradipodídeos que podem estar participando da manutenção do ciclo enzoótico da DC (LENT & WYGODZINSKY, 1979; MILES et al., 1981; ROMAÑA et al., 1999; GAUNT e MILES, 2000; ABAD-FRANCH et al., 2001; MONTEIRO et al., 2002; ZELEDÓN et al., 2006; ABAD-FRANCH & MONTEIRO, 2007; DIAS et al., 2008; GURGEL-GONÇALVES, 2008). Assim pelos resultados obtidos nestas análises quanto à fonte alimentar (LOROSA et

al., 2003; CARANHA et al., 2006) dos triatomíneos capturados, os reservatórios locais envolvidos no ciclo no momento de nossas pesquisas seriam os roedores e gambás.

Conforme GUERENSTEIN & LAZZARI (2009), os triatomíneos utilizam o calor, a umidade e os odores para detectar sua fonte alimentar, pois sendo providos de habilidades sensoriais são capazes de detectar sinais emitidos por seus hospedeiros (REISENMAN et al., 2000).

É conhecida a influência que os fatores ambientais e climáticos tem sobre a distribuição, a abundância e o desenvolvimento dos insetos (LARA, 1995). Neste estudo, considerando a análise univariada, observamos que a antropização, o aumento de umidade e a precipitação diminuem as chances de um indivíduo contrair a doença de Chagas. Por outro lado, o incremento nas unidades de medida da temperatura e do vento aumentariam significativamente as chances de ocorrer a doença.

Sob o enfoque do modelo logístico multivariado, ou seja, ao medir a relação conjunta entre as variáveis em estudo, observa-se que em Abaetetuba, a velocidade do vento é um fator de importante impacto sobre a probabilidade de ocorrer a doença aumentando exponencialmente as chances quando associado a febre, contato com o vetor e o fato de residir próximo a palmeiras infectadas. Quando avaliamos a influência do vento sem as demais variáveis, a probabilidade diminui consideravelmente, sugerindo, assim, uma forte associação de risco de ocorrência da DC em presença delas. Isto poderia estar relacionado com a ação do vento sobre a temperatura e umidade do ambiente auxiliando nos processos de dispersão e migração dos insetos, principalmente quando estes estão a procura de um novo habitat, alimentação e para se reproduzirem (LARA, 1979).

Para SABELIS & SCHIPPERS (1984) o vento é o principal responsável pela dispersão dos estímulos olfativos e os insetos o utilizam para se orientar até as fontes de odor. A produção de feromônios pelos triatomíneos atraem machos e fêmeas, estudos neste sentido, utilizando a técnica de olfatometria (CARDÉ & ELKINTON, 1984; CARDÉ & MINKS, 1997) comprovaram que orientados por correntes de ar os insetos podem percorrer longas distâncias com pistas direcionais até as fontes do odor. VITTA (2009) observou que o voo de machos de *T. brasiliensis*, é desencadeado por correntes de ar associadas com odor de fêmea e a frequência deste comportamento é maior durante as primeiras horas da fase escura.

Em Insetos com fraca capacidade de vôo, como os triatomíneos, o movimento de dispersão ocorre geralmente a favor do vento, ou seja, os insetos são passivamente transportados pelas correntes de ar (ALTIERI et al., 2003).

Com referencia ao fator antropização, o desflorestamento e a ação do vento, PRIMACK & RODRIGUES (2001) afirmam que a fragmentação da vegetação promove o aumento dos ventos e redução da umidade no local. Semelhante observação foi feita por FORATTINI (2006) em relação a importância da cobertura vegetal como fator protetor contra a atuação do vento, o qual justificaria a ocorrência da DC somente em espaços abertos e a possibilidade futura de domiciliação dos triatomíneos na região amazônica.

Estudos realizados por FRANÇA et al. (2012), avaliando os fatores bióticos como temperatura, umidade relativa e ocorrência de ventos revelaram que os ventos são raros no interior da mata e oscilam de leve até rajadas nas bordas, afetando a distribuição e abundância de insetos. Estes efeitos são evidentes em até 500 metros para dentro da floresta de acordo com LAURENCE (1991) e seriam percebidos a partir de 35 metros (RODRIGUES, 1998) da borda par o interior.

GUERENSTEIN & LAZZARI (2009), referem à influência de pacotes de ar para dissipar odores pelo ar limpo que são detectados como estímulos intermitentes. Experimentos realizados com *T. infestans* mostraram que estes foram atraídos pelo CO<sub>2</sub> sob determinadas condições de estimulação pulsada e contínua (BARROZO & LAZZARI, 2004). Este fato se agrava em ambientes com contínuas correntes de ar, pois os odores viajam em pacotes e são detectados como estímulos pelos insetos, mesmo a longas distâncias (GUERENSTEIN e LAZZARI, 2009).

Sabendo que o gás carbônico (CO<sub>2</sub>) exerce um efeito positivo de ativação e atração sobre insetos hematófagos (GUERENSTEIN & HILDEBRAND, 2008), a adaptação dos triatomíneos ao habitat humano, com oferta abundante de alimento, (BARROZO & LAZZARI, 2004) pode estar relacionada a constante produção desse gás, além do que a detecção de odores carregados por correntes de ar, mesmo a longas distância dos hospedeiros aumenta a atividade locomotora desses insetos fazendo com que deixem seus refúgios (GUERENSTEIN & LAZZARI, 2008) o que justificaria os relatos de frequentes “visitas” de triatomíneos às habitações humanas em Abaetetuba.

Adicionalmente, estudos realizados por PEREIRA et al. (2012) relacionando a atração dos triatomíneos pelo açaí, mostraram que a fermentação espontânea causada pela alta concentração de antocianinas, propicia a liberação de calor, compostos orgânicos, umidade,

gás carbônico e reflexão da luz solar, atraindo esses insetos, o que explicaria a contaminação do açaí nas etapas da sua cadeia produtiva, em ambiente amazônico.

A colheita do açaí é realizada pela manhã ou após as 15 horas, evitando-se as horas mais quentes do dia quando perdem muita umidade, após isto, os cachos são debulhados e acondicionados em paneiros que ficam expostos nos trapiches a espera do barco que irá transportá-los para comercialização nos centros urbanos. Após a colheita iniciam-se os processos metabólicos dos frutos e durante a fermentação há grande quantidade de energia e gás carbônico desprendido (ROGEZ, 2000; AGUIAR, 2010), que com as altas temperaturas da região e a influência das correntes de ar presentes na beira do rio, carregam os odores, sendo importante fator atrativo para os triatomíneos.

Outra possibilidade de atração seria durante o transporte nos barcos. Considerando que triatomíneos reagem a detecções mínimas de energia (LAZZARI & NUÑES, 1989) e a carga transportada de açaí por barco pode chegar a quatro toneladas durante a safra (ROGEZ, 2000), aumentando muito a fermentação pela produção de compostos voláteis, os insetos atraídos aos paneiros não retornariam ao seu habitat natural pela sua pouca atividade motora (AGUIAR, 2010), possibilitando a contaminação do produto.

Com as análises realizadas neste estudo, tendo como enfoque o risco para doença de Chagas, foi possível construir um modelo ecoepidemiológico que permitiu determinar que a ocorrência da doença em ambiente urbano está relacionada ao ciclo enzoótico ativo e bem estabelecido em áreas de plantio de açaí, que apresentam algum grau de antropização. As correntes do ar podem influenciar a dispersão dos triatomíneos que habitam as palmeiras e são atraídos pelos compostos liberados pela fermentação do fruto nos paneiros, podendo contaminá-lo com suas fezes ou quando são macerados no momento da elaboração do suco. Este produto contaminado ao ser ingerido atua como veículo do *T. cruzi* podendo infectar um número considerável de pessoas.

## 7.6. Limitações do estudo

- a) Não foi possível fazer uma correlação de distância entre as palmeiras positivas e casos positivos e negativos, pois não havia a medida em metros entre as palmeiras e casa amostradas, assim como o número de palmeiras por área.
- b) No modelo da vigilância como não foram computadas as notificações negativas não foi possível fazer correlação entre os casos positivos e negativos.
- c) O alto custo do projeto e número expressivo de profissionais necessários as atividades, não permitiu ampliar o número de amostras e a investigação em outras áreas.
- d) As armadilhas Noireau foram pouco produtivas e as outras armadilhas testadas se mostraram ineficientes.
- e) As imagens de satélite e cartas cartográficas do município são antigas, não representando a situação antrópica atual e por vezes cobertas de nuvens, além de não ter a abrangência necessária ao estudo.



## 8. Conclusões

Os resultados obtidos a respeito da dinâmica da DCA no município de Abaetetuba permitem inferir que:

- A distribuição da doença num período de oito anos mostrou um padrão sazonal, com incrementos da casuística nos meses de julho e novembro, e pico epidêmico no mês de outubro, com uma incidência máxima em 2012 de 41,55/100.000 hab.
- Segundo a informação do sistema de vigilância, febre, edema e alimentar-se com açai foram fatores associados ao risco de ocorrência da doença, no período 2005 a 2012.
- Apesar dos casos notificados no período de 2005 a 2012 incidirem em ambientes urbanos, os resultados do estudo de prevalência demonstram os ambientes de ilhas como os de maior risco para a transmissão, sendo que na ilha de Ajuai a prevalência foi de 3,67/1000 hab.
- *Rhodnius pictipes* foi a espécie mais abundante nos ecótopos silvestres das áreas estudadas sugerindo que é o vetor mais importante e que pode estar envolvida na dinâmica da transmissão local da doença a qual não depende da domiciliação do vetor.
- As áreas menos antropizadas foram as que representaram maior risco para ocorrência de doença assim como residir próximo a palmeiras infestadas.
- A modelagem com variáveis ecoepidemiológicas demonstrou que febre, contato com o triatomíneo, palmeiras infestadas com triatomíneos e velocidade do vento são fatores altamente significativos e associados ao risco de ocorrência da doença de Chagas.
- Não há como se pensar em uma vigilância da doença que causa impacto nos índices de morbimortalidade no país se não estiver imbuído de espírito de integração e responsabilidade que é premissa para a consolidação e sustentabilidade de uma vigilância dessa magnitude.
- A organização seguida da análise e interpretação dos dados obtidos em inquéritos realizados pela SESPA se mostrou fundamentais para a monitorização da DCA no município de Abaetetuba, bem como para o estabelecimento de políticas públicas visando o controle da doença na região Norte do país.

## 9. Recomendações

É inegável o avanço no conhecimento da epidemiologia da doença de Chagas no estado do Pará após a implantação do Programa de Vigilância da doença no Estado, porém é necessário estabelecer uma vigilância sob enfoque de risco, cuja sustentabilidade seja garantida em áreas de risco e seja atenta em áreas silenciosas, portanto recomenda-se:

- Implantação de Postos de Informação de Triatomíneos (PIT'S) onde o ponto focal, preferencialmente, seria o agente comunitário de saúde onde houver, ou um líder da comunidade. Seria uma importante fonte de informação sobre a biologia dos vetores nessas áreas. O material seguiria o fluxo estabelecido pelo serviço de entomologia do Estado;
- A participação comunitária ativa e permanente é ainda uma atividade incipiente e há ainda muito a se construir para que seja considerada uma atividade permanente e inerente ao controle da doença. Uma experiência que deu certo nos trabalhos de campo foi a participação de técnicos do programa de mobilização social. Esses profissionais foram engajados nas equipes de campo participando de todas as ações identificando líderes comunitários, proferindo palestras sobre a doença e manipulação de alimentos criando uma rede de informação e parceiros importantes para o conhecimento e conscientização do problema nas áreas de estudo;
- Barreiras físicas. O controle químico com inseticidas residuais continua indicado no controle de vetores domiciliados, mas não é uma opção viável contra os mecanismos de transmissão envolvidos na produção de casos agudos. Não há estudo de produtos que ajam como repelentes evitando a entrada eventual de triatomíneos para dentro das residências. Barreiras físicas como telas nas residências e mosquiteiros impregnados com inseticidas, podem ser empregadas em algumas áreas a depender dos hábitos da população e suas construções.
- Apesar da área de risco de DCA estar sobreposta a áreas de baixo risco para malária onde o serviço não está tão bem estruturado e muitas vezes não há pessoal devidamente capacitado, além da baixa sensibilidade da gota espessa para confirmação da presença de *T. cruzi*, esta integração das duas vigilâncias mostrou-se oportuna na detecção de casos novos de DCA. Assim recomendamos incrementar na capacitação de microscopistas da malária, a leitura das lâminas para identificação de *T. cruzi*,

propomos ainda que todas as lâminas positivas para este parasita sejam revisadas e que as negativas sigam o fluxo estabelecido pela malária;

- Vigilância sindrômica. Apesar de exigir uma rede de laboratórios organizada, pessoal capacitado e rede de informação atualizada e abrangente, a vigilância sindrômica agiliza o desencadeamento de medidas de prevenção e controle, promovendo ações rápidas de investigação epidemiológica e resposta antes mesmo que um surto seja confirmado. Recomendamos a realização de um estudo piloto com definição de algoritmos e indicadores que monitorados poderão demonstrar a efetividade do modelo;
- Soroteca de casos de DCA. A sorologia continua sendo uma das ferramentas de diagnóstico e VE mais frequentemente utilizadas na DC e contribui para um aporte de informações de saúde em base populacional. Para poder realizar uma análise retrospectiva de amostras de soros sugerimos que sejam armazenadas e condicionadas em um centro de referência para este fim. A soroteca representativa da população urbana/rural de ambos os sexos e diferentes idades possibilita agregado de novas determinações nas amostras dos pacientes ou por que foram omitidas ou porque os resultados foram imprecisos. Os soros podem ser armazenados por 20 anos pela possibilidade de que apareça uma nova tecnologia ou tratamento que possa beneficiar pacientes e fortalecer os sistemas e serviços de saúde;
- Historicamente, no Pará, as instituições de pesquisa garantem um fluxo de atendimento à população para o diagnóstico e o manejo clínico dos casos de DCA, e têm sido uma importante porta de entrada de casos. No entanto, sua capacidade de cobertura é limitada já que essas instituições estão localizadas em grandes centros ou capitais, centralizando tais ações e provocando a necessidade do deslocamento da população de seus municípios de origem. A detecção precoce, tratamento oportuno, seguimento adequado dos casos e acesso aos serviços de saúde é uma estratégia para se evitar aumento na prevalência de casos crônicos. Para tanto recomendamos ampliação da rede de laboratórios e assistência de atendimento ao paciente com profissionais de saúde capacitados para o manejo clínico em áreas de maior proximidade do local de residência do doente, evitando o deslocamento desnecessário do paciente, para locais distantes;
- Integração da assistência ao paciente chagásico ao **Programa Telessaúde Brasil Redes** principalmente á área de cardiologia objetivando melhorar a qualidade do atendimento. Estudo desenvolvido pelo Núcleo do Rio Grande do Sul aponta que a

cada duas teleconsultorias realizadas, um encaminhamento é evitado. Há casos também em que a necessidade de encaminhamento é identificada a partir da teleconsultoria. Em ambos os casos, o serviço melhora a resolubilidade da atenção, reduz os custos operacionais dos serviços, contribui para a qualificação e redução do isolamento dos profissionais;

- A utilização do protocolo de acompanhamento de casos de DCA, elaborado durante o surto ocorrido em Santa Catarina e adequado às peculiaridades da estrutura da rede de serviços de assistência. Tal protocolo estabelece condutas para o tratamento, realização de exames laboratoriais e de imagem regulares, que avaliam parâmetros clínicos, acompanhamento sorológico e parasitológico, bem como recomenda o acompanhamento dos pacientes por um período de 2 a 5 anos.
- Realização de inquéritos sorológicos amostrais com coletas de sangue por punção digital em papel de filtro em áreas consideradas de risco presumível e indeterminado, sendo que os soropositivos devem ser confirmados por coleta venosa.
- A inserção do teste para doença de Chagas no Programa Rede Cegonha e teste do pezinho para detectar possíveis casos por transmissão congênita.
- O incentivo a boas práticas de manipulação e processamento de alimentos *in natura*, em áreas de transmissão oral pode reduzir a ocorrência de surtos, porém é um processo educativo e como tal apesar de demandar um tempo longo para se medir o impacto e a efetividade das ações, deve ter caráter permanente e fazer parte da VE das Equipes de Saúde da Família. Deve, portanto, ser parte integrante das políticas públicas voltadas ao controle da DCA de etiologia oral.
- Sensibilizar o Ministério da Agricultura e Pecuária para novos padrões de qualidade do açaí.
- Analisar com PCR, por amostragem a presença de cepas de *T. cruzi* no açaí/fruto depois de despolar.
- Avaliar a contaminação por *T. cruzi* em outros alimentos como: bacaba, suco de cana de açúcar, farinha e outras polpas de frutas,

## 10. Bibliografia

ABAD-FRANCH, F.; FERRAZ, G.; CAMPOS, C.; PALOMEQUE, F.S.; GRIJALVA, M.J.; AGUILAR, M.H.; MILES, M.A. Modeling disease vector occurrence when detection is imperfect: infestation of Amazonian palm trees by Triatomine bugs at three spatial scales. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, 102 suppl,1: 57-69, 2007

ABAD-FRANCH, F.; MONTEIRO, F.A. Biogeography and evolution of Amazonian triatomines (Heteroptera: Reduviidae): implications for Chagas disease surveillance in humid forest ecoregions. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, 102: 57–69, 2007.

ABAD-FRANCH, F.; MONTEIRO, F.A.; JARAMILLO, N.O.; GURGEL-GONÇALVES, R.; DIAS, F.B.S; DIOTAIUTI, L. Ecology, evolution, and the long-term surveillance of vector-borne Chagas disease: A multi-scale appraisal of the tribe Rhodniini (Triatominae). **Acta Tropica**, Netherlands, 110: 159 – 177, 2009.

ABAD-FRANCH, F; PAUCAR, A.C.; CARPIO, C.; CUBA CUBA, C.A.; AGUILAR, M.H.; MILES, M.A. Biogeograph of triatominae (Hemiptera: Reduviidae) in Equador: implications for the design of control strategies. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, 96 (5): 611 – 620, 2001.

AGUIAR, F. S.. Avaliação da fermentação espontânea dos frutos de *Euterpe oleracea* durante o período pós-colheita e suas possíveis implicações sobre a atração de triatomíneos. 85 f. **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)** – Universidade Federal do Pará, Belém-PA. 2010

AGUIAR, J.I.; AGUIAR, E.S. Serologic Testing for Chagas' Disease and HIV in Counseling Programs and Blood Banks in Midwest Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**. São Paulo, 3 (5): 176-179, 1999.

AGUILAR, H.M.; ABAD-FRANCH, F.; DIAS, J.C.P.; JUNQUEIRA, A.C.V.; COURA, J.R.C. Chagas disease in the Amazon Region. **Mem Inst Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro**, 102 (Suppl.1): 47-55, 2007.

ALARCÓN DE NOYA, B. & MARTÍNEZ, J. Transmisión oral de la Enfermedad de Chagas en Venezuela: un segundo brote escolar. **Salus**, Espanha, 13, 9-10. 2009

ALBAJAR, P.V.; LAREDO, S.V.; TERRAZAS, M.B.; COURA, J.R. Miocardiopatia dilatada em pacientes com infecção chagásica crônica. Relato de dois casos fatais autóctones do Rio

Negro, Estado do Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Uberaba,36 (3): 401-407, 2003.

AMATO, VN. & PASTERNAK, J. Emergent infectious. **Rev. Inst. Med. Trop. SP**. V.39. N.3, 1997.

ALMEIDA, F. B. Triatomíneos da Amazônia: encontro de três espécies naturalmente infectadas por *Trypanosoma* semelhante ao *cruzi* no Estado do Amazonas (*Hemiptera: Reduviidae*). **Acta Amazonica**, v. 1, n. 1, p. 89-93, 1971.

ALTIERI, M. A.; SILVA, E. N.; NICHOLLS, C. I. **O Papel da Biodiversidade no Manejo de Pragas**. Ribeirão Preto: Holos. 133-165 pp. 2003

AMANÁRRIZ, M.U; CHICO, M.E.C; GUDERIAN, R.H. Chagas disease in Ecuador: a sylvatic focus in the Amazon Region. **J Trop Med Hyg**, USA, 94 (3): 145-149, 1991.

ANDRADE, Z.A. Patologia da Doença de Chagas. In BRENER, Z.; ANDRADE, Z.A.; BARRAL –NETO, M. (eds), **Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 89-291, 2000.

ARAGÃO, M.B. Domiciliação de triatomíneos ou preadaptação a antropofilia e a ornitofilia? **Rev. saúde pública**, 17(1):51-5, 1983

ARAÚJO, A.; JANSEN, A.M.; FERREIRA, L.F. Paleoparasitology of Chagas disease: a review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, 104(Suppl I): 9–16, 2009.

ARGOLO, A. M.; FELIX, M.; PACHECO, R.; COSTA, J. Doença de Chagas e seus Principais Vetores no Brasil. **Imperial Novo Milênio Gráfica e Editora Ltda.**, Rio de Janeiro, 63 pp, 2008.

ASHFORD, R.W. Leishmaniosis reservoirs and their significance in control. **Clin Dermatol**, 14: 523-532, 1996.

AUFDERHEIDE, A.C;SALO, W.;MADDEN, M.;STREITZ, J.;BUIKSTRA, J.;GUHL, F.;ARRIAZA, B.;RENIER, C.;WITTMERS, L.E.Jr.; FORNACIARI, G.; ALLISON, M.A 9,000-year record of Chagas' disease. **Proc Natl Acad Sci**, USA, 101: 2034–2039,2004.

BARATA, R.C.B. O desafio das doenças emergentes e a revalorização da epidemiologia descritiva. **Rev. Saúde Pública**, 31 (5): 531-7, 1997.

- BARBOSA-FERREIRA, J.M.; GUERRA, J.A.O.; SANTANA FILHO, F.S.; MAGALHÃES, B.M.L.; COELHO, L.I.A.R.C.; BARBOSA, M.G.V. Cardiac Involvement in Acute Chagas' Disease Cases in the Amazon Region. **Arq Bras Cardiol**, 94(6), 2010.
- BARRETO, M.P. Reservatórios do *Trypanosoma cruzi* nas Américas. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, Rio de Janeiro, 16:527-552, 1964.
- BARRETT, T. V.; GUERRERO, J. H. G. Os triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae) em relação à doença de Chagas na Amazônia. In: VAL, A. L.; FIUGLIUOLO, R.; FELDBERG, E. (Ed.). **Bases Científicas para Estratégias de Preservação e Desenvolvimento da Amazônia: fatos e perspectivas**. Manaus. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, p. 119-130, 1991.
- BARROZO, R. B.; LAZZARI, C. R. The response of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to carbon dioxide and other host odours. **Chem. Senses**, v. 29, p. 319–329, 2004
- BÉRENGER, J.M.; PLUOT-SIGWALT, D.; PAGÈS, F.; BLANCHET, D.; AZNAR, C. The Triatominae species of French Guiana (Heteroptera: Reduviidae). **Mem Inst Oswaldo Cruz** 104: 1111-1116, 2009
- BOGLIOLO, A.R.; LAURIAPIRES, L.; GIBRON, W.C. 1996. Polymorphisms in *Trypanosoma cruzi*: evidence of genetic recombination. **Acta Tropica**, Netherlands, 61: 31-40, 1996.
- BORBOREMA, M.; GUERRA, J.; MALHEIROS, R.; FÉ, N.; LACERDA, M. G.; MOURÃO, M. P. G.; COELHO, L. I.; MACÊDO, V.; COURA, J. R.; JUNQUEIRA, A. Doença de Chagas urbana em Tefé (AM): relato de nove casos com suspeita de transmissão oral. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, p. 491, 2005. Suplemento 1. Apresentado no Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 41, Encontro de Medicina Tropical do Cone Florianópolis/SC, 2005, Florianópolis
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Coordenação de Saúde da Comunidade. **Saúde da Família: uma estratégia para a reorientação do modelo assistencial**. Brasília. 1997.
- BRENER, Z. *Trypanosoma cruzi*: morfologia e ciclo evolutivo. In DIAS, J.C.P.; COURA, J.R. (EDS), **Clínica e terapêutica da Doença de Chagas. Um Manual Prático para o Clínico Geral**, Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 25-31, 1997.

- BRICEÑO-LEÓN, R. - La enfermedad de Chagas en las Américas: una perspectiva de ecosalud. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 25 Sup 1:S71-S82, 2009.
- BRICEÑO-LEÓN, R. Chagas disease and globalization of the Amazon. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 23, (Sup 1): S33-S40, 2007.
- BRICEÑO-LEÓN, R &, MÉNDEZ-GALVÁN, J. The social determinants of Chagas disease and the transformations of Latin America. **Mem Inst Oswaldo Cruz** ;102(Suppl D):109-112, 2007
- BRISSE, S.; DUJARDIN, J.C.; TIBAYRENC, M.. Identification of six *Trypanosoma cruzi* phylogenetic lineages by random amplified polymorphic DNA and multilocus enzyme electrophoresis. **Int J Parasitol**, EUA,30: 35-44, 2000.
- BURMEISTER, H. **Handbuch der Entomologie**. Berlin, vol.2, part 1, IV,404 pp, 1835.
- CALZADA, J.E.; PINEDA, V.; GARISTO, J.D.; SAMUDIO, F.; SANTAMARÍA, A.M.; SALDAÑA, A. Human trypanosomiasis in the eastern region of the Panama Province: new endemic areas for Chagas disease. **Am J Trop Med Hyg** 82: 580-582,2010.
- CAMARGO, M.E. Fluorescent antibody test for the serodiagnoses of American Trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. **Rev Inst Med Trop**, São Paulo, 8: 227-234,1966.
- CAMARGO, M.E.; HOSHINO-SHIMIZU, S.; CORREA, N.S.; PERES, B.A. hemagglutination test for Chagas' disease with chromium chloride, formalin-treated erythrocytes, sensitized with *trypanosome cruzi* extracts. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v.13, p.45-50, 1971.
- CAMARGO, M.E.; SILVA, G.R.; CASTILHO, E.A.; SILVEIRA, A.C. Inquérito sorológico da prevalência de infecção chagásica no Brasil, 1975/1980. **Rev Inst Med Trop**, São Paulo, 26:192-204,1984.
- CARANHA, L.; LOROSA, E.S.; ROCHA, D.S.; JURBERG, J.; GALVÃO, C. Estudo das fontes alimentares de *Panstrongylus lutzi* (Neiva & Pinto, 1923) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) no Estado do Ceará. **Rev Soc Bras Med Trop**, Uberaba, 39 (4): 347-351, 2006.
- CARBAJAL DE LA FUENTE, A.L.; MINOLI, S.A.; LOPES, C.M.; NOIREAU, F.; LAZZARI, C.R.; LORENZO, M.G.. Flight dispersal of the Chagas disease vectors *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata* in northeastern Brazil. **Acta Trop** 101: 115-119. 2007



- CARDÉ, R.T. & ELKINTON, J.S. Field trapping with attractants: methods and interpretation, p 111-129. **In: Techniques in pheromone research** (eds. Hummel HE, Miller TA). Springer-Verlag, New York 464 pp. 1984
- CARDÉ, R.T. & MINKS, A.K. **Insect pheromone research: new directions**. Chapman & Hall, New York, pp 684. 1997
- CARRASCO, H.J.; FRAME, I.A.; VALENTE, S. A.; MILES, M.A. Genetic exchange as a possible source of genomic diversity in sylvatic populations of *Trypanosoma cruzi*. **Am. J. Trop. Med. Hyg**, USA,54: 418-424, 1996.
- CATALÁ, S.S.; CROCCO, L.; MORALES, G.; PAULONE, I.; GIRALDEZ, E.; CANDIOTTI, C. *Trypanosoma cruzi* transmission risk index: a tool to improve vector control. **Annual Report**. World Health Organization (Tropical Disease Research), Geneva,1996.
- CASTRO, M.C.; BARRETT, T.V.; SANTOS, W.S.; ABAD-FRANCH, F.; RAFAEL, J.A. Attraction of Chagas disease vectors (Triatominae) to artificial light sources in the canopy of primary Amazon rainforest. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 105(8):1061-4, 2010
- CELADE-División de Población. Transformaciones democráticas en América Latina y el Caribe y consecuencias para las políticas públicas. In **Panorama Social de América Latina**, Cepal, Santiago de Chile, 2004.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL.. Adressing emergin infectious disease threats: a prevention strategy for the U.S, executive summary. **MMWR**, 43: 1-17. 1994
- CHAGAS, C. Infection naturelle des singes du Pará (*Chrysotrrix sciureus* L.) Par *Trypanosoma cruzi*. **C.R. Soc. Biol. Paris** 90: 873-876, 1924.
- CHAGAS, C. Nova espécie mórbida do homem, produzida por um tripanossomo *Trypanosoma cruzi*. **Braz Med**, Rio de Janeiro, XXIII: 16, 1909.
- CHAGAS, C. Nova tripanossomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo Evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. Gen., n. Sp., agente etiológico de nova Entidade mórbida do homem. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 1:159-218, 1909.
- CHAGAS, C. Revisão do ciclo evolutivo do "*Trypanosoma cruzi*". **Brazil-Med**, Rio de Janeiro,27: 225, 1913.

- CHAGAS, C. Sobre a verificação do “*Trypanosoma cruzi*” em macacos do Pará. Nota prévia. **Science Reports of the Research Institute Tohoku, University.ser.C:Medicine 2:75-77**, 1924.
- CHERKASSKII, B.L. The system of the epidemic process. **Jornal of hygiene and epidemiology**. 32: 321-328 p, 1988.
- CIDEIM. **Manual de entomologia médica para investigadores da América Latina**. Cartopel. Colômbia, 280 p,1994.
- COIMBRA, C.E.A.; FLOWERS, N.M.; SALZANO, F.M.; SANTOS, R.V. **The Xavante in Transition, Health Ecology and Bioanthropology in Central Brazil**.The University of Michigan Press, Ann Arbor. USA, 2004.
- COIMBRA, C.E.A.; SANTOS, R.V. Ocupação do espaço, demografia e epidemiologia na América do Sul: a doença de Chagas entre as populações indígenas. In: COIMBRA, C.E.A.; SANTOS, R.V. **Saúde e Povos Indígenas**, Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 43-62, 1994.
- CONFALONIERI, U. E. C. “Environmental Change and Human Health in the Brazilian Amazon”.**Global Change & Human Health**, 1(2):174-183, 2000.
- COURA, J.R. Chagas Disease: What is known and what is needed - A background article. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 102**(Suppl.1):113-122, 2007.
- COURA, J.R. **Relatório apresentado ao Instituto Nacional de Endemias Rurais, Ministério da Saúde, sobre surto de doença de Chagas Aguda ocorrido em Teutônia, Município de Estrela, Rio Grande do Sul**. Rio de Janeiro, junho de 1966.
- COURA, J.R. **Reunião sobre diferenças geográficas na doença de Chagas**. Brasília; 1975.
- COURA, J.R. Transmissão da infecção chagásica por via oral na história natural da doença de Chagas. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**, 39 sup 3: 113-7, 2006.
- COURA, J.R.; BARRETT, T.V.; ARBOLEDA, N.M. Ataque de populações humanas Por triatomíneos silvestres no Amazonas: uma nova forma de transmissão da infecção chagásica? **Rev Soc Bras Med Trop**, Uberaba, 27:251-253,1994.
- COURA, J.R.; JUNQUEIRA, A.C.V.; BOIA, M. N.; FERNANDES, O. Chagas Disease: From Bush to Huts and Houses. Is it the Case of the Brazilian Amazon? **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 94, Suppl. I: 379-384, 1999.

- COURA, J.R.; JUNQUEIRA, A.C.V.; FERNANDES, O.; VALENTE, S.A.S.; MILES, M.A. Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil. **Trends in Parasitol.** 18 (4): 171-176, 2002.
- COURA, J.R.; JUNQUEIRA, A.C.V.; GIORDANO, C.M.; FUNATSU, I.R.K.; Chagas' Disease in Amazonia. I. Review. **Rev. Inst. De Med. Trop.** São Paulo, 36, 4, 1994.
- CRESCENTE, J A.; VALENTE, S.A.S.; VALENTE, V.C.; ARAÚJO, J.E.A. Ocorrência de 4 novos casos agudos de doença de Chagas na Vila de Icoaraci, PA. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, XXVIII, 1992, Belém - Pará, **Programa e Resumos dos Temas Livres e Pôsters.** p.29, Belém – Pará: Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 1992 Tema Livre nº 062
- CRESPO, F. G.; QUISPE, R. R.; COUTO, R. D. I.; GALLIEZ, R. M.; AGUIAR, F. M.; QUIROGA, M. M.; MASCHERETTI, M.; BOULOS, M. Surto de doença de Chagas aguda em Mojuí dos Campos, Pará: manifestações clínicas e laboratoriais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, p. 28. Suplemento. Apresentado no Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 43., 2007. Campos do Jordão, São Paulo.
- DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A.A.; HYATT, A.D. Emerging infectious diseases of wildlife-threats to biodiversity and human health. **Science**, USA, 288: 2319-2320, 2000.
- DE GEER, K. **Mémoires pour servir à l'histoire des insectes.** De L'Imprimerie de L. L. Grefing. Estocolmo, vol. 3, 1773.
- DEANE, M.P.; LENZI, H.L.; JANSEN, A. *Trypanosoma cruzi*: vertebrate and invertebrate cycles in the same mammal host, the opossum *Didelphis marsupialis*. **Mem. Inst. Osw. Cruz**, Rio de Janeiro, 79: 513-515, 1984.
- DEANE, L.M. Animal reservoirs of *Trypanosoma cruzi* in Brasil. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, Rio de Janeiro, 16: 27-48, 1964.
- DEANE, L.M. Tripanosomatídeos de mamíferos da região amazônica I. Alguns flagelados encontrados no sangue de mamíferos silvestres do Estado do Pará. **Revis. Inst. Med. Trop.** São Paulo, 3: 15-28, 1961.
- DEANE, L.M. Tripanosomatídeos de mamíferos da região amazônica IV-Hemoscopia e xenodiagnóstico de animias silvestres da estrada Belém-Brasília. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo 9: 143-148, 1967.
- DESJEUX, P. Worldwide increasing risk factors for leishmaniasis. **Med Microbiol Immunol**, Germany, 190: 77-79, 2001.

- DIAS E, LARANJA F, PELLEGRINO J. Estudos sobre a importância social da doença de Chagas, 1: Inquérito clínico-epidemiológico feito nas vizinhanças de Bambuí, oeste de Minas. **Brazil Med**; 62:412-413,1948
- DIAS, E. & PELLEGRINO, J. Alguns ensaios com o “Gammexane” No combate aos transmissores da doença de Chagas. **Bras Med**, Rio de Janeiro, 62:185-91, 1948.
- DIAS, F.B.S.; BEZERRA, C.M.; MACHADO, E.M.M.; CASANOVA, C.; DIOTAIUTI, L. Ecological aspects of *Rhodnius nasutus* Stål, 1859 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in palms of the Chapada do Araripe in Ceará, Brasil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 103 (8): 824-830, 2008.
- DIAS, J. C. P.; SCHOFIELD, C. J. Controle da transmissão transfusional da doença de Chagas na Iniciativa do Cone Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, 31, n.4, 1998.
- DIAS, J.C. P.; MACEDO, V.O. Doença de Chagas. In: Coura, J.R (ed), **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. Guanabara. Koogan, Rio de Janeiro, p. 557-593, 2005.
- DIAS, J.C.P. Carlos Chagas: alguns aspectos históricos. **Rev Patol Trop**, Goiás, 29 (supl 1): 19-30, 2000.
- DIAS, J.C.P. Chagas disease: sucessos and challenges. **Cad. Saud Publica**, Rio de Janeiro, 22 (10), 2020-2021 (2006).
- DIAS, J.C.P. Control of Chagas disease in Brazil. **Parasitol Today**, 3:336-41, 1987.
- DIAS, J.C.P. Doença de Chagas em Bambuí, Minas Gerais, Brasil. Estudo-epidemiológico a partir da fase aguda, ente 1940 a 1982. [**Tese de doutorado**]: Rio de Janeiro; Universidade Federal do Rio de Janeiro; 1982.
- DIAS, J.C.P. Globalização, iniquidade e doença de Chagas. **Cadernos de Saúde Pública**. Rio de Janeiro, (suppl1), p.13-22, 2007.
- DIAS, J.C.P. Participação, descentralização e controle de endemias no Brasil. In: BARATA, R.B.; BRICEÑO-LEÓN, R. (eds) **Doenças Endêmicas**. Editora da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, p. 269-297, 2000.
- DIAS, J.C.P. & MACEDO, V.O. Doença de Chagas. In: **COURA, J.R., editor. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Editora, 2005

DIAS, J.C.P.; MACHADO, E.M.M.; FERNANDES, A.L.; VINHAES, M.C. Esboço geral e perspectivas da doença de Chagas no Nordeste do Brasil. **Cad Saúde Pública**. Rio de Janeiro, 16(Suppl. II): 13–24,2000.

DIAS, J.C.P.; PRATA, A.; SCHOFIELD, C.J.. Doença de Chagas na Amazônia: esboço da situação atual e perspectivas de prevenção. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, 35 (6): 669-678, 2002.

DIAS, J.C.P.; SCHOFIELD, C.J. The evolution of Chagas disease (American trypanosomiasis) control after 90 years since Carlos Chagas discovery. **Mem. Inst. Osw. Cruz**, Rio de Janeiro, vol. 94. suppl. I: 103-121, 1999.

DIOTAIUTI, L. **Ocorrência e biologia de *Rhodnius neglectus* Lent, 1954, em macaubeiras da periferia de Belo Horizonte, MG**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, MG; 1982

ELLIS, B.R. & WILCOX, B.A. The ecological dimensions of vector-borne disease research and control. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 25, sup 1:S155-S167, 2009

FERNANDES, O.; MANGIA, R.H.; LISBOA, C.V.; PINHO, A.P.; MOREL, C.M.; ZINGALES, B.; CAMPBELL, D.; JANSEN, A.M. The complexity of the sylvatic cycle of *Tripanosoma cruzi* in the Rio de Janeiro State (Brazil) revealed by the non-transcribed spacer of the min-exon gene. **Parasitology**, 118: 161-168, 1998.

FÉ, N.F.; MAGALHÃES, L.K.; FÉL, F.A; ARAKIAN, S.K; MONTEIRO, W.M; BARBOSA, M.G.V. Ocorrência de triatomíneos em ambientes silvestres e domiciliares do município de Manaus, Estado do Amazonas. **RSBM** 42(6):642-646, nov-dez, 2009.

FERREIRA, L.C. & DEANE, L. Novo depositário silvestre do *Schizotripanum cruzi* (Chagas, 1909) a irara: *Tayra Barbara* (L). **Bras Med**, 52(52):1159-61, 1938.

FERREIRA, L. F.; JANSEN, A. M.; ADAUTO, A. Chagas disease in prehistory, 2011 **Anais da Academia Brasileira de Ciências (Annals of the Brazilian Academy of Sciences)** Printed version ISSN 0001-3765 / Online version ISSN 1678-2690 Wwww.scielo.br/aabc

FIFE Jr, E. H.; MUSCHEL, L.H. Fluorescent antibody technic for serodiagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. **Proceedings Society Experimental Biology Medicine**, v. 101, p.540-543, 1959.

- FITZPATRICK, S; FELICIANGELI, M.D.; SÁNCHEZ-MARTÍN, M.; MONTEIRO, F.A.; MILES, M.A.. Molecular genetics reveal that silvatic *Rhodnius prolixus* do colonise rural houses. **PLoS Negl Trop Dis** 2: e 210. 2008
- FORATTINI, O. P. Biogeography, origin, and distribution of triatominae domiciliarity in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v.14, n.3, 1980.
- FORATTINI, O.P. Biogeografia, origem e distribuição da domiciliação de triatomíneos no Brasil In: **Clássicos dos Primeiros dez anos**. Rev. Saúde Pública, 40(6): 964-98, 2006
- FORATTINI, O.P.; BARATA, J.M.S.; SANTOS, J.L.F.; SILVEIRA, A.C. Hábitos alimentares, infecção natural e distribuição de triatomíneos domiciliados na região central do Brasil. **Rev Saúde Pública São Paulo**, 16:171-204,1982
- FORNACIARI, G.; CASTAGNA, M.; VIACAVA, P.; TOGNETTI, A.; BEVILACQUA, G.; SEGURA, E.L. Chagas' disease in a Peruvian Inca mummy. **Lancet** 339: 128–129, 1992.
- FRAIHA NETO, H.; VALENTE, S.A.S.; VALENTE, V.C.; PINTO, A.Y.N. Doença de Chagas - Endêmica na Amazônia? **An Acad Med Pará** 6: 53-57, 1995.
- FRANÇA, S.; BERNARDO, D.N.; VICENTE, F.M.P.; SANTOS, D.J.C.; CAETANO, F.H.; MORAIS, F.C.; DARROS, S.S.; ABUCARUB, P.; VILAS BOAS, G.M.; BERNARDO, C.H.;1CONCI, E.P.; CASTELLO BRANCO JR.,A. Avaliação do efeito de borda em comunidade de insetos em mata estacional semidecidual. **bio.edu.br/cic/anais/2012\_xi\_cic/PDF/Bio/04.pdf**. Acessado em 01/04/2013
- FREITAS, J.L.P. & FIGUEIREDO, C. Resultados de investigações sorológicas moléstia de Chagas realizadas no estado de Goiás. **Arq Hig Saude Publica**; 16:227-230, 1951
- FREITAS, J.M.; AUGUSTO-PINTO, L.; PIMENTA, J.R.; BASTOS-RODRIGUES, L.; GONÇALVES, V.F.; TEIXEIRA, S.M.R.; CHIARI, E.; JUNQUEIRA, A.C.V.; FERNANDES, O.; MACEDO, A.M.; MACHADO, C.R.; PENA, S.D.J. Ancestral genomes sex and population structure of *Trypanosoma cruzi*. **PLoS Pathogens** 2, 226-235, 2006.
- FRENK, J. La transición epidemiológica en America Latina. **Bol Saint Panam.**, n 11, p 485-496, 1992.
- GABALDÓN, A. Una política sanitaria. **Ministerio De Sanidad y Asistencia Social**,Caracas, 1965.

- GALVÃO, C.; CARCAVALLO, R.; ROCHA, D.S.; JURBERG, J. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. **Zootaxa** **202**:1-36, 2003
- GAUNT, M. & MILES, M. The ecotopes and evolution of Triatomine bugs (Triatominae) and their associated trypanosomes. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 95 (4): 557 – 565, 2000.
- GAUNT, M.W.; YEO, M.; FRAME, I.A.; STOTHARD, J.R.; CARRASCO, H.J.; TAYLOR, M.C.; MENA, S.S.; VEAZEY, P.; MILES, G.A.; ACOSTA, N.; DE ARIAS, A.R.; MILES, M.A. Mechanism of genetic exchange in American trypanosomes. **Nature** 421: 936-939, 2003.
- GORLA, D.E. Que características podem definir espécies/populações de triatomíneos com maior potencial vetorial? **Rev Soc Bras Med Trop**, Uberaba, 34: 81-82,2001.
- GUERENSTEIN, P. G., LAZZARI, C. R.. Host-seeking: How triatomines acquire and make use of information to find blood. *Acta Tropica*, v. 110, p. 148-158. 2009.
- GUERENSTEIN, P. G.; HILDEBRAND, J. G. Roles and Effects of Environmental Carbon Dioxide in Insect Life. **Annu. Rev. Entom.**, v. 53, p. 161-178, 2008.
- GUERIN, P.J.; OLLIARO, P.; SUNDAR, S.; BOALAERT, M.; CROFT, S.L.; DESJEUX, P.; WASSUNA, M.K.; BRYCESON, A.D.M. Visceral Leishmaniasis: current status of control, diagnoses and treatment and a proposed research and development agenda. **Lancet Infect Dis**, 2: 494 – 501, 2002.
- GUHL, F. Chagas disease in Andean countries. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro,102 Suppl:129-38, 2007.
- GUHL,F.; SCHOFIELD, C.J. **Proceedings of the ECLAT-AMCHA International Workshop on Chagas Disease Surveillance in the Amazon Region**, Palmari, Brazil, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia, 174 pp. 2004
- GURGEL-GONÇALVES, R. **Filogeografia, morfometria e distribuição geográfica potencial de populações de *Rhodnius neglectus* (Hemiptera, Reduviidae) no Brasil**. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília, Brasília, 2008.
- HINDE, J. & DEMÉTRIO, C,G,B. Overdispersion: models and estimation. **In: Simpósio Nacional de Probabilidade e Estatística**, Caxambú-MG, 1998

HOMMA, A. K. O.; NOGUEIRA, O. L.; DE MENEZES, A. J. E. A.; DE CARVALHO, J. E. U.; NICOLI, C. M. L.; DE MATOS, G. B. Açai: Novos Desafios e Tendencias. **Amazônia: Ciência e Desenvolvimento**, v. 1, n. 2, p. 7-23. 2006.

INSTITUTO EVANDRO CHAGAS. acessado em 21 de abril de 2013, <http://www.iec.pa.gov.br/devidencia/chagas/pt/quest.htm>

JANSEN, A.M.; PINHO, A.P.S.; LISBOA, C.V.; CUPOLILLO, E.; MANGIA, R.H.; FERNANDES, O. The syvatic cycle of *Trypanosoma cruzi*: a still unsolved Puzzle. **Mem. Inst. Osw. Cruz**. Vol 94. Suppl I: 203-204, 1999.

JORNAL GLOBO. <http://g1.globo.com/pa/para/noticia/2012/11/pesquisa-do-dieese-revela-recuo-no-preco-do-acai-em-outubro.html>, 2012.

JUNQUEIRA, A.; ALBAJAR, R.; COURA, J.R. Doença de Chagas na Amazônia Brasileira. In COURA, J.R., **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**, Vol. 1, Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, p. 595-601, 2005.

KEESING, F.; HOLT, R.D.; OSTFELD, R.S. Effects of species diversity on disease risk. **Ecol. Lett**, 9, 485–498, 2006.

KLUG, J.C.F. In: MEYEN, F.J.F. Reise um die Erde, in **Den Jahren 1830, 1831, und 1832**, ausgeführt von F.J.F. Meyen. C.W. Eichhoff, Berlin, 1834.

KNIERIM, F. & RUBINSTEIN, P. The detection of Chagas' disease. A rapid haemagglutination test for special use in blood banks and epidemiological studies. **Vox Sanguinis**, v.18, n.3, p. 280-6, 1970.

KRAUSE, R.M. The origin of plagues: old and new. **Science**, 257: 1073-8. 1992.

KRUSE H.; KIRKEMO, A.M.; HANDELAND, K. Wildlife as source of zoonotic infections. **Emerg. Infec. Dis.**, 10(12): 2067-2072, 2004.

LABELLO BARBOSA, R. Transmissão oral do *Trypanosoma cruzi* pela polpa de açaí em camundongos, 2010

LABELLO BARBOSA, R. ; DIAS, V. L. ; PEREIRA, K. S. ; SCHMIDT, F. L. ; FRANCO, R. M. B. ; GUARALDO, A. M. A. ; ALVES, D. P. ; PASSOS, L. A. C. Survival in vitro and virulence of *Trypanosoma cruzi* in açaí pulp in experimental acute Chagas disease. **Journal of Food Protection**, v. 75, p. 601-606, 2012.”



- LAISON, R.; SHAW, J.J. The role of animals in the epidemiology of South American leishmaniasis. In: **Biology of the Kinetoplastida**, vol. 2 (ed. WHR Lumsen & DA Evans). London and New York: Academic Press, 1979.
- LANDIS, J.R. & KOCH, G.G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, 33: 159-174, 1977.
- LAPORTE, F.L. Essai d'une classification systématique de l'ordre des Hémiptères (Hémiptères Hétéroptères, Latr.). **Magazine de Zoologie** (Guérin) vol. 2, 88 pp, 1832.
- LARA, F.M. **Princípios da entomologia**. Piracicaba. Livroceres, 304pp. 1979
- LARA, F.M. **Princípios da entomologia**. São Paulo. Ed Ícone. 3ª ed. 331p. 1995
- LATREILLE, P. A. 'Insectes de l'Amérique recueillis pendant le voyage de MM. De Humboldt et 1811 Bonpland'. **Em Voyage aux régions équinoxiales du nouveau continent. Recueil d'observations de zoologie et d'anatomie comparée faites dans l'Océan Atlantique, dans l'intérieur du nouveau continent et dans la mer du Sud Pendant les années 1799, 1800, 1801, 1802 et 1803.** Paris, Chez F.Schoell et chez Du Jour, vol. 1, parte 2pp.197-397. 1799 -1803.
- LAURANCE, W.F. Edge effects in tropical Forest fragments: applications of a model for the design of nature reserves. **Biological Conservation** Washington: v. 57, p. 205-219, 1991
- LAZZARI, C. R., NÚÑEZ, J. A. The response to radiant heat and the estimation of the temperature of distant sources in *Triatoma infestans*. **J. Insect Physiol.**, v. 35, p. 525-529, 1989.
- LENT H.; WYGODZINSKY, P. Revision on the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. **Bull American Mus Nat Hist**, 163 (3): 123-520, 1979.
- LENT, H. Evolução dos conhecimentos sobre vetores da doença de Chagas 90 anos após sua descoberta. **Mem. Inst. Osw. Cruz**, Rio de Janeiro, v.94, Suppl I: 89-92, 1999.
- LILIENFELD, A.M. & LILIENFELD, D.E. Foundations of epidemiology. New York, **Oxford University Press**, 1980.
- LIMA, V.S.; INIGUEZ, A.M.; OTSUKI, K.; FERREIRA, L.F.; ARAÚJO, A.; VICENTE, A.C.; JANSEN, A.M. Chagas disease in ancient hunter-gatherer populations. **Emerg. Infect. Dis.** 14: 1001-1002, 2008.

LOPES, E.R.; CHAPADEIRO, E. Pathogenesis of American Trypanosomiasis. In MAUDLIN, I.; HOLMES, P.H; MILES, M.A. (eds). **The trypanosomes**. CABI Publishing. London, p. 303-330, 2004.

LOROSA, E.S.; ANDRADE, R.E.; PUJOS-LUZ, J.R.; JURBERG, J.; CARCAVALLO, R.U. Determinação das fontes alimentares e da infecção natural do *Triatoma jurbergi* (Carcavallo, Galvão & Lent, 1998) *Triatoma vanda*(Carcavallo, Jurberg, Rocha, Galvão, Noireau & Lent, 2001) capturados no estado do Mato Grosso, Brasil. **Rev Bras Zoociências**,5 (2): 253-265,2003.

LUITGARDS-MOURA, J.F.; PEREIRA, J.B.; COSTA, J.; ZAUZA, P.L.; ROSA-FREITAS, M.G. On the possibility of autochthonous chagas disease in Roraima, Amazon Region, Brasil, 2000-2001. **Rev Inst Med Trop S Paulo**, 47 (1): 45-54, 2005.

LUQUETTI, A.O.; RASSI, A. Diagnóstico Laboratorial da infecção do *Trypanosoma cruzi* . In: BRENER, Z.; ANDRADE, Z.; BARRAL-NETO, M. **Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas**. 2<sup>a</sup>. ed, Guanabara Koogan,Rio de Janeiro, p.344-378, 2000.

MACEDO, A.M.; PENA, S.D.J. Genetic variability of *Trypanosoma cruzi*: implications for the pathogenesis of Chagas disease. **Parasitol. Today**14: 119-124, 1998.

MAGALHÃES, B.M.L.; COELHO, L.I.A.R.C.; MACIEL, M.G.; FERREIRA, J.; FERREIRA, M.B.B.F.; UMEZAWA, E.S.; COURA, J.R.; GUERRA, J.A.O.; BARBOSA, M.G.V. Serological survey for Chagas disease in the rural areas of Manaus, Coari, and Tefé in the Western Brazilian Amazon. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 44(6):697-702, nov-dez, 2011

MAGALHÃES, L. C.; PIMENTEL, L. C.; SILVA R. S.; RODRIGUEZ, I.C., FÉ, F. A. A.; FÉ, N. F.; GUERRA, J. A. O., SILVEIRA, H.; BARBOSA, M. G. V. Aspectos bioecológicos de Triatomíneos e investigação de infecção natural por *Trypanosoma cruzi* em área rural de Manaus, Amazonas. **27<sup>a</sup> Reunião de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas e 15<sup>a</sup> Reunião de Pesquisa Aplicada em Leishmanioses. P.24. Uberaba-MG, 2011**

MALAFAIA, M.; RODRIGUES, A.S.L. Centenário do descobrimento da doença de Chagas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Uberaba**, 43(5):483-485, 2010.

MASCARENHAS, B. M. Triatomíneos da Amazônia: ocorrência de Triatomíneos na área do reservatório da Hidrelétrica de Tucuruí, Pará, e observações sobre o ciclo evolutivo de *R.robustus*, Larrousse, 1927 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Acta Amazonica**, v. 16/17, p. 607-616, 1986.

- MAUSNER, J.S.; KRAMER, S. **Introdução à Epidemiologia**. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1990.
- MILES, M.A. Orally acquired Chagas disease: lessons from an urban school outbreak. **J Infect Dis** 1; 201(9):1282-4, 2010.
- MILES, M.A.; LLEWELLYN, M.S.; LEWIS, M.D.; YEO, M.; BALEELA, M.R.; FITZPATRICK, S.; GAUNT, M.W.; MAURICIO, I.L. The molecular epidemiology and phylogeography of *Trypanosoma cruzi* and parallel research on *Leishmania*: looking back and to the future. **Parasitology** 136:1509–1528, 2009.
- MILES, M.A.; SOUZA, A.; POVOA, M.; SHAW, J.J.; LAINSON, R.; TOYE, P. Isoenzymic heterogeneity of *Trypanosoma cruzi* in the first autochthonous patients with Chagas' disease in Amazonian Brazil. **Nature** 272: 819-82, 1978
- MILES, M.A.; SOUZA, A.A.; PÓVOA, M.M. Chagas' disease in the Amazon Basin. III. Ecotopes of ten triatomine species (Hemiptera, Reduviidae) from the vicinity of Belém, Pará State, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, 18:266-278, 1981.
- MILES, M.A.; YEO, M.; GAUNT, M.W. Epidemiology of American Trypanosomiasis. In: MAUDLIN, I.; HOLMES, P.H.; MILES, M.A., (editors). **The Trypanosomiasis**. Oxfordshire: CABI Publishing, p. 243-251. 2004.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL/SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 38: Suplemento III, 2005.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL/SVS. **Doença de Chagas Aguda relacionada à ingestão de caldo de cana em Santa Catarina. Nota Técnica - 29/3/2005**. [http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar\\_texto.cfm?idtxt=21267](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=21267)
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. 1998. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. 5ª ed. Rev. Ampl. Cap. 5.7. Br. 1-12 p.
- MINOLI, S.A. & LAZZARI, C.R. Take-off activity and orientation of triatomines (Heteroptera: Reduviidae) in relation to the presence of artificial lights. **Acta Tropica** 97:324-330, 2006
- MONCAYO, A. Chagas Disease: Current Epidemiological Trends after the Interruption of Vectorial and Transfusional Transmission in the Southern Cone Countries. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98(5): 577-591, 2003.

- MONCAYO, A. Progress towards interruption of transmission of Chagas disease. **Mem. Inst. Osw. Cruz**. Rio de Janeiro, v. 94 Suppl. I: 401-404, 1999.
- MONCAYO, A. & SILVEIRA, A.C. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. **Mem Inst Oswaldo Cruz** **104**(Suppl. I): 17-30, 2009.
- MONTEIRO, F.A.; LAZOSKI, C.; NOIREAU, F.; SOLÉ-CAVA, A.M. Allozyme relationships among ten species of Rhodniini, showing paraphyly of *Rhodnius* including *Psammolestes*. **Med Vet Entomol**, 16: 83–90, 2002.
- MONTEIRO, W.M.; MAGALHÃES, L.K.; SANTANA FILHO, F.S.; BORBOREMA, M.; SILVEIRA, H.; BARBOSA, M.G.V. Trypanosoma cruzi TcIII / Z3 genotype as agent of an outbreak of Chagas disease in the Brazilian Western Amazonia. **Tropical Medicine and International Health** 15: 9 pp 1049–1051, 2010
- NAIFF, M.F.; NAIFF, R.D.; BARRETT, T.V. Vetores selváticos de doença de Chagas na área urbana de Manaus (AM): atividade de vôo nas estações secas e chuvosas. **Rev Soc Bras Med Trop** 31: 103-105. 1998
- NAIFF, R, D.; BARRETT, T. V.; ARIAS, J. A. Trypanosoma cruzi nas glândulas anais de Didelphis marsupialis: primeiro registro de infecções naturais. In: **Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia**, 10., 1987. Salvador. Resumos. Salvador: Sociedade Brasileira de Parasitologia, 1987. p. 234-235.
- NEIVA, A. & LENT, H. Sinopse dos Triatomídeos. **Revista de Entomologia** 12. São Paulo/Rio de Janeiro: T. Borgmeier, p. 61-92, 1941
- NÓBREGA, A.A.; GARCIA, M.H.; TATTO, E.; OBARA, M.T.; COSTA, E.; SOBEL, J.; ARAUJO, W.N., 2009. Oral transmission of Chagas Disease by consumption of açai Palm Fruit, Brasil. *Emerging Inf Diseases*. 15 (4): 653 – 655
- NOIREAU, F. & DUJARDIN J-P. Flight and nutritional status of sylvatic *Triatoma sordida* and *Triatomaguasayana*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **96**:385-389, 2001.
- NOIREAU, F.; ABAD-FRANCH, F.; VALENTE, S.A.S.; DIAS-LIMA, A.; LOPES, C. M.; CUNHA, V.; VALENTE, V.C.; PALOMEQUE, F.S.; CARVALHO-PINTO, C.J.; SHERLOCK, I.; AGUILAR, M.; STEINDEL, M.; GRISARD, E.C.; JURBERG, J. Trapping Triatominae in sylvatic habitats. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 97: 61-63, 2002.

NOIREAU, F.; BOSSENO, M.F.; CARRASCO, R.; TELLERIA, J.; VARGAS, F.; CAMACHO, C.; YAKSIC, N.; BRENIÈRE, F. Sylvatic triatomines (Hemiptera: Reduviidae) in Bolivia. Trends towards domesticity and possible infection with *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). **Journal of Medical Entomology**, 32: 594-598, 1995.

NOIREAU, F.; CARBAJAL-DE-LA-FUENTE, A.L.; LOPES, C.M.; DIOTAIUTI, L. Some considerations about the ecology of Triatominae. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** 77(3):431-6, 2005

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS - Convencion marco de las naciones unidas sobre el cambio climático, 1992. <http://unic.un.org/imucms/rio-de-janeiro/64/39/a-onu-e-o-meio-ambiente.aspx>

OPAS/OMS – **Manual de capacitação na detecção de *Trypanosoma cruzi* para microscopistas de malária e laboratoristas da rede pública**. 2a ed. 277 p, 2011

OPAS/OMS. **Guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de Chagas aguda transmitida por alimentos**. PANAFTOSA, Rio de Janeiro, 92 p., 2009.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPS). **Reunión Internacional sobre Vigilancia y Prevención de la Enfermedad de Chagas en la Amazonía. Implementación de la Iniciativa Intergubernamental de Vigilancia y Prevención de la Enfermedad de Chagas en la Amazonía(AMCHA),2004.**

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **AMCHA: Iniciativa de los países amazónicos para la prevención y Control de la Enfermedad de Chagas.**: Organización Panamericana de la Salud.Washington DC, 2004.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas em las Américas**. Organización Panamericana de la Salud.Washington DC, 2006.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **Guía de Evaluación de los procesos de control de triatominos y del control de la transmisión transfusional de *T. cruzi***.Montevideo, 2002.

OSTERMAYER, A.L.; PASSOS, A.D.C.; SILVEIRA, A.C.; FERREIRA, A.W.; MACEDO, V.; PRATA, A.R. O Inquérito Nacional de Soroprevalência de avaliação do controle da doença de Chagas no Brasil (2001-2008). **Rev Soc Bras Med Trop**, 44(supl.2): 108-121, 2011.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). XVI Reunión de la Comisión Intergubernamental de la Iniciativa del Cono Sur. Brasilia. Junio de 2007. **Disponível em: [www.paho.org/spanish/ad/dpc/cd/dch-incosur-xv.htm/](http://www.paho.org/spanish/ad/dpc/cd/dch-incosur-xv.htm/)**.

PANTOJA, R.K.S., LEITE, M.A.O., PAUXIS, B.T., PINTO, A.Y.N., VALENTE, S.A.S., VALENTE, V.C. Relato de três casos autóctones de doença de Chagas aguda no Estado do Pará. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, XXXVI, 2000, São Luís-MA, **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, São Luís-MA: 2000. 33: 386, TL 110.

PASSOS, L. A. C. ; GUARALDO, A. M. A. ; LABELLO BARBOSA, R. ; DIAS, V. L. ; PEREIRA, K. S. ; SCHMIDT, F. L. ; FRANCO, R. M. B. ; ALVES, D. P. Sobrevivência e infectividade do *Trypanosoma cruzi* na polpa de açaí: estudo *in vitro* e *in vivo*. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 21, p. 223-232, 2012

PASSOS, A.D.C.; SILVEIRA, A.C. Síntese dos resultados dos inquéritos nacionais in: **História sobre a Doença de Chagas no Brasil**.RSBMT. V., 44: Suplemento II, p47-50, 2011.

PATTERSON, J.S.; BARBOSA, S.E.; FELICIANGELI, M.D. On the genus *Panstrongylus*(Berg 1879): Evolution, ecology and epidemiological significance. **Acta Trop**, 110: 187 – 199, 2009.

PEREIRA, K. S.; BARBOSA, R. L.; PASSOS, L. A. C.; AGUIAR, F. S.; ROGEZ, H.L.; GONZALEZ, O. N.; NOYA, B. A. *Trypanosoma cruzi*. In: LUCY J. ROBERTSON (Norwegian School of Veterinary Science, Oslo, Norway) and HUW V. SMITH (Scottish Parasite Diagnostic Laboratory, Stobhill Hospital, Glasgow, Scotland, UK). (Org.). **Foodborne Protozoan Parasites**. 1ed.New York: Nova Science Publishers, v. 1, p. 189-216. 2012

PEREIRA, K.S.; SCHMIDT, F.L.; GUARALDO, A.M.A.; FRANCO, R.M.B.; DIAS, V.L.; PASSOS, L.A.C. Chagas disease as a foodborne illness. **J Food Protection**. 72 (2): 441 – 446,2009.

- PINTO, A.Y., VALENTE, S.A., VALENTE, V.C. Emerging acute Chagas disease in Amazonian Brazil: case reports with serious cardiac involvement. **The Brazilian Journal of Infection Disease** 8(6):454-60, 2004.
- PINTO, A.Y.N., FERREIRA, A.G., VALENTE, V.C., HARADA, G.S., VALENTE S.A.S. Urban outbreak of acute Chagas disease in Amazon region of Brazil: four-year follow-up after treatment with benznidazole. **Revista Panamericana de Salud Publica** 25(1):77–83, 2009.
- PINTO, A.Y.N., HARADA, G., VALENTE, S.A.S., VALENTE, V.C., ARAÚJO, J.E.A., GOMES, F.S. Cardiopatia chagásica aguda em microepidemia familiar em Abaetetuba, PA. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 31:82-83, 1999.
- PINTO, A.Y.N., HARADA, G.S., VALENTE, V.C., ABUD, J.E., GOMES, F.D., SOUZA, G.C., VALENTE, S.A.S. Cardiac attacks in patients with acute Chagas disease in a family micro-outbreak, in Abaetetuba, Brazilian Amazon. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 34(5):413- 419, 2001
- PINTO, A.Y.N., VALENTE, S.A.S., VALENTE, V.C., FERREIRA JUNIOR, A.G., COURA, J.R. Fase aguda da doença de Chagas na Amazônia brasileira: estudo de 233 casos do Pará, Amapá e Maranhão observados entre 1988 e 2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**.41:602-614, nov-dez, 2008.
- POSSAS, C.A.& MARQUES, M.B. Health transitions and complex systems: a challenge to prediction? **Ann. N.Y. Acad. Sci**, 740: 285-961, 1994.
- PÓVOA, M.; NAIFF, R.D.; NAIFF, A.M.F.; BIANCARD, C.B.; MILES, M.A. Chagas' disease in the Amazon Basin IV. Host records of *Trypanosoma cruzi* zymodemes in the States of Amazonas and Rondonia, Brazil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**,78(5): 479-487, 1984.
- PRATA, A. Transição epidemiológica no Brasil. **Cadernos de saúde pública**, Rio de Janeiro, n.8, p. 168-175, 1992.
- PRATA, A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. **The Lancet Infectious Diseases**, 1 (2): 92-100, 2001.
- PRATA, A. Evolution of the clinical and epidemiological knowledge about Chagas disease 90 years after its discovery. **Mem. Inst. Osw. Cruz**.v. 94Suppl. I: 81-88. RJ, 1999.
- PRATA, A.; DIAS, J.C.P; COURA, J.R.História sobre a Doença de Chagas no Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**. Uberaba, 44 (supl.2): 6-11, 2011.

PRIMACK, R.B. ; RODRIGUES, E. **Biologia da Conservação**. Efraim Rodrigues, Londrina, Paraná, 328 p, 2011

RASSI, Jr. A; MARIN-NETO, J.A. Chagas Disease. **The lancet**. v. 375, 1388-1402, 2010

RELATÓRIO TÉCNICO Reunião Internacional sobre Vigilância e Prevenção da Doença de Chagas na Amazônia. Implementação da Iniciativa Intergovernamental de Vigilância e Prevenção da doença de Chagas na Amazônia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 38(1): 82-89,2005.

RELATÓRIO TÉCNICO. 2a Reunião da Iniciativa Intergovernamental de Vigilância e Prevenção da Doença de Chagas na Amazônia (AMCHA). Cayenne, Guiana Francesa, 2-4 novembro 2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 39(3): 311-317,2006.

RODRIGUES, B. A.; MELO, G. B. Contribuição ao estudo da tripanosomíase americana. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 37, n. 1, p. 77-90, 1942.

RODRIGUES, E. Edge effects on the regeneration of forest fragments in south Brazil. Cambridge 1998. 172f. Tese - **Harvard University**

RODRIGUES, I.C.R.; SOUZA, A.A.A.; TERCEROS, R.; VALENTE, S.A.S. Doença de Chagas na Amazônia: I. Registro de oito casos autóctones em Macapá, AP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 21 (4):193-197, 1988

ROGEZ, H. **Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação**. Belém: EDUFPA, 2000.

ROMAÑA, C.A.; PIZARRO, J.C.N.; RODAS, E.; GUILBERT, E. Palm trees as ecological indicators of risk areas for Chagas disease. **Trans R Trop Med Hyg**, 93: 594 – 595,1999.

ROQUE, A.L.R.; JANSEN, A.M. The importance of sentinel domestic animals to identify risk areas to the emergence of Chagas disease. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 41, 191–193,2008.

ROTHHAMMER, F.; ALLISON, M.J.; NUNEZ, L.; STADEN VAND ARRIZA, B. Chagas disease in pre-Columbian South America. **Am J Phys Anthropol**, 68: 495–498, 1985.

SABELLIS, M.V. & SCHIPPERS, P. Variable wind directions and anemotactic strategies of searching for an odour plume. **Oecologia**. 63: 225-228. 1984



SALVATELLA, R. Una visión de la enfermedad de Chagas desde su propia historia. In: Silveira AC, editor. La enfermedad de Chagas a la puerta de los 100 años del conocimiento de una endemia americana ancestral. **Organización Panamericana de la Salud/Fundación Mundo Sano**, Buenos Aires, p. 19-22, 2007.

SARQUIS, O.; SPOSINA, R.; OLIVEIRA, T.G.; MAC CORD, JR.; CABELLO, P.H.; BORGES-PEREIRA, J.; LIMA, M.M. Aspects of peridomestic ecotopes in rural areas of Northeastern Brazil associated to triatomine (Hemiptera, Reduviidae) infestation, vectors of Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 101:143-147, 2006.

SCHOFIELD, C. J. Overview: evolution of the *Triatominae*. In: SCHOFIELD, C.J.; PONCE, C.(editors). **Proceedings of the Second International Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae**. INDRE, México, p. 46-48, 1998.

SCHOFIELD, C. J.; GALVÃO, C.J. Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. **Acta Tropica**, v.110, p.88–100, 2009.

SCHOFIELD, C.J.; DIAS, J.C.P. Souther Cone Initiative against Chagas disease. **Adv Parasitol**, 42: 1-27, 1999.

SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE PÚBLICA DO PARÁ. – Doença de Chagas aguda, aspectos epidemiológicos, diagnóstico e tratamento. **Guia de Consulta Rápida para Profissionais de Saúde**, 32p., 2009.

SERVICE, M.W. Agricultural development and arthropodborne diseases: a review. **Rev. Saude Pública**, 25, 167–178, 1991.

SHANNON, R. Methods for collecting and feeding mosquitos in jungle yellow fever studies. **Am. J. Trop. Med.** 19: 131- 140, 1939.

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

SHERLOCK, I.A.; CARCAVALLO, R.U.; GIRÓN, I.G. List of material and experimental flagellate infections in several triatominae species, p. 289-298. In: CARCAVALLO, R.U.; GIRÓN, I.G.; JUBERG, J.; LENT, H. (eds.). **Atlas dos vetores da Doença de Chagas nas Américas**, Fiocruz. RJ, v. 13, n. 4, p. 585-593, out./dez., 1997.

SHIKANAI-YASUDA, M. A; MARCONDES, B.C; GUEDES, L.A.; SIQUEIRA, G.S; BARONE, A.A.; DIAS, J.C.P.; AMATO NETO, V.; TOLEZANO, J.E.; PERES, B.A.;

- ARRUDA Jr, E.R.; LOPES, M.H.; SHIROMA, M.; CHAPADEIRO, E. Possible oral transmission of acute chagas disease in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 33, n. 5, p. 351-357, 1991.
- SILVA, L.J. O conceito de espaço na epidemiologia das doenças infecciosas. **Cadernos de saúde pública**, Rio de Janeiro. 1997
- SILVEIRA, A, C.; PASSOS, A.D.C. Altos índices de prevalência sorológica de Infecção chagásica em área da Amazônia. **Rev Soc Bras Med Trop**; 19: 45, 1986.
- SILVEIRA, A.C. Enfoque de riesgo en actividades de control de triatomíneos. **Rev Patol Trop**, 33:193-206, 2004.
- SILVEIRA, A.C.. “Guia para a Vigilância Epidemiológica da Doença de Chagas na Região Amazônica e e sua Implantação”. **Organização Pan-Americana da Saúde (OPS)**, Brasília, 17p., 2006.
- SILVEIRA, A.C.; REZENDE, D. F. Epidemiologia e controle da transmissão vetorial da doença de Chagas no Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**, 27:11-22, 1994.
- SILVEIRA, A.C.; SILVA, G.R.; PRATA, A. História sobre a Doença de Chagas no Brasil, o Inquérito de soroprevalência da infecção chagásica humana (1975-1980). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Uberaba, v. 44 (2): 33-39, 2011.
- SILVEIRA, A.C.S. **O controle da doença de Chagas nos países do Cone Sul da América. História de uma iniciativa internacional: 1991/2001**. Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, Organização Pan-americana de Saúde, Coord. A.C. Silveira e cols. P. 15-43, 2002.
- SIQUEIRA, A. F. Estudos sobre a reação de precipitina aplicada à identificação de sangue ingerido por triatomíneos. **Rev. Inst. Med. Trop.**, 2: 41-63, 1960.
- SIQUEIRA-BATISTA, R. Patologia. In SIQUEIRA-BATISTA, R.; CORREA, A.D.; HUGGINS, D.W. (eds) **Moléstia de Chagas**, Cultura Médica, Rio de Janeiro, p 76-90, 1996.
- SOBREVILA, C. & BATH, P. Evaluación ecologica rapida- un manual para usuario de América latina y el Caribe: programa de ciências para América Latina. **The Nature Conservancy**, ed. Preliminar, 232p, 1992.
- SOSA-ESTANI, S.; SEGURA, E.L. El control de la enfermedad De Chagas en Argentina. In: SILVEIRA, A.C.(ed). **La enfermedad de Chagas a la puerta de los 100 Años del conocimiento de una endemia americana ancestral**. Organización Panamericana de la Salud/Fundación Mundo Sano, Buenos Aires, p. 179-86, 2007.

SOUSA, M. A. Morphobiological characterization of *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) and its distinction from other trypanosomes. **Mem. Int. Osw. Cruz**, RJ, v. 94Suppl. I: 205-210, 1999.

SOUZA, A.A.A.; SILVEIRA, F.T.; MILES, M.A.; POVOA, M.M.; LIMA, J.A.N.; VALENTE, A. S. Epidemiologia de um caso de doença de Chagas na Ilha do Mosqueiro – Pará. **Rev Soc Bras Med Trop**, 21 (4): 187-192, 1988.

STEINDEL, M.; KRAMER.; PACHECO, L.; SCHOLL, D.; SOARES, M. D. E.; MORAES, M. H.; EGER, I.; KOSMANN, C.; SINCERO, T. C.; STOCO, P. H.; MURTA, S. M. D. E.; CARVALHO-PINTO, C. J.; GRISARD, E. C. Characterization of *Trypanosoma cruzi* isolated from humans, vectors, and animal reservoirs following an outbreak of acute human Chagas disease in Santa Catarina State, Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 60, n. 1, p. 25-32, 2008.

SUTHERST, R.W. The vulnerability of animal and human health to parasites under global change. **Int J Parasitol**, 31: 933-948, 2001.

TATTO, E.; SANTOS, S.O. Clinical and epidemiology presentation of acute Chagas disease cases in outbreaks related to oral transmission. In: **International meeting on emerging disease and surveillance**, Viena. – ISID, 2007.

TEIXEIRA, A.R.L.; MONTEIRO, O.S.; REBELO, J.M.; ARGANÁRAZ, E.R.; VIEIRA, D.; LAURIA-PIRES, L.; NASCIMENTO, R.; VEXENAT, C.A.; SILVA, A.R.; AULT, S.K.; COSTA, J.M. Emerging Chagas disease: trophic network and cycle of transmission of *Trypanosoma cruzi* from palm trees in the Amazon. **Emerging Inf Diseases**, 7 (1): 100-112, 2001.

THE NATURE CONSERVANCY (TNC). **Rapid Ecologic Evaluation**. Washington, D.C, 207 p., 1992.

THOMANZINI, M. J. & THOMANZINI, A.P. B. W. A fragmentação florestal e a diversidade de insetos nas florestas tropicais úmidas. **Circular Técnica**, 57, 21p. Rio Branco: EMBRAPA Acre, 2000

VALENTE, S. A. S. & VALENTE, V. C. Microepidemia Familiar com Três Casos Agudos de Doença de Chagas em Belém Estado do Pará. In: XL CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL - I ENCONTRO DE MEDICINA TROPICAL DO CONE SUL, 2005, 2005, Florianópolis/SC.. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 38. p. 413-413, 2005

VALENTE, S. A. S. **Estudos dos surtos de doenças de Chagas ocorridas no Pará e Amapá**: análise parasitológica, sorológica e molecular. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária) – Rio de Janeiro, RJ, Fundação Instituto Oswaldo Cruz, 2008, 162p.

VALENTE, S. A. S., VALENTE, V. C., PINTO, A. Y. N., CÉSAR, M.J.B., SANTOS, M.P., MIRANDA, C.O.S., CUERVO, P., FERNANDES, O., Analysis of an acute Chagas disease outbreak in the Brazilian Amazon: human cases, triatomines, reservoir mammals and parasites. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** **103**:291-297, 2009.

VALENTE, S. A. S.; VALENTE, V. C.; CÉSAR, M. J. B.; SANTOS, M. P. Registro de 15 casos autóctones de doença de Chagas no Estado do Amapá com evidências de transmissão oral. **Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 33, Belo Horizonte, MG, Programa e Resumos dos Temas Livres e Posters. Tema Livre 056, p.53, 1997.

VALENTE, S.A.S., LEÃO, R.Q., VALENTE, V.C., PINTO, A.Y.N., CRESCENTE, J.A.B., PARDAL, P.P.O., VALE, T.J.L. Microepidemia familiar com 11 casos de doença de Chagas em Abaetetuba, Estado do Pará com suspeita de transmissão oral. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **31**:83-84, 1999.

VALENTE, S.A.S., PIMENTEL, P.S., VALENTE, V.C., PINTO, A.Y. N., SOUZA, G.C.R., CARVALHO, L.S. Microepidemia familiar de doença de Chagas em Santarém, primeiro registro no Oeste do Pará.. Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, XXXVII, Salvador, BA, 11 a 15/03/2001. AO 024, **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **34**:19-20, 2001.

VALENTE, S.A.S., VALENTE, V.C., NEVES, A.Y.P., RODRIGUES, C.A. 12 casos agudos e autóctones de doença de Chagas no Estado do Pará em 1996: a repercussão da implantação de um sistema de Vigilância na Amazônia Brasileira. **In: Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **33**, 1997, Belo Horizonte, Resumos. Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 016:36.

VALENTE, S.A.S.; COSTA, V.G.; SOUZA, A.A.A.; LIMA, J.A.N. Reservatórios e vetores silvestres de *T.cruzi* em Barcarena - PA. **Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, XXVIII, Belém - Pará. Programa e Resumos dos Temas Livres e Posters. p. 37, Temos Livres n° 82,1992.

VALENTE, S.A.S.; VALENTE, V.C.; NETO, H. F. Considerations on the epidemiology and transmission of Chagas disease in the Brazilian Amazon. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 94 (Suppl 1): 395 – 398, 1999.

VALENTE, S.A.S.; VALENTE, V.C.; PINTO, A.Y.N.; FRAIHA NETO, H. Microepidemia familiar e transmissão oral da doença de Chagas na Amazônia brasileira. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 95 (supl. II): 69-72, 2000.

VALENTE, V. C., VALENTE, S. A. S., PINTO, A. Y. N. Microepidemia com 10 casos de doença de Chagas em Ponta de Pedras Região do Marajó, Pará com suspeita de transmissão oral. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, p.164, 2002. Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical,38, Foz do Iguaçu, PR, 24 a 28/02/2003.

VALENTE, V. C.; VALENTE, S. A. S.; NOIREAU, F.; CARRASCO, H. J.; MILES, M. A. Chagas´ disease in the Amazon Basin: association of *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera: Reduviidae) with domestic pigs. **Journal of Medical Entomology**, v. 35, p. 99-103, 1998.

VALENTE, V.C. **Estudo genotípico de *trypanosoma cruzi*: epidemiologia e caracterização molecular de isolados do homem, triatomíneos e mamíferos silvestres do Pará, Amapá e Maranhão.**Tese de Doutorado, UFPA, Belém-PA, 2011

VALENTE, V.C. Potential for domestication of *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) in the municipality of Muaná, Marajó Island, State of Pará, Brasil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 94 (Suppl 1): 399-400,1999.

VALENTE, V.C., TELES, A.P., VALENTE, S.A.S., PARDAL, P.P.O. Episódio familiar com 4 casos de doença de Chagas autóctone em Santana, Estado do Amapá. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 31:60, 1998.

VELAZCO, O.C.; RIVAS, B.S. **Apuntes para la Historia de la Enfermedad de Chagas en México [Monografía]**. Faculdade de Medicina da Universidade Nacional do México,México, DF, 2007.

VINHAES, M. C.; DIAS, J. C. P.Doença de Chagas no Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 16(Sup. 2):7-12, 2000.

VITTA, A.C.R. **Comportamento Sexual de *Triatoma brasiliensis* (Reduviidae: Triatominae).** Tese de doutorado. Centro de Pesquisas René Rachou. Belo Horizonte, 2009

VOLLER, A.; BIDWELL, D. E.; BARTLETT, A. Enzymeimmunoassays in diagnostic medicine. Theory and practice. **Bulletin of the World Health Organization**, Geneve, v.53, n.1, p.55-65, 1976.

WALDMAM, E.A.; SILVA, L.J.; MONTEIRO, C.A. Trajetória das doenças infecciosas: da eliminação da poliomielite à reintrodução do cólera. **IESUS**: 8 (3) jul/set. p 5-47, 1999.

WERNECK, G.L.; MAGUIRE, J.H. Spatial modeling using mixed models: an ecologic study of visceral leishmaniasis in Teresina, Piaui State, Brazil. **Cad Saude Publica**, 18: 633-637, 2002.

WERNECK, G.L.; RODRIGUES, J.R.L.; SANTOS, M.V.; ARAÚJO, I.B.; MOURA, L.S.; LIMA, S.S.; GOMES, R.B.B.; MAGUIRE, J.H.; COSTA, C.H.N. The burden of Leishmania chagasi infection during an urban outbreak of visceral leishmaniasis in Brazil. **Acta Tropica**, 83: 13-18, 2003.

WOLFE, N.D. "Deforestation, Hunting and the Ecology of Microbial Emergence". **Global Change & Hum. Health**, 1(1):10-25, 2000

WOLFE, N.D.; DUNAVAN, C.P.; DIAMOND, J. Origins of major human infectious diseases. **Nature**, 447:279-283, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Control of Chagas disease**. World Health Organization, Geneva. (Technical Report Series, 905), 2002.

XAVIER, S.S.; SOUSA, A.S.; ALBAJAR-VINAS, P.; JUNQUEIRA, A.C.V.; BÓIA, M.N.; COURA, J.R. Cardiopatia chagásica crônica no Rio Negro, Estado do Amazonas. Relato de três novos casos autóctones, comprovados por exames sorológicos, clínicos, radiográficos do tórax, eletro e ecocardiográficos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 39(2): 211-216, 2006.

YEO, M.; ACOSTA, N.; LLEWELLYN, M.; SANCHEZ, H.; ADAMSON, S.; MILES, G.A.; LOPEZ, E.; GONZALEZ, N.; PATTERSON, J.S.; GAUNT, M.W.D.E.; ARIAS, A.R.; MILES, M.A. Origins of Chagas disease: Didelphis species are natural hosts of *Trypanosoma cruzi* I and armadillos hosts of *Trypanosoma cruzi* II, including hybrids. **International Journal of Parasitology**, 35(2):225-33, 2005.

YOSHIDA, N. *Trypanosoma cruzi* infection by oral route. How the interplay between parasite and host components modulates infectivity. **Parasitol. Int.**, 57, 105-109. 2008

ZELEDÓN, R.; MORALES, J.A.; SCALLY, M.; TORRES, J.; ALFARO, S.; GUTIÉRREZ, H.; VARGAS, J.A. The finding of *Rhodnius pallescens* (Barber, 1932) (Reduviidae: Triatominae) in palm trees (*Attalea butyracea*) in North Costa Rica. **Bol Mal Salud Amb**, 46 (1): 15 – 20, 2006.

ZELEDÓN, R.; UGALDE, J.A.; PANIAGUA, L.A.. Entomological and ecological aspects of six sylvatic species of triatomines (Hemiptera, Reduviidae) from the collection of the National Biodiversity Institute of Costa Rica, Central America. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 96: 757-764, 2001

ZINGALES, B.; ANDRADE, S.G.; BRIONES, M.R.; CAMPBELL, D.A.; CHIARI, E.; FERNANDES, O.; GUHL, F.; LAGES-SILVA, E.; MACEDO, A.M.; MACHADO, C.R.; MILES, M.A.; ROMANHA, A.J.; STURM, N.R.; TIBAYRENC, M.; SCHIJMAN, A.G. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends tci to tcv. Second Satellite Meeting. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 104(7):1051-4, 2009.

ZINGALES, B.; STOLF, B.; SOUTO, R.P.; FERNANDES, O.; BRIONES, M.R.S. Epidemiology, Biochemistry and Evolution of *Trypanosoma cruzi* Lineages based on RNA Sequences. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 94 (suppl I): 159-164, 1999.

# 11. Anexos

## Anexo 1: Ficha de Investigação de Doença de Chagas Aguda - SINAN

**SINAN**  
SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO

República Federativa do Brasil  
Ministério da Saúde

Nº

**FICHA DE INVESTIGAÇÃO DOENÇA DE CHAGAS AGUDA**

**CASO SUSPEITO:** Dados epidemiológicos compatíveis quando clínico sugestivo, com exame parasitológico direto negativo ou não realizado

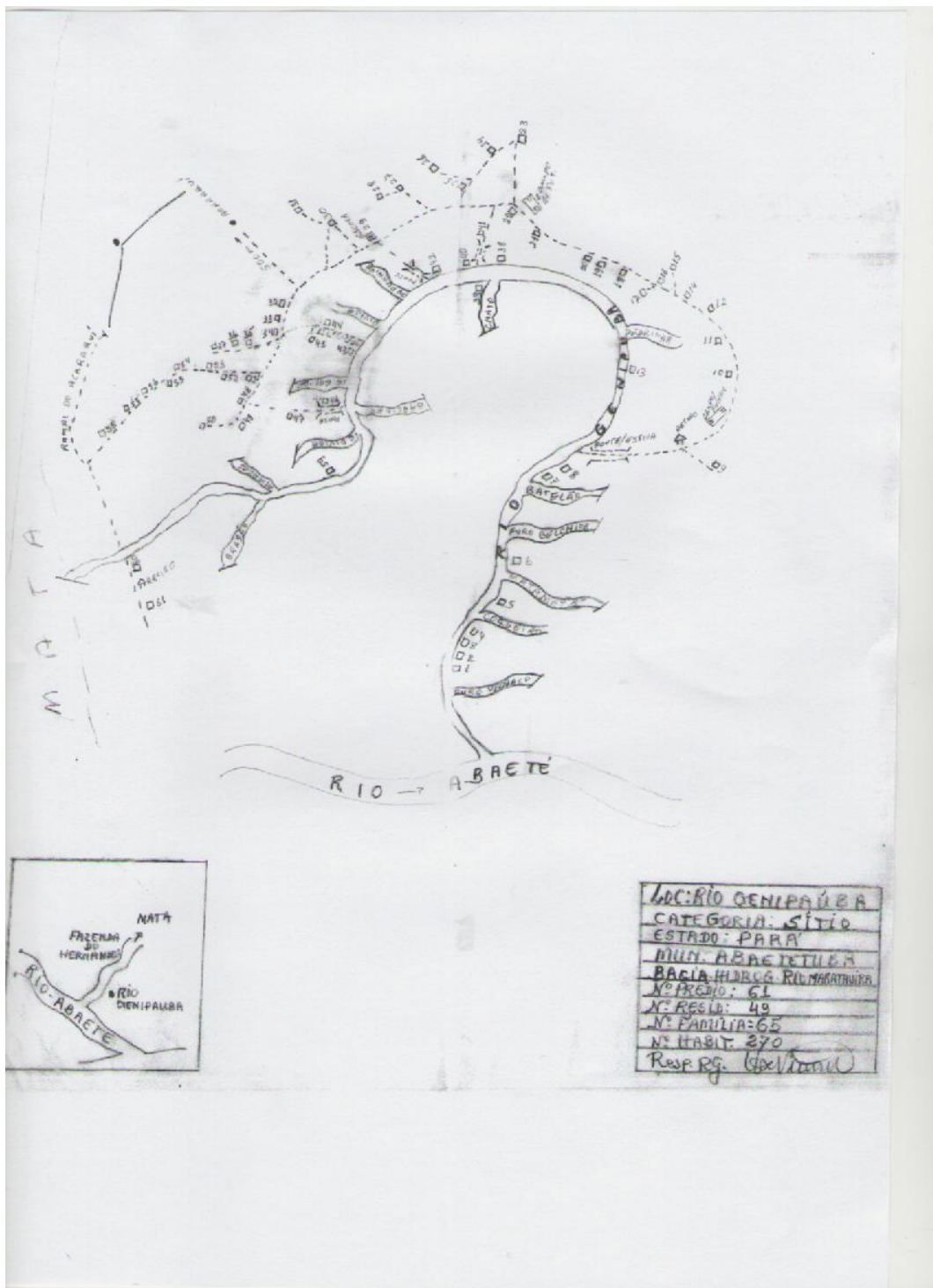
**CASO CONFIRMADO:** Paciente com exame parasitológico direto positivo com ou sem sintomas OU achados necroscópicos positivos OU Presença de anticorpos anti *T. cruzi* classe IgM no sangue periférico.

Dados Gerais	1 Tipo de Notificação <span style="float: right;">2 - Individual</span>		2 Agravado/doença <b>DOENÇA DE CHAGAS AGUDA</b>		Código (CID10) <b>B 57.1</b>	3 Data da Notificação
	4 UF	5 Município de Notificação			Código (IBGE)	
	6 Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora)				Código	7 Data dos Primeiros Sintomas
	8 Nome do Paciente					9 Data de Nascimento
Notificação Individual	10 (ou) Idade 1 - Hora 2 - Dia 3 - Mês 4 - Ano		11 Sexo M - Masculino F - Feminino I - Ignorado	12 Gestante 1 - 1º trimestre 2 - 2º trimestre 3 - 3º trimestre 4 - Idade gestacional 5 - Não se aplica 6 - Não 9 - Ignorado		13 Raça/Cor 1 - Branca 2 - Preta 3 - Amarela 4 - Parda 5 - Indígena 9 - Ignorado
	14 Escolaridade 0 - Analfabeto 1 - 1ª a 4ª série incompleta do EF (antigo primário ou 1º grau) 2 - 4ª série completa do EF (antigo primário ou 1º grau) 3 - 5ª a 8ª série incompleta do EF (antigo ginásio ou 1º grau) 4 - Ensino fundamental completo (antigo ginásio ou 1º grau) 5 - Ensino médio incompleto (antigo colegial ou 2º grau) 6 - Ensino médio completo (antigo colegial ou 2º grau) 7 - Educação superior incompleta 8 - Educação superior completa 9 - Ignorado 10 - Não se aplica					
	15 Número do Cartão SUS			16 Nome da mãe		
	17 UF		18 Município de Residência		Código (IBGE)	19 Distrito
Dados de Residência	20 Bairro		21 Logradouro (rua, avenida,...)		Código	
	22 Número		23 Complemento (apto., casa, ...)		24 Geo campo 1	
	25 Geo campo 2		26 Ponto de Referência		27 CEP	
	28 (DDD) Telefone		29 Zona 1 - Urbana 2 - Rural 3 - Perurbana 9 - Ignorado		30 País (se residente fora do Brasil)	
	<b>Dados Complementares do Caso</b>					
	Antecedentes epidemiológicos	31 Data da Investigação		32 Ocupação		
Deslocamento (viagens para áreas infestadas com triatomídeos nos últimos 120 dias)						
UF			Município			
33 Presença de Vestígios de Triatomídeos Intra-Domicílio 1 - Sim 2 - Não 3 - Não Realizado 9 - Ignorado		34 Data do encontro do parasito		35 História de Uso de Sangue ou Hemoderivados nos Últimos 120 Dias 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado		
36 Existência de Controle Sorológico na Unidade de Hemoterapia 1 - Sim 2 - Não 3 - Não se Aplica 9 - Ignorado			37 Manipulação/Contato de Material com <i>T. cruzi</i> 1 - Sim 2 - Não 3 - Não se Aplica 9 - Ignorado			
Dados Clínicos	38 Menor ou igual a 9 meses de idade: Mãe com Infecção Chagásica 1 - Sim 2 - Não 3 - Não se Aplica 9 - Ignorado					39 Possibilidade de transmissão por via oral 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado
	40 Sinais e Sintomas 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado					
<input type="checkbox"/> Assintomático		<input type="checkbox"/> Edema		<input type="checkbox"/> Sinais de Meningoencefalite		<input type="checkbox"/> Poliidadenopatia
<input type="checkbox"/> Febre Persistente		<input type="checkbox"/> Hepatomegalia		<input type="checkbox"/> Sinais de ICC		<input type="checkbox"/> Taquicardia Persistente/Arritmias
<input type="checkbox"/> Astenia		<input type="checkbox"/> Esplenomegalia		<input type="checkbox"/> Chagoma de Inoculação/sinal de Romã		

Doença de Chagas Aguda
Sinan NET
SVS
01/06/2006



Anexo 2: Croqui das unidades domiciliares de Genipaúba. Abaetetuba – PA. 2008-2009





### **Anexo 3: Roteiro para Pesquisa Entomológica**

Toda a atividade deverá ser coordenada em conjunto com os técnicos da Vigilância Epidemiológica que irão investigar os casos. Toda pesquisa entomológica deve ser Planejada.

#### 1. Organização preliminar

Definir o período da pesquisa, recursos financeiros necessários e os técnicos envolvidos:

- Definição de coordenador da equipe
- Definição de registrador das atividades

Quantificar o material de campo, material de laboratório, equipamentos (GPS, microscópios, termômetros, higrômetros, entre outros), veículos, barcos, insumos material de proteção individual

#### 2. Identificação e diagnóstico da área de ocorrência de casos

- verificar quem conhece a área
- levantar registros sobre a área
- pesquisa web
- no local:

Reunião com técnicos locais

Reunião com líderes locais

Visita aos casos

Reconhecimento da área

Delimitação da área de pesquisa

Vegetação da área de pesquisa

Coleta de dados da comunidade

Tipos de residências

Hábitos alimentares

Atividades laborais

Local de aquisição do alimento

3. No local de contaminação – ponto de venda. Verificar:

Cadastro na VISA

Certificado de boas práticas

Tipo de construção

Higiene do local

Presença de animais domésticos e silvestres

Entulho ao redor e destino

Procedente do alimento

Local de instalação e condição da bateadeira

Vegetação ao redor do local

Presença esporádica de triatomíneos

4. Capturas no intra e peri – domicilio

Verificar:

Organização do ambiente interno

Presença de animais no interior

Ninhos de animais

Criação de animais no peri

Questionamento ao morador se há presença de triatomíneos

Onde foram encontrados

Sempre levar um mostruário

5. Roteiro de pesquisa no intradomicílio

Identificação pessoal e informação sobre o objetivo da pesquisa, informação básica sobre doença de Chagas

Solicitar permissão para realizar a pesquisa

Utilizar lanterna, pinças e copos de captura para triatomíneos

Afastar todos os móveis e objetos que pode ser abrigo de triatomíneos

Levantar colchões, roupas, caixas etc..

Verificar telhados e portas internas

Verificar frestas no piso e paredes (desalojante pirrisa)

Verificar locais de repouso de animais

O morador deverá acompanhar todo o trabalho

#### 6. Roteiro de pesquisa no peridomicílio

Verificar:

Entulhos

Pilhas de tijolos, madeiras

Abrigos de animais domésticos: pocilgas, canil, galinheiro

Utilizar desalojante se disponível

Colocar armadilhas caso aja palmeiras próximas a residência e em abrigos de animais

Informar ao morador o resultado preliminar da pesquisa, a importância de manter o ambiente organizado e o

Caso seja encontrado algum triatomíneo:

Mostrar aos moradores e informar o encaminhamento que será dado ao material

#### 7. Roteiro para pesquisa no extra domicílio

## CONCEITO:

**Entende-se por extra domicílio no Pará as áreas contíguas ao peri domicílio que são áreas de transição entre o ambiente doméstico e silvestre ou áreas silvestres que são utilizadas pela comunidade com a finalidade de subsistência e que represente situação de risco para manter o ciclo da doença. (Selecionar locais que possam albergar triatomíneos como tocas de animais e palmeiras (Soraya Oliveira dos Santos e Erica Tatto)**

Deverão ser escolhidas as palmeiras onde há cobertura vegetal suficiente para manter animais que servem de fonte para os insetos

Colocar armadilhas (NOIREAU com pintinhos) no tronco e próximo as copas das palmeiras no final da tarde e recolher pela manhã

Selecionar para dissecação as que forem positivas, Preferencialmente as mais próximas das residências

Não há necessidade de derrubar todas as palmeiras positivas

Na palmeira de açaí não há possibilidade de manter colônias de triatomíneos

- Armadilhas positivas

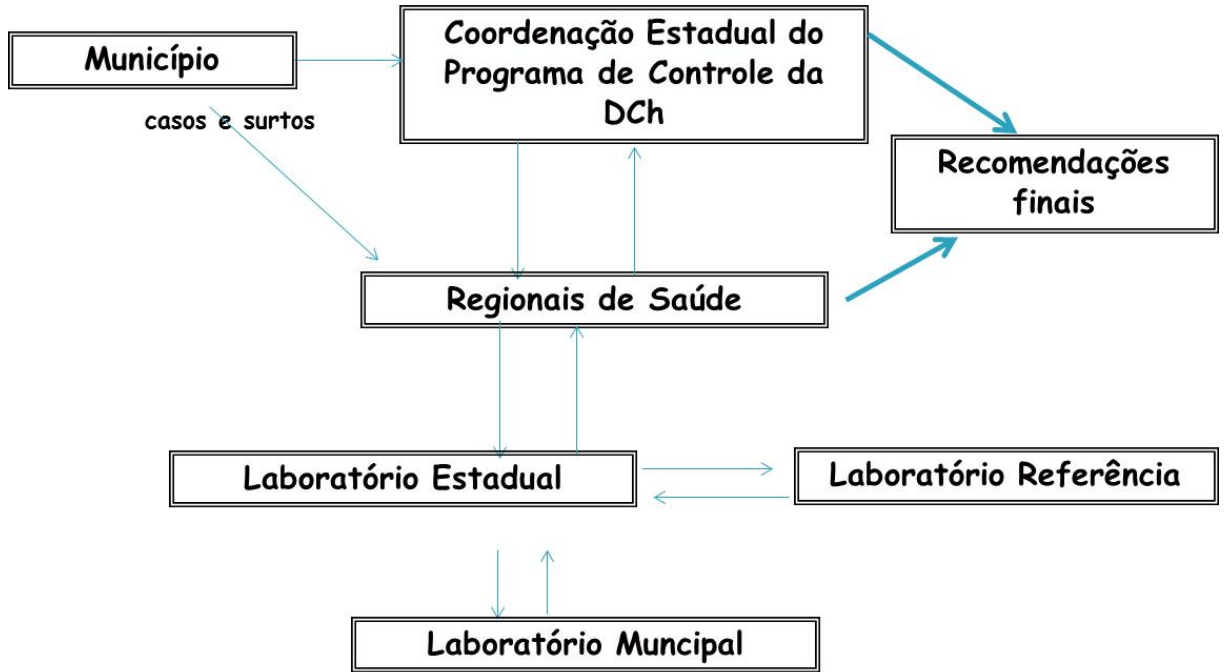
Os triatomíneos coletados deverão ser retirados da armadilha e colocados em recipiente previamente preparado para envio ao laboratório

Georreferenciar todas as atividades – locais das palmeiras, residências, pontos de venda entre outros.

Todo material capturado deverá ser identificado antes de ir para o laboratório

Deverá ser elaborado relatório de toda a atividade – importante para gerar conhecimento e construir a história da doença na região amazônica

## 8. Fluxo material laboratório



Investigação bem sucedida



## **Anexo 5: Processamento das Amostras**

### **Elisa**

#### **Amostra utilizada** : Soro

Não utilizar amostras contaminadas, turvas, com hemólise intensa ou sem centrifugação.

As amostras podem ser estocadas por uma semana entre 2°C e 8°C, após este tempo, é recomendado estocar as amostras aliquotadas em tubos eppendorf à -20°C ou -70°C.

#### **Material Utilizado:**

##### **Equipamentos**

- agitador de tubos tipo vórtex
- estufa à 37°C
- lavadora de microplacas
- leitora de microplacas
- micropipetas automáticas
- timer
- banho - maria à 37°C
- centrífuga
- sistema de purificação de água

#### **Reagentes fornecidos pelo KIT BIOMERIEUX**

Tiras de microplacas sensibilizadas com antígeno de *T.cruzi*; Conjugado ; Diluente de Amostras; Controle Negativo; Controle Positivo; Substrato Cromogênico (TMB); Solução Bloqueadora – ácido sulfúrico; Tampão de Lavagem.

#### **Preparo dos Reagentes**



1. Deixar os reagentes atingirem a temperatura ambiente (25°C) antes de iniciar o ensaio. **Tampão de lavagem:** aquecer o frasco por 15 minutos em banho-maria à 37°C, misturar bem até dissolver todos os cristais que possam se formar.

2. Diluir 1/20 em água destilada. Por exemplo: 50ml de solução de lavagem concentrada + 950ml de água deionizada/destilada

Notas: Esta solução pode ser estocada no refrigerador à 4°C por 4 semanas.

3. Preparar o protocolo de distribuição e identificação para amostras e soros controle

4. Verificar quantas tiras será necessário, para realizar os ensaios.

5. Manter três cavidades para o CN (R4) e duas cavidades para CP (R5).

6. Se necessário manter uma cavidade para a solução R3, a qual será usada para calibrar o leitor (reagente branco).

7. Abrir o sachet e remover o número necessário de tiras que serão utilizadas no ensaio.

8. Pipetar 100µl dos soros controles negativo e positivo, sendo o CN (R4) em triplicata e o CP (R5) em duplicata.

Nota: Não diluir os soros controles negativo e positivo, pois estão prontos para uso.

9. Diluir as amostras a serem testadas 1/21 com o diluente de amostras (R3) diretamente nas cavidades das tiras (R1).

10. Pipetar 200µl de R3 na cavidade e adicionar 10µl da amostra.

11. Agitar a placa gentilmente para misturar a solução.

12. Cobrir a placa e incubar à 37°C durante 30 minutos.

13. Esvaziar as cavidades pela inversão da placa.

14. Lavagem: De acordo com a programação da lavadora. Lavar as cavidades 6 vezes consecutivas, pelo enchimento delas com solução de lavagem (R8).

15. Pipetar 300 µl deixar em contato 60 segundos e então esvaziá-las pela inversão das tiras.

16. Pipetar 100 µl de conjugado enzimático (R2) em cada cavidade. Cobrir e incubar a placa à 37°C durante 30 minutos.

Lavar como indicado nos itens 13, 14 e 15.

17. Pipetar 100µl de substrato (R6) em cada cavidade. Incubar a placa a temperatura ambiente por 10 minutos no escuro.

18. Parar a reação adicionando 50µl de solução de ácido sulfúrico 2N (R7) em cada cavidade. Agitar a placa gentilmente para misturar a solução.

19. Ler a reação usando um filtro de comprimento de onda duplo (450/620nm) ou apenas 450nm.

### **Validação do Ensaio**

O valor da densidade ótica do CN (R4) tem que ser menor ou igual a 0,100 e o valor da densidade ótica do CP (R5) tem que ser maior que 0,800.

Se os resultados dos controles R4 e R5 estiverem fora dessas especificações o ensaio deverá ser repetido.

Cálculos: (este cálculo varia de acordo com o fabricante do kit )

Cálculo do Cut-off

$$\text{Cut-off} = \text{XCN} + 0,250$$

$$\text{XCN} = \text{Média da DO dos CN}$$

Notas: Recomenda-se a repetição das amostras que apresentarem DO na “faixa cinza”, considerada neste teste entre o valor do cut-off adicionado e diminuído de 10% do seu valor.

Exemplo:

$$\text{Cut-off} = 0,300$$

$$10\% = 0,030$$

Zona cinza: 0,270 a 0,330

Confirmado o resultado após repetição, o teste deverá ser considerado indeterminado.

Não utilizar amostras contaminadas, turvas, com hemólise intensa ou sem centrifugação.

As amostras podem ser estocadas por uma semana entre 2°C e 8°C, após este tempo, é recomendado estocar as amostras aliquotadas em tubos eppendorf à -20°C ou -70°C.

### **Hemaglutinação Indireta**

#### **Materiais Utilizados**

##### **Equipamentos e acessórios**

- capela de exaustão química
- pipetas automática monocanal e multicanais;
- relógio cronômetro com faixa de variação de 0 a 60 minutos, com alarme sonoro.

##### **Reagentes**

Reagentes/ Kit Comercial (Biomérieux)

##### **Insumos**

- placa de microtitulação com cavidade em V;
- ponteiros descartáveis para pipetas de volume ajustável;
- tubos Eppendorf.

#### **Procedimento**

Preparação dos reagentes: preparar o diluente da amostra conforme descrição do fabricante.

Teste qualitativo para triagem da amostra:

- Usar uma cavidade por amostra, incluindo dois controles positivos e dois controles negativos a cada série do teste;

- Em tubos de ensaio ou na microplaca, diluir as amostras e os soros controles em diluentes de soros com 2-mercaptoetanol conforme descrição do fabricante;
- Transferir a diluição de cada amostra e dos soros controle para as cavidades respectivas da microplaca com fundo em "V";
- Homogeneizar bem a suspensão de hemácias por agitação delicada do frasco e adicionar em cada cavidade 25µl conforme a quantidade descrita pelo fabricante;
- Para a perfeita homogeneização, imprimir à placa, vibração mecânica batendo com os dedos nas bordas seguidamente, por 10 segundos;
- Deixar em repouso por uma hora, à temperatura ambiente (20° C a 25° C), em local isento de vibrações.

### **Imunofluorescência indireta – IFI IgM**

Não utilizar amostras contaminadas, turvas, com hemólise intensa ou sem centrifugação.

As amostras podem ser estocadas por uma semana entre 2°C e 8°C, após este tempo, é recomendado estocar as amostras aliquotadas em tubos eppendorf à -20°C ou -70°C.

#### **Material Utilizado:**

- a) água destilada;
- b) barquetes;
- c) câmara úmida;
- d) cubas de lavagem;
- e) placas para microtitulação;
- f) rack com ponteiras;
- g) recipiente adequado para descarte de material contaminado.

#### **Reagentes**

- a) antígeno de **T.cruzi (BIOMERIEUX)**;

- b) azul de Evans 0,1%;
- c) conjugado **FLUOLINE (BIOMERIEUX)**;
- d) amostra negativa;
- e) amostra positiva;
- f) lâminas para IFI;
- g) lamínulas 24 x 60 mm;
- h) glicerina tamponada;
- i) Solução tampão fosfato – PBS.

#### **Equipamentos:**

- a) agitador de tubos tipo vórtex ;
- b) cronômetro com faixa de variação de 0 a 60 minutos e alarme sonoro;
- c) estufa a 37°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ );
- d) micropipetas mono e multicanais;
- f) balança analítica;
- g) pHmetro;
- h) sistema de purificação de água;
- i) centrífuga.
- j) microscópio para fluorescência

#### **Equipamentos de proteção individual:**

- a) jaleco de manga longa;
- b) luvas descartáveis;
- c) óculos de proteção;
- d) sapatos fechados;
- e) máscaras;
- f) toucas.

#### **Procedimentos**

## Preparo dos Reagentes

### a) preparo do tampão fosfato (PBS)

- Solução estoque ou solução-mãe:

SAIS	QUANTIDADE
Cloreto de Sódio (NaCl) PA 1,35M	79g
Fosfato de Sódio dibásico anidro (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) PA 0,073M	10,44g
Fosfato de Sódio monobásico anidro (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) PA 0,028M	3,58g
Água destilada qsp	1000ml

Obs: para ajudar a dissolver os cristais utilizar um agitador com aquecedor.

- Solução de uso:

Diluir 100 ml do tampão fosfato - PBS (Solução estoque) para 900ml de água destilada.

Utilizar PBS com pH na faixa 7,2 a 7,4.

### b) soluções para acerto de pH de PBS:

- Se estiver abaixo de 7.2 (ácido):

Fosfato de Sódio dibásico anidro (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)-----21,29g

Água destilada qsp-----1000ml

- Se estiver acima de 7.4 (básico):

Fosfato de potássio monobásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)-----20.41g

Água destilada qsp-----1000ml

Nota: Os sais descritos acima, quando não utilizados na forma anidra, deverão ter suas quantidades recalculadas em função das moléculas de água presente.

**c) Solução de azul de evans:**

- Solução Estoque (1:1000)

Azul de Evans-----0,1g

PBS qsp-----100ml

- Solução de Uso (1:10.000)

Diluir a solução de estoque na proporção de 1:10 com PBS, isto é, colocar 10 ml da solução estoque + 90 ml de PBS.

Conservar em geladeira.

OBS: Para preparar 0,004% (1:25.000). Por exemplo:

1 ml de Azul de Evans (solução estoque) + 24 ml de PBS (solução de uso).

**d) Antígeno Imunocruzi (BIOMERIEUX)**

Com o auxílio de uma seringa, reidratar a suspensão liofilizada com 3,5 ml de água destilada, introduzindo a agulha através da tampa de borracha antes de abri-la, e agitar delicadamente. Destampar o frasco e distribuir a suspensão antigênica colocando 1 gota (10 a 15µl) em lâminas para IFI, mantendo-a sempre sob agitação lenta, para que haja uma distribuição uniforme do antígeno sobre as áreas delimitadas da lâmina.

Secar em estufa à 37°C por 40 minutos.

Caso não sejam utilizadas imediatamente, as lâminas podem ser guardadas em temperatura inferior a -20°C embrulhadas individualmente em papel impermeável e em grupos de 10 em papel alumínio, devidamente identificadas com data e validade (1 mês).

Guardar em isopor com sílica em freezer a -20°C.

**Titulação do Conjugado**

O título do conjugado varia em função do lote do kit, das condições de trabalho, do microscópio utilizado e do operador. O laboratório deverá repetir a titulação do conjugado

sempre que mudar o lote do kit, o microscópio ou quando se observar queda da fluorescência no controle positivo ao longo do tempo.

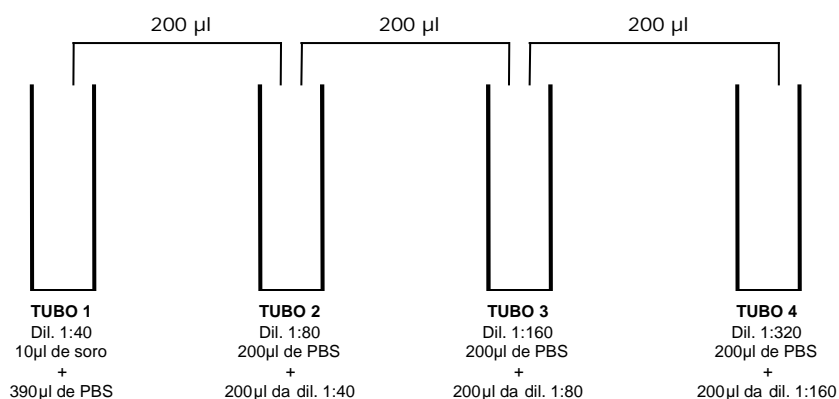
a) Retirar do congelador e deixar secar à temperatura ambiente no mínimo 5 lâminas já sensibilizadas com antígeno Imunocruzi.

b) Fazer o protocolo de trabalho da lâmina 1 a lâmina 5, dividindo-as

verticalmente em duas partes. (Figura 2)

d) Escolher um **Soro Positivo de Título Conhecido - SPTC** (por exemplo, 1/160), diluir em PBS, o SPTC, utilizando o esquema de diluição seriada abaixo. Diluir o soro controle negativo 1/40. (Figura 1)

**Figura 1:** Esquema de diluição seriada

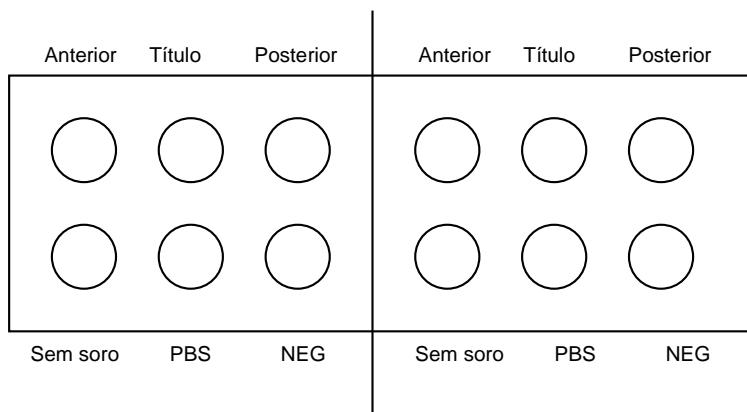


Nota: Durante a diluição, homogeneizar bem o soro.

e) Pingar 10µL da diluição do SPTC, e 10µl da diluição do soro negativo (SN), em todas as 5 lâminas, colocando as diluições no lugar determinado pelo protocolo de trabalho, conforme descrito FIGURA 2.

**Figura 2:** Esquema de distribuição das diluições





f) Incubar as lâminas em câmara úmida por 30 minutos (+/- 1°C)

g) Após a incubação lavar as lâminas duas vezes com PBS durante 5 minutos cada lavagem, em seguida lavar, rapidamente, uma vez em água destilada.

h) Colocar as lâminas para secar, verticalmente, em estufa à 37°C por 10 minutos.

i) Preparar a solução PBS- Azul de Evans (PBS-AE) 1/25.

Por exemplo: colocar em um tubo 1 ml de Azul de Evans 0,1% e 24 ml de PBS.

j) Diluição do conjugado:

Fazer uma pré diluição 1/100 do conjugado. Por exemplo: 15µl de conjugado + 1485µl de PBS + Azul de Evans diluído 1/25. Após a pré-diluição, fazer as diluições seguintes conforme Tabela 1.

**TABELA 1**

Diluição do Conjugado

Pré-diluído em µL	Azul de Evans em µL	Título
100	100	1/200
100	200	1/300
100	300	1/400
100	400	1/500
100	500	1/600
100	600	1/700

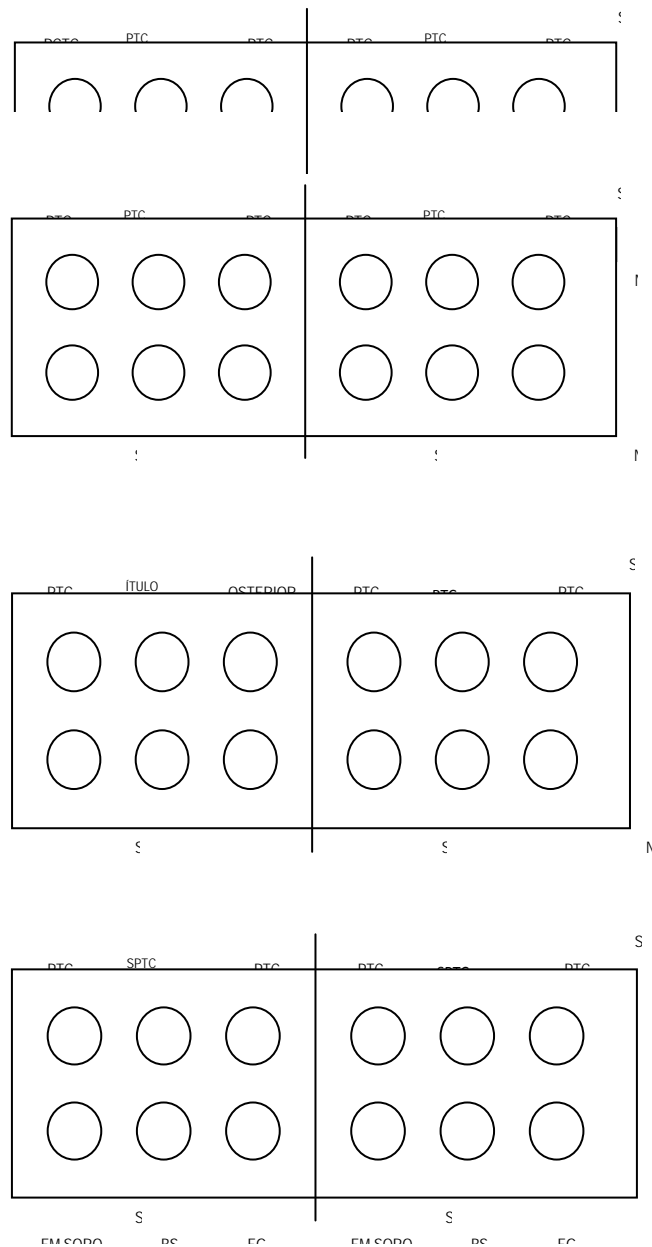
100	700	1/800
100	800	1/900
100	900	1/1000

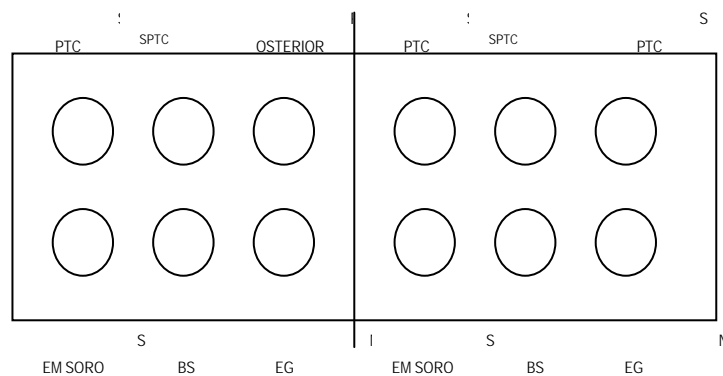
FONTE: FUNED-2008

Nota: Se necessário, continuar as diluições.

k) Adicionar 15µl do conjugado diluído nas lâminas correspondentes conforme esquema da Figura 3.

**Figura 3:** Esquema de diluição de conjugado nas lâminas





l) Incubar as lâminas em câmara úmida à 37°C por 30 minutos.

m) Após a incubação lavar as lâminas duas vezes com PBS durante 5 minutos cada lavagem, em seguida lavar, rapidamente, uma vez em água destilada.

m) Colocar as lâminas para secar, verticalmente, em estufa à 37°C por 10 minutos.

n) Adicionar 3 a 4 gotas de glicerina tamponada sobre cada lâmina, cobrindo-as com lamínulas. Manter sobre o abrigo da luz e umidade até o momento da leitura. Retirar o excesso pressionando com papel filtro e evitar a formação de bolhas.

### **Definição do Título Conjugado.**

Para leitura, utilizar o microscópio de fluorescência com objetiva com aumento de 40x.

O título do conjugado será a diluição em que se observa fluorescência no poço correspondente à diluição anterior do soro, uma fluorescência no poço correspondente a diluição do SPTC e ausência de fluorescência no poço correspondente a diluição posterior, no poço do soro negativo e no poço do PBS.

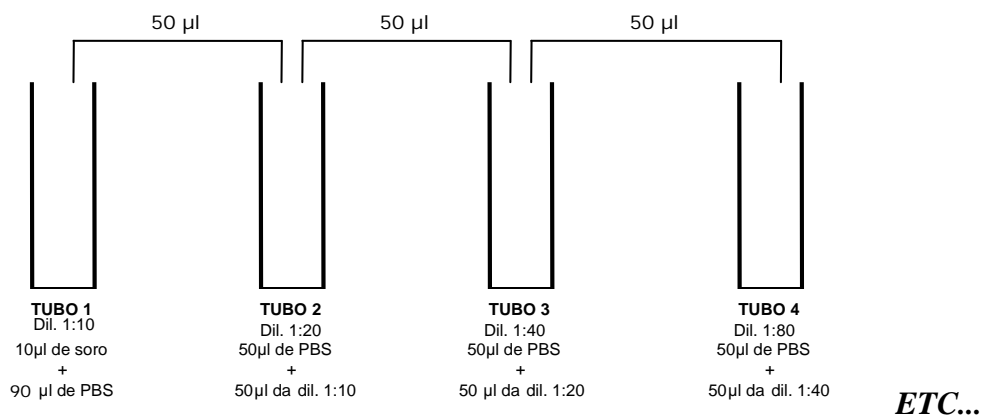
### **Procedimento para Execução do Ensaio**

a) Separar o número necessário de lâminas com antígeno já fixado. Caso sejam retiradas do congelador deixar secar à temperatura ambiente. Identificar as áreas de acordo com os soros a examinar.

b) Fazer o protocolo para determinar o número de lâminas a serem utilizadas, considerando o número de amostras e suas diluições. Fazer as diluições das amostras em placa de microtitulação;

c) Fazer diluição seriada do soro controle interno. Diluir em PBS soro de controle interno 1/10 até 1/320, conforme exemplificado na Figura 5.

**Figura 5:** Esquema de diluição seriada



d) Primeiro diluir todas as amostras a serem testadas 1/10. Depois fazer diluição seriada apenas das que derem reagente ou reação indeterminada de acordo com o esquema acima.

e) Adicionar 10 µl das diluições nos orifícios das lâminas conforme protocolo de trabalho elaborado. Deve-se tomar cuidado para que as amostras não se misturem durante a incubação.

f) Incubar as lâminas em câmara úmida por 30 minutos à 37°C (+/-).

**OBS:** Caso ocorra variação de temperatura acima ou abaixo do especificado durante o período de incubação, o técnico deverá invalidar o teste.

g) Lavar as lâminas duas vezes com PBS em cuba de lavagem apropriada por cinco minutos cada e, em seguida, lavar as lâminas, uma vez, em água destilada rapidamente para retirar o excesso dos sais.

h) Colocar as lâminas por aproximadamente 10 minutos à 37°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) na estufa para secar (não exceder este tempo) ou por aproximadamente 10 minutos no ventilador.

i) Preparar em um frasco âmbar a solução de PBS/Azul de Evans da seguinte forma: 24ml de PBS + 1 ml de Azul de Evans. Guardar em geladeira.

j) Diluir o conjugado **fluoline** conforme o título encontrado na titulação do conjugado.

l) Adicionar 15 µl da diluição do conjugado em cada orifício das lâminas.

m) Incubar as lâminas em câmara úmida por 30 minutos à 37°C (± 1°C).

Nota: Caso ocorra variação significativa da temperatura durante o período de incubação, o técnico deverá invalidar o teste.

n) Lavar as lâminas duas vezes com PBS em cuba de lavagem apropriada por cinco minutos cada e, em seguida, lavar as lâminas, uma vez, em água destilada rapidamente.

o) Colocar as lâminas por aproximadamente 10 minutos à 37°C (± 1°C) na estufa para secar (não exceder este tempo) ou por aproximadamente 10 minutos no ventilador.

p) Montar as lâminas utilizando 3 a 4 gotas de glicerina tamponada, cobrindo-as com lamínula. Retirar o excesso pressionando levemente com papel absorvente. Evitar formação de bolhas.

Manter sob o abrigo da luz e umidade até o momento da leitura.

q) Levar as lâminas ao microscópio de fluorescência (40x) e:

Focalizar o orifício do soro controle positivo e observar a fluorescência;

Focalizar o orifício do soro controle negativo e observar o “*back-ground*” (coloração de fundo) do teste;

Focalizar os orifícios dos soros testes e considerar reagente aqueles que, a partir da diluição 1:40 inclusive, apresentam fluorescência na membrana dos parasitas, mais intensa que o “*back-ground*” observado no orifício do soro controle negativo. Considerar NÃO-reagente os soros que não apresentarem fluorescência.

### **Imunofluorescência indireta – IFI IgG**

#### **Amostra utilizada : Soro**

Não utilizar amostras contaminadas, turvas, com hemólise intensa ou sem centrifugação.

As amostras podem ser estocadas por uma semana entre 2°C e 8°C, após este tempo, é recomendado estocar as amostras aliquotadas em tubos eppendorf à -20°C ou -70°C.

#### **Material Utilizado:**

a) água destilada;

- b) barquetes;
- c) câmara úmida;
- d) cubas de lavagem;
- e) placas para microtitulação;
- f) rack com ponteiras;
- g) recipiente adequado para descarte de material contaminado.

**Reagentes fornecidos pelo kit BIOMANGUINHOS:**

- a) antígeno de *T. Cruzi*
- b) azul de evans 0,1%
- c) conjugado
- d) controle negativo
- e) controle positivo
- f) glicerina tamponada
- g) lâminas para IFI
- h) lamínulas

**Equipamentos:**

- a) agitador de tubos tipo vórtex ;
- b) cronômetro com faixa de variação de 0 a 60 minutos e alarme sonoro;
- c) estufa a 37°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ );
- d) micropipetas mono e multicanais;
- f) balança analítica;
- g) pHmetro;
- h) sistema de purificação de água;
- i) centrífuga.
- j) microscópio para fluorescência

**Procedimentos**

## Preparo dos Reagentes

“*Idem IgM*”

## Titulação do Conjugado

“*Idem IgM*”

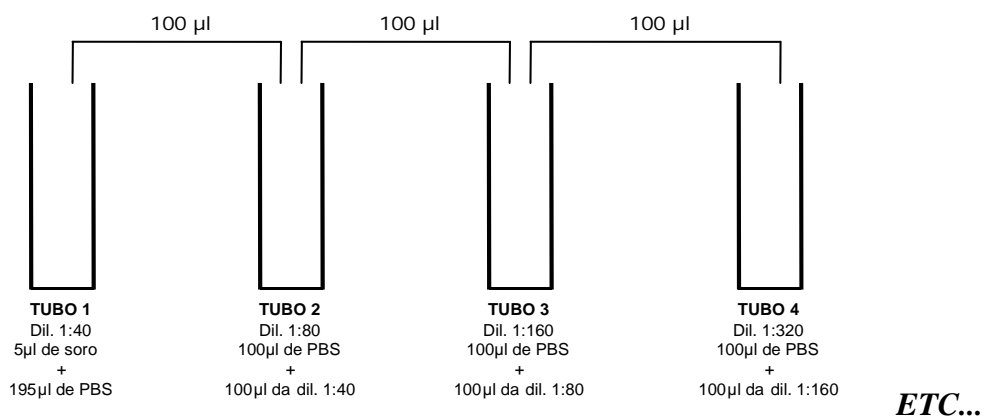
## Procedimento para Execução do Ensaio

a) Separar o número necessário de lâminas com antígeno já fixado. Caso sejam retiradas do congelador deixar secar à temperatura ambiente. Identificar as áreas de acordo com os soros a examinar.

b) Fazer o protocolo para determinar o número de lâminas a serem utilizadas, considerando o número de amostras e suas diluições. Fazer as diluições das amostras em placa de microtitulação;

c) Fazer diluição seriada do soro controle interno. Diluir em PBS soro de controle interno 1/40 até 1/1280, conforme exemplificado na Figura 5.

**Figura 5:** Esquema de diluição seriada



d) Primeiro diluir todas as amostras a serem testadas 1/10. Depois fazer diluição seriada apenas das que derem reagente ou reação indeterminada de acordo com o esquema acima.

e) Adicionar 10µl das diluições nos orifícios das lâminas conforme protocolo de trabalho elaborado. Deve-se tomar cuidado para que as amostras não se misturem durante a incubação.

f) Incubar as lâminas em câmara úmida por 30 minutos à 37°C (+/-).

**OBS:** Caso ocorra variação de temperatura acima ou abaixo do especificado durante o período de incubação, o técnico deverá invalidar o teste.

g) Lavar as lâminas duas vezes com PBS em cuba de lavagem apropriada por cinco minutos cada e, em seguida, lavar as lâminas, uma vez, em água destilada rapidamente para retirar o excesso dos sais.

h) Colocar as lâminas por aproximadamente 10 minutos à 37°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) na estufa para secar (não exceder este tempo) ou por aproximadamente 10 minutos no ventilador.

i) Preparar em um frasco âmbar a solução de PBS/Azul de Evans da seguinte forma: 24ml de PBS + 1 ml de Azul de Evans. Guardar em geladeira.

j) Diluir o conjugado **BIOMANGUINHOS** conforme o título encontrado na titulação do conjugado.

l) Adicionar 15 $\mu\text{l}$  da diluição do conjugado em cada orifício das lâminas.

m) Incubar as lâminas em câmara úmida por 30 minutos à 37°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ).

Nota: Caso ocorra variação significativa da temperatura durante o período de incubação, o técnico deverá invalidar o teste.

n) Lavar as lâminas duas vezes com PBS em cuba de lavagem apropriada por cinco minutos cada e, em seguida, lavar as lâminas, uma vez, em água destilada rapidamente.

o) Colocar as lâminas por aproximadamente 10 minutos à 37°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) na estufa para secar (não exceder este tempo) ou por aproximadamente 10 minutos no ventilador.

p) Montar as lâminas utilizando 3 a 4 gotas de glicerina tamponada, cobrindo-as com lamínula. Retirar o excesso pressionando levemente com papel absorvente. Evitar formação de bolhas.

Manter sob o abrigo da luz e umidade até o momento da leitura.

q) Levar as lâminas ao microscópio de fluorescência (40x) e:

Focalizar o orifício do soro controle positivo e observar a fluorescência;

Focalizar o orifício do soro controle negativo e observar o “*back-ground*” (coloração de fundo) do teste;

Focalizar os orifícios dos soros testes e considerar reagente aqueles que, a partir da diluição 1:40 inclusive, apresentam fluorescência na membrana dos parasitas, mais intensa



que o “*back-ground*” observado no orifício do soro controle negativo. Considerar não-reagente os soros que não apresentarem fluorescência.

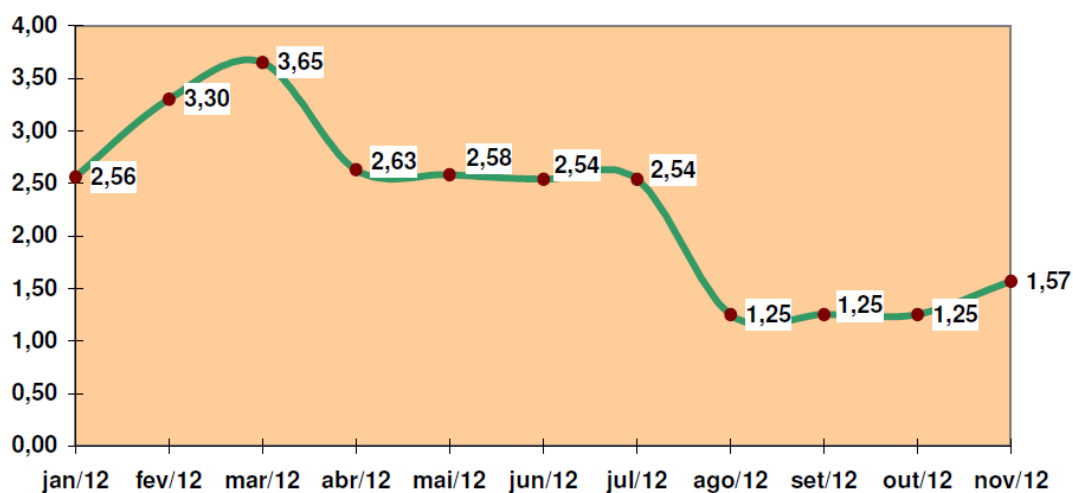
## Anexo 6 – Produção e comércio do açaí

**Tabela 18: Evolução da área de cultivo, produção, rendimento e preço do açaí. Pará. 1996-2009**

ANO	ÁREA PLANTADA (há)	ÁREA COLHIDA (há)	QUANTIDADE CULTIVADA (t)	QUANTIDADE EXTRATIVA (t)	QUANTIDADE TOTAL PRODUZIDA (t)	RENDIMENTO (t/há)	PREÇO (R\$/t)
1996		1.054	10.366	103.698	114.064	9,835	469,79
1997		933	7.913	92.021	99.934	8,481	350,84
1998		852	7.278	110.557	117.835	8,542	412,27
1999		690	4.662	107.663	112.325	6,757	472,86
2000		727	5.207	112.676	117.883	7,162	499,35
2001		627	4.558	113.744	118.302	7,270	558,99
2002		16.115	242.557	122.322	364.879	15,052	642,08
2003	3.097	18.479	257.282	134.848	392.130	13,923	686,98
2004	8.593	26.671	363.428	90.643	454.071	13,626	699,96
2005	6.297	34.203	415.921	89.173	505.094	12,160	
2006	8.041	49.455	472.040	88.551	560.591	9,545	
2007	5.249	51.545	497.591	93.788	591.379	9,654	
2008	59.202	59.202	581.290	100.202	681.492	9,819	
2009	61.814	61.814	604.805	104.354	709.159	9,784	

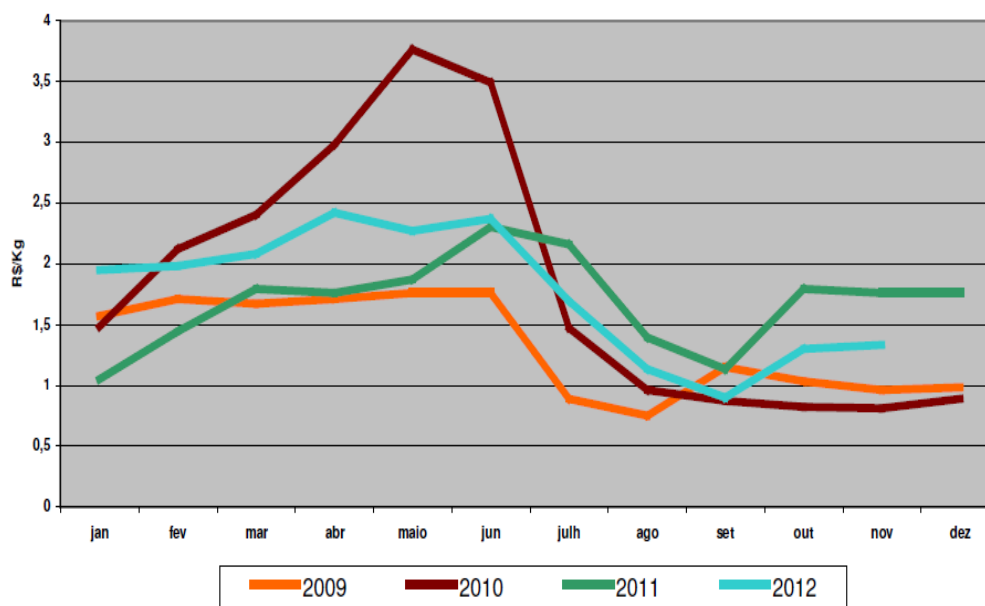
Fonte: Sagri - PA

**Tabela 19: Preço do açaí no Estado do Pará. 2012**



Fonte: Conab. 2012

**Quadro 3: Variação no preço do açaí acumulado por mês. Pará. 2009-2012**



Fonte: Conab