
TRATAMENTO ETIOLÓGICO

DA DOENÇA DE CHAGAS NO BRASIL

Maria de Fátima Oliveira, ¹ Aparecida T. Nagao-Dias, ¹ Vânia Maria Oliveira de Pontes, ² Alcides Sales de Souza Júnior, ² Helena Lutécia Luna Coelho ³ e Ivo Castelo Branco Coelho ⁴

RESUMO

Nosso grupo de pesquisa tem desenvolvido experiências de monitoramento de reações adversas em pacientes chagásicos em tratamento com benznidazol. A proposta de produção deste artigo nasceu da constatação da escassez de artigos de revisão que reunissem vários aspectos relacionados ao tratamento etiológico da doença de Chagas. Portanto, foram realizadas buscas de artigos originais e revisões indexadas, nas bases do Medline e Lilacs, de publicações relativas ao tratamento etiológico da doença de Chagas desde os primeiros ensaios terapêuticos até o momento, incluindo mecanismo de ação, reações adversas, critérios de cura e indicações de tratamento do consenso brasileiro. Os medicamentos nifurtimox e benznidazol, utilizados atualmente no tratamento da doença de Chagas, apresentam eficácia acima de 80% na fase aguda e de 8% a 30% na fase crônica. O sucesso da terapêutica esbarra em alguns pontos tais como: esquema terapêutico prolongado, reações adversas, variabilidade genética dos parasitos e cepas naturalmente resistentes aos fármacos. Os resultados desta atualização revelam a necessidade do desenvolvimento de novos fármacos com atividade anti-*T. cruzi* que, por um lado, apresentem menor toxicidade, e por outro, maior eficácia na fase crônica.

DESCRITORES: Tratamento etiológico. Doença de Chagas. Reações adversas a medicamentos. Benznidazol. Nifurtimox.

-
- 1 Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza-CE.
 - 2 Mestrandos do curso de Mestrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia, UFC.
 - 3 Departamento de Farmácia, Faculdade de Farmácia, UFC.
 - 4 Departamento de Patologia e Medicina Legal, UFC.

Endereço para correspondência: Maria de Fátima Oliveira, Depto. Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Ceará, Rua: Capitão Francisco Pedro, 1210, CEP: 60430-370 Fortaleza, CE, Brasil. E-mail: fatimaufc@hotmail.com

Recebido para publicação em: 15/11/2007. Revisto em: 25/3/2008. Aceito em 29/9/2008.

INTRODUÇÃO

A doença de Chagas, exclusiva do continente americano, é uma enfermidade de caráter crônico causada pelo *Trypanosoma cruzi*, cuja principal via de transmissão é a vetorial, seguida das vias sanguínea (transfusão), vertical (placentária), oral e acidental. Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2003), cerca de 9,8 milhões de pessoas se encontram infectadas pelo *Trypanosoma cruzi* na América Latina e mais de 40 milhões estão expostas ao risco de contrair a doença (Schoffield et al., 2006). No Brasil, a estimativa é de 2 milhões a 3 milhões de pessoas infectadas, com uma incidência de 100 novos casos por ano (via oral). No que diz respeito à morbidade e à mortalidade, a doença foi considerada como um dos principais problemas de saúde pública na América Latina (Viotti et al., 1994; Dias & Coura, 1997; WHO, 2003). A infecção apresenta-se sob duas fases clínicas bem distintas. A fase aguda, mais freqüente em crianças, apresenta como característica o sinal de Romaña e o chagoma de inoculação, que aparecem de sete a dez dias após a infecção e permanecem por cerca de dois a quatro meses (Pereira et al., 1989). A fase crônica é classificada sob três formas clínicas: indeterminada, cardíaca e digestiva. Na forma indeterminada, as alterações patológicas são pouco significativas, o que torna o diagnóstico clínico difícil; nesta fase, os testes sorológicos geralmente são positivos (Macedo, 1997). As pesquisas apontam que cerca de 60% das pessoas infectadas se encontram nesta forma. Nas outras formas (cardíaca e digestiva), os testes sorológicos confirmam os achados clínicos. Excepcionalmente, têm sido relatados casos da forma digestiva nos quais os testes sorológicos foram negativos, com exames parasitológicos positivos (Dias & Coura, 1997; Mendes et al., 1997; Luquetti, 1987; Breniere et al., 1984).

O tratamento da doença de Chagas é uma questão ainda não completamente elucidada e tem como objetivo a erradicação da infecção e a prevenção do aparecimento de lesões em órgãos ou do agravamento das lesões presentes (Coura et al., 1997).

HISTÓRICO DO TRATAMENTO

Em 1936, um derivado quinoleínico (Bayer 7.602) com discreta atividade parasiticida foi empregado pela primeira vez no tratamento da forma aguda da doença de Chagas (Mazza et al., 1937). Posteriormente, entre 1937 e 1960, várias tentativas de tratamento específico foram realizadas em pacientes na fase aguda da doença, sem, contudo, comprovar o valor terapêutico dos fármacos. Em 1961, foi sugerido o uso do composto 5-nitrofurano, considerado ativo contra a forma circulante de *T. cruzi*, para interromper o ciclo do parasito no hospedeiro (Brenner, 1961). Nos anos seguintes, experimentos em camundongos mostraram que certos compostos, tais como nitrofurazone, nifurtimox e benznidazol, foram também ativos contra as formas intracelulares do parasito, fenômeno observado em culturas de tecidos.

A primeira proposta para se avaliar a terapêutica, tanto na fase aguda como na crônica da doença de Chagas, surgiu de um encontro entre pesquisadores da área no Rio de Janeiro, em 1962 (Reunião sobre doença de Chagas, 1963; Miranda & Campos, 1994). A segunda reunião, organizada pela OMS e OPAS para discutir sobre o tratamento etiológico da doença de Chagas, teve lugar também no Rio de Janeiro, 36 anos após, em abril de 1998, antecedendo ao Congresso Mundial de Cardiologia (OPAS, 1999). Atualmente, segue-se, no Brasil, o consenso brasileiro publicado em 2005 (Ministério da Saúde, 2005).

O nifurtimox (3-metil-4 {{(5-nitrofurfurilidene) amino} tiomorfoline-1-,1-dioxide), produzido pelo Laboratório Bayer e lançado em 1967 com o nome comercial de Lampit®, na forma de comprimidos com 120 mg de princípio ativo, foi a primeira droga (Figura 1) usada no tratamento da fase aguda da doença de Chagas (Brener, 2000).

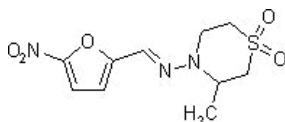


Figura 1. Estrutura química do nifurtimox.

O nifurtimox (Nf) é bem absorvido após administração oral e seus níveis no plasma são da ordem de 10 a 20 μM , concentrações menores podem ser detectadas nos tecidos e na urina. O esquema terapêutico do Nf varia com a idade do paciente (Castro et al., 2006, Coura et al., 2002) Coura et al., 1997; Pfaffenbach et al., 2002). Em pacientes na fase aguda, na faixa etária entre 5 e 14 anos, a dose indicada é de 15mg/kg/dia durante 120 dias; para adultos na fase crônica, a dose é de 8 a 10 mg/kg/dia por um período de 30 a 120 dias. Foi observada negatização do xenodiagnóstico em 88% a 100% dos casos agudos que haviam completado o tratamento. A eficácia da droga em pacientes crônicos adultos é baixa, o índice de cura varia de 7% a 8% em pacientes na fase crônica indeterminada da doença enquanto que em crianças abaixo de 14 anos na fase crônica indeterminada o Nf cura 85,7% dos casos (Coura & Castro, 2002, Streiger et al., 2004). A partir da década de 1980, o Nf teve sua comercialização interrompida, primeiramente no Brasil e depois em outros países da América do Sul (Venezuela, Chile, Argentina), possivelmente em razão do efeito tripanocida menor em algumas regiões endêmicas (Coura & Castro, 2002). Atualmente, o Nf é produzido pela Bayer, em El Salvador, e pode ser adquirido pela Organização Mundial da Saúde (Schoffield et al., 2006).

O benznidazol (Bz) é uma droga nitroheterocíclica (N-benzil-2-nitroimidazole-1-acetamida) com atividade antiprotozoária e antibacteriana (Figura 2). Trata-se de um derivado nitroimidazólico sintetizado, em 1972, por Wineholt e Liebman e produzido pelo laboratório Hoffman - La Roche, na Suíça (apud Cançado, 2000).

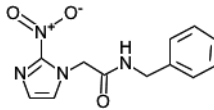


Figura 2. Estrutura química do benznidazol.

Em abril de 2003, os direitos e a tecnologia de fabricação do Bz foram cedidos ao Brasil pela Roche e aqui está sendo produzido pelo Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE) e em breve será comercializado (Schoffield et al., 2006). O Bz é ativo sobre *Trichomonas vaginalis*, *Entamoeba histolytica*, *Trypanosoma rhodesiense*, *T. congolense* e *T. cruzi*, no entanto o interesse clínico restringe-se à sua aplicação no tratamento da doença de Chagas (Cançado, 1997, 2002).

Garcia et al. (2005) investigaram a eficácia do Bz em camundongos infectados com *T. cruzi* na fase crônica. Observaram diminuição da parasitemia e da miocardite do grupo tratado quando comparado ao grupo não tratado. Os resultados sugerem que o tratamento com Bz, na fase crônica da infecção, pode prevenir o desenvolvimento de cardiopatia chagásica crônica severa, mesmo sem a completa eliminação dos parasitos (Garcia et al., 2005).

Os estudos com Bz começaram entre 1971 e 1974, mostrando eficácia similar ou superior ao Nf em pacientes tratados durante a fase aguda, na dose de 5 a 10 mg/kg/dia durante 30 a 60 dias. A partir de 1983, tornou-se consenso a dose de 5 mg/kg/dia por 30 a 60 dias para adultos. A negatização do xenodiagnóstico ocorreu após 18 a 87 meses de tratamento em 75% a 95% dos casos agudos (Lazzari & Freilij, 1998).

O *T. cruzi* requer esteróide endógeno específico para proliferação e viabilidade da célula. Derivativos azólicos de quarta geração, tais como o D0870 (Zeneca Pharmaceuticals, Macclesfield, UK) e o SCH56592 (posaconazole, Schering-Plough Research Institute, New Jersey, USA), com atividade inibitória seletiva na biossíntese de novos esteróides no parasito e propriedades farmacocinéticas especiais, podem induzir cura parasitológica radical da doença de Chagas experimental aguda e crônica (Figura 3). Esses compostos foram ativos contra cepas de *T. cruzi* resistentes a Bz e Nf e mantiveram sua atividade mesmo em hospedeiros imunossuprimidos (Urbina, 2002). Entre camundongos tratados com D0870, verificou-se cura parasitológica em 70% a 90% dos animais, além de uma menor incidência de morte (Urbina et al, 1996; Molina et al., 2000a). Camundongos infectados com cepa CL e Y de *T. cruzi* e tratados por 30 dias consecutivos com bis-triazole DO870 incorporado em nanoesferas, na dose de 3mg/kg /dia, por via endovenosa, tiveram a taxa de cura de 60% a 90% com ambas as cepas. Dos animais tratados com DO870 na dose de 5mg/kg/dia por via oral, 80% obtiveram cura. Camundongos tratados com ketoconazole e itraconazole não carregados por nanopartículas não tiveram cura parasitológica (Molina et al., 2001). O DO870 foi

capaz de curar 70% a 100% de murinos infectados na fase aguda com várias cepas de *T.cruzi*, incluindo a Colombiana, ao passo que, na fase crônica, a taxa de cura parasitológica foi de 30% a 45%. Ficou evidenciado que a atividade do DO870 anti-*T.cruzi* foi largamente retida em hospedeiros imunossuprimidos (Molina et al., 2000 a, 2001, Urbina, et al., 1998, Urbina, 2001).

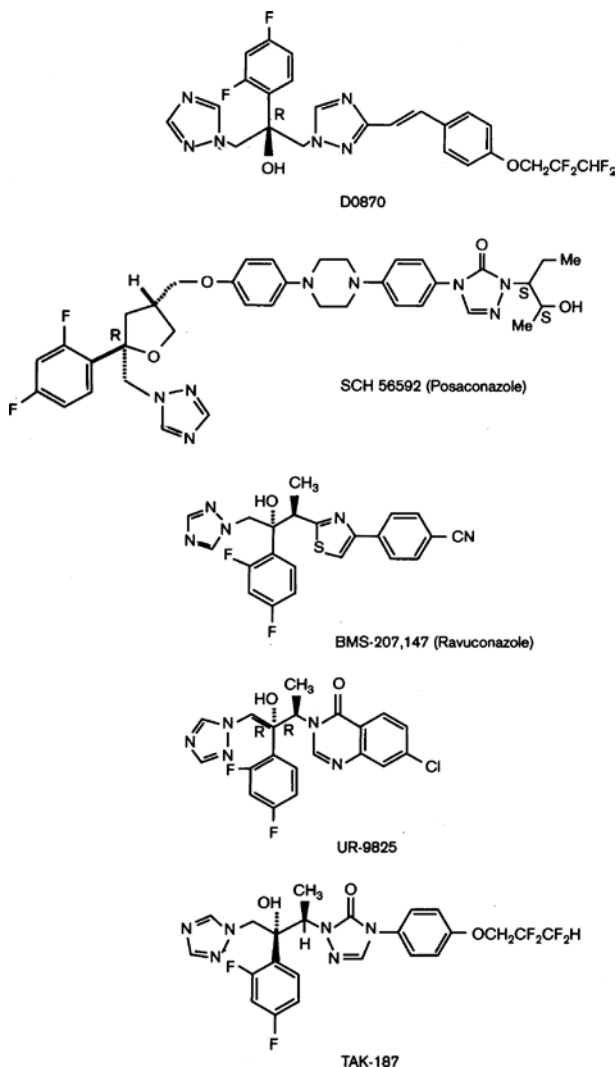


Figura 3. Estrutura química dos inibidores de biossíntese de ergosterol com potente atividade antifúngica e anti-*T.cruzi*.

Posaconazole, um análogo do itraconazole que foi recentemente registrado na União Européia, na Austrália e nos Estados Unidos como um antifúngico sistêmico, é atualmente o mais forte candidato para novos tratamentos específicos da doença de Chagas (Urbina et al., 1996; Urbina et al., 1998; Molina et al., 2000b).

Estudos recentes têm mostrado que este composto pode eliminar seletivamente amastigotas intracelulares de *T.cruzi* em cultura de cardiomiócitos e permite a completa reorganização do citoesqueleto da célula hospedeira e do aparelho contrátil (Silva et al., 2006). Utilizando-se camundongos *knockout* deficientes em vários componentes do sistema imune, foi demonstrado também que a atividade *in vivo* anti-*T.cruzi* do posaconazol é menos dependente de interferon gama e linfócitos B do que o Bz (Ferraz et al. 2007; Ferraz et al., 2008, no prelo).

O TAK-187, um triazole experimental antifúngico, teve também a sua atividade investigada em camundongos infectados com *T.cruzi* nas fases aguda e crônica da doença de Chagas. Os resultados mostraram que TAK-187, administrado por via oral na dose de 20mg/kg/dia, induz completa proteção contra a morte dos camundongos e elevados níveis de cura parasitológica (60% - 100%), independentemente da cepa infectante. O TAK-187 é considerado um potente agente anti-*T. cruzi* *in vitro* e *in vivo*, incluindo cepas resistentes a nitrofurano e nitroimidazol, e pode produzir elevados índices de cura parasitológica em modelos das fases aguda e crônica da doença de Chagas (Urbina et al., 2003a).

O ravuconazole é outro triazole com potente atividade antifúngica *in vitro* e *in vivo*, sendo comparável ou superior a outros triazóis, tais como posaconazole e voriconazole. A atividade do ravuconazole na dose de 15mg/Kg, em infecção experimental aguda causada por diferentes cepas de *T. cruzi* resistentes a nitrofurano e nitroimidazol, foi capaz de induzir cura parasitológica em todos os animais infectados com a cepa CL e em 58% dos animais infectados com cepa Y; em animais infectados com a cepa Colombiana, não houve cura. Outro triazole, o ketoconazole, suprimiu a parasitemia entre animais infectados com cepas CL e Y, porém, em camundongos infectados com a cepa Colombiana e tratados com o triazole, a parasitemia reincidiu em 35 dias (Urbina et al., 2003b).

O alopurinol é uma pirazolopirimidina usada no tratamento da gota e, na década de 1990, foi investigada sua atividade tripanocida em camundongos e em cultura de células infectadas com *T.cruzi*. Diante dos resultados animadores semelhantes ao do Nf e do Bz, com a vantagem de ser menos tóxico, alguns pesquisadores começaram a empregá-lo em humanos. Entretanto, a droga, quando utilizada nas doses de 300, 600 ou de 900mg diárias, no tratamento da doença de Chagas, não foi efetiva em dois estudos conduzidos na Bolívia e no Brasil Central (Gianella et al., 1997; Rassi et al., 2007). Outro fármaco, o megazol, derivado tiadiazólico apresentou efeitos supressores sobre a síntese protéica de amastigotas em concentrações menores que os nitroderivados. Seu emprego é questionável em virtude do risco de genotoxicidade (De Castro & Meirelles, 1990). Para a obtenção

de resultados satisfatórios, deve-se levar em conta a dose, a idade do paciente, o tipo de cepa e a fase da doença (Filardi & Brener, 1987; Ianni & Mady, 1998). Lages-Silva et al. (1990) observaram que macrófagos de camundongos tratados com Megazol, Nf ou Bz apresentaram maior eficácia na fagocitose das formas circulantes de *T. cruzi* quando comparados aos grupos não tratados. Cerca de seis horas após a administração de uma única dose (elevada) do quimioterápico, o parasito desaparecia da circulação sanguínea. As drogas parecem induzir alterações na membrana do parasito de forma que haja exposição de moléculas antigênicas na superfície, as quais serão reconhecidas pelo sistema imunológico.

Os naftoimidazóis, substâncias extraídas da árvore do gênero *Tabebuia* (os ipês) e testadas em camundongos infectados com *T. cruzi*, foram bastante efetivos contra todas as formas do parasito, ou seja, as formas tripomastigotas, amastigotas e epimastigotas. A toxicidade do composto foi diminuída, fazendo alterações na molécula original. Dos 60 derivados naftoimidazólicos, apenas 3, denominados N1, N2 e N3, foram utilizados. A concentração do composto inibe 50% dos parasitos (IC_{50}), o que representa uma atividade quase igual à do Bz, com a diferença de não ter a mesma toxicidade (Furtado, 2006).

Estudos experimentais em camundongos infectados com *T. cruzi* que desenvolveram cardiopatia chagásica crônica, quando tratados com células-tronco, apresentaram redução do número de células inflamatórias e da área de fibrose. O transplante de células-tronco não alterou a carga parasitária, mas houve reparação dos danos causados durante os anos de agressão ao miocárdio (Santos et al., 2004).

MECANISMO DE AÇÃO DO NIFURTIMOX (Nf) E BENZONIDAZOL (Bz)

O Nf e o Bz atuam por meio da formação de radicais livres e/ou metabólitos nucleofílicos. O grupo nitro de ambas as drogas é reduzido pela ação da nitroreductase, induzindo a formação de vários radicais livres intermediários e de metabólitos nucleofílicos. Este processo começa com a reação catalisada pelo NADPH-citocromo P-450 reductase, que atua sobre o grupo nitro da molécula R-NO₂, levando à produção de um radical ânion nitro intermediário (R-NO₂⁻). Para os nitrofuranos, o radical tem elevado potencial redox e sofre uma reação do tipo ciclo redox com o oxigênio molecular, o qual reduz e regenera parcialmente a droga (Diaz et al., 1988). Paralelamente, o oxigênio é reduzido a ânion superóxido (O₂⁻) pela transferência de um elétron para o oxigênio no nível do complexo da NADPH desidrogenase. A produção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) ocorre por dismutação do ânion superóxido. O ânion superóxido e o H₂O₂, na presença do íon férrico Fe³⁺, formam o radical livre hidroxila (reação Haber-Weiss). Os radicais livres produzidos, principalmente o OH•, ligam-se a lipídios, proteínas e DNA, lesando as células (Urbina, 1999; Maya et al., 2006).

O mecanismo de ação do Nf envolve a produção de radicais livres por meio da redução do grupamento nitro, o que leva a uma intoxicação do parasito (Urbina,

1999). Como consequência, os tecidos do hospedeiro também podem ser lesados e ocorrer reações de hipersensibilidade, anorexia, vômitos, polineurite e depressão da produção de células da medula óssea (Urbina, 2002). O principal mecanismo de ação do Nf contra o *T. cruzi* é a produção do radical livre hidroxila (OH•).

Diferentemente, a ação antiparasitária do Bz, que tem potencial redox negativo, não envolve danos oxidativos. Seu mecanismo de ação ainda não está totalmente elucidado, pode agir por meio do mecanismo de ação *stress* reductivo, envolvendo a modificação covalente das macromoléculas por intermediários nitroreduzidos, ou por outras interações de nitroredução com os componentes do parasito (Urbina, 2002; Docampo & Moreno, 1984).

Tem sido demonstrado que o Bz incrementa a fagocitose, aumenta a letalidade do *Trypanosoma* por meio da indução de produção da citocina interferon gama e da inibição da NADH-fumarato redutase do *T. cruzi* (Docampo & Moreno, 1984). A droga distribui-se no meio extra e intracelular, agindo tanto sobre as formas tripomastigotas como sobre as formas amastigotas (Polak & Richle, 1978; Silveira et al., 2000).

O Bz também causa efeitos colaterais, sendo os mais importantes a dermatopatia alérgica e a polineuropatia periférica, que, em alguns casos, pode levar à interrupção do tratamento (Urbina, 1999; Urbina & Docampo, 2003).

REAÇÕES ADVERSAS

A aplicação clínica do Bz demanda atenção por causa do aparecimento de reações adversas. Sérios efeitos adversos têm sido relatados em adultos tratados com Bz, incluindo dermatopatia alérgica generalizada, neuropatia periférica e depressão da medula óssea. A dermatite é um fenômeno imprevisível e atinge em torno de 20% dos pacientes tratados com Bz. Essas reações aparecem entre o sétimo e o décimo dia de tratamento e levam, muitas vezes, à interrupção do tratamento. Fenômenos como erupções cutâneas, edema generalizado, febre, linfonodos enfartados, dor muscular e dor nas articulações são raros. Outro efeito indesejável induzido pelo Bz é a polineurite, mas é pouco freqüente. Seus índices de ocorrência ficam em torno de 7% dos pacientes submetidos à terapia com Bz, em geral quando se ultrapassa a dose diária de 300mg. Neste caso, o paciente pode apresentar um aumento da sensibilidade à dor nas extremidades dos dedos ao cortar as unhas e ao lavar as mãos com água fria.

Segundo Cançado (2002), a depressão da medula óssea (neutropenia, agranulocitose e púrpura trombocitopênica) é um efeito adverso raro que pode ser induzido pelo Bz. Recomenda-se, por esse motivo, realizar o hemograma antes de iniciar o tratamento e nos dias 10º, 20º, 37º e 52º depois de iniciada a terapia (Cançado, 2002; Sosa et al., 2004). As reações adversas apresentadas pela depressão da medula óssea, embora raras, são a neutropenia, a agranulocitose e a púrpura trombocitopênica. Dessas alterações, a neutropenia é a mais freqüente. Na

agranulocitose, os primeiros sintomas observados são faringite e febre. Os sintomas precursores da púrpura trombocitopênica são petéquias e hemorragias na mucosa da boca. Essas reações devem desaparecer quando a dose é reduzida ou o tratamento é interrompido (Cançado, 1997, 2000; Pfaffenbach et al., 2002; Silveira et al., 2000).

Na Argentina, tem-se utilizado o ácido tióctico (50 a 100mg/dia) associado com Bz, na dose de 5mg/kg/dia por 30 dias, para prevenir o aparecimento de reações indesejáveis. O ácido tióctico é um antioxidante similar às vitaminas C, E e A que age como um depurador de radicais livres. Em dois grupos de pacientes infectados pelo *T.cruzi* (um grupo recebeu o ácido tióctico mais Bz e o outro, placebo mais Bz), a proporção de pessoas afetadas com pelo menos uma reação adversa foi semelhante entre os grupos: 54,8% e 58%, respectivamente. Concluíram os autores que a associação com ácido tióctico não previne a ocorrência de reações adversas induzidas pelo Bz (Carpintero, 1983; Sosa et al., 2004).

Diante das reações colaterais dos dois fármacos usados no tratamento etiológico da infecção chagásica, é necessária uma cuidadosa atenção para a adequação da dose dos medicamentos e o manejo de reações adversas que ocorrem em cerca de 30% a 60% dos pacientes tratados na fase crônica com gravidade variável (Cançado, 2002). Para outros autores (Viotti et al. 1994), essas reações ocorrem em apenas 20% dos casos.

Em crianças os efeitos adversos destes fármacos são bem tolerados. Com o uso do Nf, as reações principais são: perda de peso, anorexia, insônia, distúrbios psíquicos, hiporexia, vômitos, epigastralgia, irritabilidade e neurite periférica sensitiva. Com o Bz, as reações adversas mais frequentes incluem: *rash* cutâneo, prurido, cefaléia, epigastralgia, febre, fadiga, artralgia e náuseas (Cançado, 2002; Sosa et al., 2004).

Um estudo foi realizado na Argentina com 45 crianças na faixa etária de 2 a 13 anos, média de 5 anos, tratadas com Nf (10-15mg/kg/dia) em três tomadas durante 30 a 90 dias, na dose máxima de 480mg/dia. Em 53% dessas crianças (24/45), não foram detectados sinais de toxicidade atribuída ao Nf e 22% (10) manifestaram transtornos gastrointestinais (Freilij & Altchek, 1998).

Viotti et al. (1994) demonstraram em estudo que 80% dos pacientes tratados com Bz permaneceram livres de reações adversas, as mais frequentes foram dermatites leves em 13,7% dos pacientes e intolerância gastrointestinal em 2,3%.

Em 1990, foram iniciados os primeiros ensaios clínicos duplos cegos com Bz em crianças na faixa etária de 7 a 12 anos para verificar o efeito do tratamento durante a fase crônica; um deles foi realizado no Brasil (Andrade et al., 1996) e o outro na Argentina (Sosa et al, 1998), mas ambos seguiram o mesmo protocolo. No Brasil, foram selecionadas 129 crianças, 64 receberam Bz na dose de 5 a 7,5mg/kg/dia, durante 60 dias, e 65 receberam placebo. No final de três anos de seguimento, as crianças tratadas com Bz apresentaram títulos sorológicos cinco vezes mais baixos que aquelas que receberam placebo. Os resultados demonstraram que, para 37 (58%) crianças, o tratamento com Bz foi bem sucedido em comparação com o

grupo placebo (5%). Na Argentina, foram avaliadas 106 crianças, 55 receberam Bz e 51 receberam placebo. Os resultados da sorologia mostraram uma diminuição significativa da média dos títulos de anticorpos no grupo que recebeu o Bz, sendo a droga eficaz em 62% das crianças (Sosa et al, 1998).

Na experiência realizada no Brasil, durante o seguimento, o tratamento foi suspenso em uma única criança com presença de *rash* cutâneo moderado (Andrade et al., 1996). Reações neuroperiféricas, hematológicas e hepáticas não foram observadas em nenhuma criança em uso de Bz. Este estudo mostrou que 33% dos casos abandonaram o tratamento e menos de 5% dos participantes apresentaram reações adversas como erupção cutânea, prurido, náuseas, anorexia, cefaléia, dor no estômago e artralgia. Esses achados são compatíveis com observações anteriores de mais baixa toxicidade em crianças do que em adultos (Andrade et al., 1996).

Viotti et al. (2006) demonstraram que 37/283 (13%) pacientes chagásicos em tratamento com Bz tiveram o tratamento suspenso por causa de reações adversas severas: dermatite alérgica em 33 pacientes e alterações gastrintestinais em 4. Dos pacientes que completaram o tratamento, 55/246 (22,2%) apresentaram reações adversas ao Bz, sendo a dermatite alérgica leve a mais freqüente – 36 (14,6%) –, seguida pela desordem gastrintestinal que se manifestou em 11 pacientes (4,5%) (Viotti et al., 2006).

INDICAÇÃO DO TRATAMENTO PELO MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL EM 2005

Dados da literatura mostram que o tratamento etiológico com os fármacos Bz e Nf na fase aguda da doença de Chagas é eficaz, com índice de cura superior a 80%. Na fase crônica tardia, a taxa de cura varia de 8% a 30%, porém, em crianças menores de 15 anos, na fase crônica recente, a taxa é de 50% a 60%. São escassos os dados na literatura que demonstram a eficácia do tratamento com Bz ou Nf contra a infecção chagásica na fase crônica tardia em adultos. Provavelmente, isso tenha como causa as dificuldades relacionadas com o tempo de seguimento ou com o tempo de infecção do paciente (Ferreira, 1990; Rassi & Luquetti, 1992; Streiger et al., 2004; Fabro et al., 2007). Apesar de não haver negatização dos testes sorológicos na fase crônica tardia em adultos tratados com Bz ou Nf, há fortes argumentos favoráveis ao uso desses fármacos nesta fase, visto que podem reduzir o número de parasitos e impedir a evolução da doença, proporcionando melhor qualidade de vida ao paciente (Andrade et al., 1991; Viotti et al., 2006).

O tratamento antitripanosomal é recomendado para todos os casos agudos e congênitos da doença de Chagas, em infecções crônicas reativadas e em indivíduos com idade inferior a 18 anos. Em adultos na faixa etária de 19 a 50 anos, sem doença cardíaca avançada, o tratamento também pode ser instituído. Para os pacientes acima de 50 anos, sem cardiopatia avançada, o tratamento antitripanosomal é considerado opcional. Decisões de tratamento individualizado

para adultos devem levar em consideração o potencial benefício, o curso prolongado e os efeitos adversos frequentes da droga. Criteriosas avaliações devem ser feitas ao se determinar o tratamento de pacientes com o vírus da imunodeficiência humana ou daqueles que esperam por um transplante de órgão (Bern et al., 2007; Rocha et al., 2007). Depois de muitas discussões sobre o tratamento da fase crônica da doença de Chagas, chegou-se ao consenso de que o melhor é tratar todas as formas, inclusive a cardíaca e a digestiva, analisando individualmente cada caso e levando em consideração o risco-benefício. O tratamento com Bz ou Nf só não deve ser instituído em pacientes acometidos pelas formas cardíaca e digestiva avançadas, uma vez que não há evidências de benefícios quanto ao prognóstico (Cançado, 1991; Ministério da Saúde, 2005). A comprovação de cura, especialmente na fase crônica, depende de vários fatores: fase da doença, idade do paciente, tempo de seguimento, exames parasitológicos e sorológicos. Especialistas apontam que o tempo necessário para a negatificação é variável e depende da fase da doença: três a cinco anos para a fase aguda, um ano para a infecção congênita, cinco a dez anos para a fase crônica recente e acima de vinte anos para a fase crônica de longa duração. Nesta fase, pode ocorrer o declínio persistente e progressivo acima de três diluições dos títulos sorológicos, o que sugere futura negatificação. Em qualquer momento da evolução do paciente, a positividade dos exames parasitológicos indica fracasso terapêutico (Ministério da Saúde, 2005; Streiger et al., 2004).

Em 1998, o Ministério da Saúde passou a indicar o Nf e o Bz no tratamento da doença de Chagas para pacientes nos estágios definidos como fase aguda, exacerbações em imunocomprometidos, forma indeterminada em crianças e adolescentes, forma indeterminada em adultos e cardíacos assintomáticos e em transplantados de órgãos (Freilij & Altchek, 1998; Ministério da Saúde, 1997; Ministério da Saúde, 2005).

O tratamento indicado a pacientes em idade pediátrica tem demonstrado eficácia nas primeiras semanas após uma infecção vetorial, nos primeiros meses de vida após infecção congênita, em casos de transfusão recente ou nos primeiros estágios de uma reativação; a taxa de cura fica acima de 80% (Blanco et al., 1997). A falha terapêutica observada em parte dos pacientes chagásicos pode ser explicada pela existência de cepas naturalmente resistentes às drogas (Braga et al., 2000), mas também pela deficiência da resposta imune (Ferraz et al., 2007). Estudo realizado na cidade de Santa Fé, na Argentina, com 95 crianças na fase crônica da infecção chagásica, na faixa etária de 1 a 14 anos acompanhadas por até 24 anos, tratadas com Bz ou Nf, mostrou maior taxa de cura de 75% em crianças menores de 4 anos, nas maiores de 9 anos a taxa foi de 43% (Streiger et al., 2004). Fabro et al. (2007) avaliaram a eficácia do Nf e/ou Bz, durante 21 anos, em adultos (17 a 46 anos) na fase crônica da doença de Chagas. Participaram do estudo 111 pacientes, sendo 54 tratados (27 com Nf e 27 com Bz) e 57 não tratados. Segundo os critérios de cura, o tratamento foi eficaz em 37% dos pacientes e mostrou efeito protetor na evolução clínica (Fabro et al., 2007).

Tratamento na fase aguda

O tratamento da doença de Chagas na fase aguda deve ser realizado em todos os casos e o mais rápido possível após confirmação parasitológica, independentemente da via de transmissão. Na gestação não é recomendado o tratamento em razão da toxicidade das drogas disponíveis (Ministério da Saúde, 2005).

Tratamento nas infecções congênicas

A doença de Chagas congênita é considerada aguda e de notificação compulsória. Em casos de resultados positivos e/ou inconclusivos em criança assintomática, deve-se repetir a sorologia entre o 6º e 9º mês após o nascimento. A sorologia positiva requer o início imediato do tratamento específico. A sorologia negativa, após o período acima referido, permite a exclusão da infecção chagásica (Ministério da Saúde, 2005).

Tratamento de infecção acidental

Pesquisadores, técnicos e alunos que trabalham com *Trypanosoma cruzi*, quando infectados acidentalmente com agulha infectada ou outra forma que possibilite a penetração do parasito, são considerados infectados. Neste caso, o tratamento é indicado imediatamente depois de realizado o exame parasitológico do sangue e o sorológico, durante 10 a 15 dias, repetindo o exame sorológico com 15, 30 e 60 dias após o acidente. Recomenda-se que todo laboratório que trabalha com *Trypanosoma cruzi* tenha disponível o benzonidazol ou nifurtimox (Ministério da Saúde, 2005, Coura & Castro, 2002).

Tratamento na fase crônica recente

A forma crônica da doença de Chagas é considerada recente quando o paciente se encontrar no intervalo de 5 a 12 anos após a infecção inicial. Crianças com idade igual ou inferior a 12 anos e sorologia positiva devem ser tratadas imediatamente. Para adultos nesta fase, o tratamento é indicado mesmo quando não há evidência comprovada do sucesso da terapia (Ministério da Saúde, 2005).

Tratamento na fase crônica tardia

A Organização Mundial de Saúde (OMS) e a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) divulgaram os conhecimentos sobre o tratamento e recomendaram sua realização em países onde há pouco controle da doença de Chagas. O tratamento na fase crônica tardia visa reduzir os níveis de parasitemia, evitar o aparecimento ou

progressão de lesões viscerais e interromper a cadeia de transmissão. O tratamento nesta fase é indicado na forma indeterminada e nas formas cardíaca e digestiva leves (Ministério da Saúde, 2005).

Casos em que o tratamento não é recomendado

Por causa da toxicidade das drogas Bz e Nf, o tratamento da doença de Chagas não deve ser indicado a gestantes, mulheres em idade fértil sem uso de contraceptivos ou que estejam no período de lactação, pessoas sob uso de álcool e ainda em casos de insuficiência hepática ou renal. O tratamento também não deve ser indicado em casos de co-infecção com lesões graves associadas à infecção chagásica em qualquer fase da doença, exceto nos casos de pacientes imunodeprimidos de qualquer natureza, isso porque pode ocorrer reativação da doença de Chagas, que provocará a necessidade de tratamento específico (Ministério da Saúde, 2005).

CRITÉRIOS DE CURA

A maioria dos pesquisadores perdeu o interesse em desenvolver estudos tão longos diante das dificuldades para avaliar os critérios de cura dos pacientes chagásicos submetidos ao tratamento com as drogas Bz e Nf. Nessas circunstâncias, quando não existe uma correlação clínica que confirme, consideram-se curados aqueles pacientes cujos testes sorológicos e parasitológicos se tornam negativos. Recomenda-se a avaliação clínica dos pacientes pelo menos uma vez por ano. Os exames clínicos e complementares (raios X de tórax, esôfago e cólon, eletrocardiograma (ECG), Holter, ecocardiograma) definem a forma clínica da doença em pacientes com sorologia positiva (Cançado, 1998).

Os testes sorológicos, baseados na averiguação da resposta imunológica gerada pela presença do parasito ou de seus antígenos, podem permanecer positivos por longo tempo na ausência de *T. cruzi* (Rassi & Luquetti, 1992; Rassi et al., 2002).

Os exames parasitológicos devem ser realizados antes e depois do tratamento etiológico. Eles permitem a obtenção do perfil de parasitemia do paciente, o que auxilia seu seguimento clínico (Silveira et al., 2000; Rassi et al., 1991).

Os exames parasitológicos utilizados como critério de cura incluem xenodiagnóstico, hemocultura e PCR (Cançado, 1998).

Segundo Rassi et al. (1991), um único exame de xenodiagnóstico com 40 ninfas de triatomíneos permite encontrar 24% de pacientes positivos. Para aumentar as chances de positividade, devem ser realizados, no mínimo, dois exames (80 triatomíneos). A hemocultura é um teste de sensibilidade similar ao xenodiagnóstico natural, com a vantagem de ser possível analisar volumes maiores de sangue, o que aumenta a possibilidade de detecção do parasito. Em consequência da baixa parasitemia na fase crônica da doença, exames parasitológicos com resultados negativos não significam cura parasitológica. Ainda que os exames

parasitológicos não permitam comprovar a cura, eles podem auxiliar na avaliação da eficácia dos medicamentos. O valor de um único exame parasitológico positivo, após conclusão do tratamento, indica que o fármaco não foi eficaz (Andrade et al., 1991; Ávila et al., 1993; Cançado, 1999).

Já foram publicados vários trabalhos que empregaram a técnica da reação em cadeia de polimerase (PCR) para a detecção de DNA ou RNA de *T. cruzi*, visando aumentar a sensibilidade diagnóstica das técnicas em rotina. Os resultados da PCR mostraram sensibilidade entre 96,5% e 100% (Ashall et al., 1988; Ávila et al., 1993; Brito et al., 1995). Atualmente, a técnica de PCR vem sendo testada em ensaios experimentais e clínicos, demonstrando bons resultados, principalmente para avaliação de falha terapêutica em humanos (Galvão et al., 2003; Portela-Lindoso & Shikanai-Yasuda, 2003; Gomes et al., 1999). Trabalhos comparativos de amostras de indivíduos chagásicos, por meio de testes parasitológicos, sorológicos e moleculares, verificaram que a técnica de PCR apresentou uma maior sensibilidade em relação aos demais métodos.

As técnicas sorológicas recomendadas são imunofluorescência indireta (IFI), ensaio imunoenzimático (ELISA) e hemaglutinação indireta. Todas elas estão disponíveis no mercado em forma de *kits* diagnósticos e são de execução relativamente simples, apresentando sensibilidade e especificidade adequadas (Zicker et al., 1990) quando utilizadas em associação. Essas técnicas permitem comparar os títulos de anticorpos séricos antes, durante e após a conclusão do tratamento. A cura sorológica é determinada pela obtenção de resultados sorológicos pós-terapêuticos completamente negativos por longo período de acompanhamento (Silveira et al., 2000; Rassi et al., 1991; Sosa et al., 1998).

Em vários países, já foi demonstrado que crianças abaixo de 12 anos de idade respondem muito mais rapidamente ao tratamento que os adultos. Sugere-se, portanto, que o seguimento sorológico de pacientes tratados seja realizado por vários anos e que a sorologia seja feita com técnicas de princípios diferentes. Os resultados obtidos devem ser comparados sempre com os níveis iniciais de anticorpos. Depois de cinco a dez anos de seguimento, se houver persistência de reações positivas, deve-se presumir que o tratamento foi ineficaz (Sosa et al., 1998; Silveira et al., 2000).

Lise mediada pelo complemento (CoML) é uma técnica que se mostrou extremamente promissora na década de 1980, quando foi empregada como critério de cura ante a detecção ou a ausência de anticorpos líticos. A presença de anticorpos líticos no soro de pacientes chagásicos tratados com Bz indica que o tratamento foi ineficaz. Os anticorpos líticos são detectados pela lise mediada por complemento, utilizando tripomastigotas vivos. Esses anticorpos líticos aparecem 20 dias depois da infecção e desaparecem um ano depois do sucesso da quimioterapia (Galvão et al., 1993). As dificuldades de padronização desta técnica, assim como a necessidade do uso de parasitos vivos, têm levado ao seu desuso. Uma alternativa recente é o emprego de citometria de fluxo (Martins Filho et al. 2002).

Galvão et al. (1993) sugerem que a variabilidade na comprovação da eficácia do tratamento com Bz depende do tempo de seguimento dos pacientes, que poderá ser de meses para a fase aguda, de anos para a fase crônica recente e de décadas para a fase tardia. Nesse ponto discordam de outros autores segundo os quais a eficácia depende da fase da doença ou da idade do paciente (Ferreira, 1990). A resistência natural do *T. cruzi* aos nitroderivados foi sugerida como um fator importante na explicação das baixas taxas de cura detectadas no tratamento de pacientes chagásicos (Filardi & Brener, 1987).

Fragata Filho et al. (1994) acompanharam por sete anos 71 pacientes tratados com Bz, comparando-os com 49 pacientes do grupo controle, tendo verificado uma nítida piora clínica neste último grupo (14%), comparativamente ao grupo tratado (7%). Os critérios clínicos usados neste estudo foram alterações no eletrocardiograma, maior porcentagem de estabilização do quadro clínico em comparação com os controles não tratados, redução da geração de lesões viscerais e redução nos títulos de soro. Os efeitos colaterais estavam presentes em 60% dos pacientes.

Andrade et al. (2004) mostraram evidências de sucesso da quimioterapia com Bz entre crianças e adolescentes chagásicos acompanhados por seis anos (eficácia de 64%). No final do seguimento, as crianças que receberam Bz apresentaram soro com títulos cinco vezes mais baixos do que as que receberam placebo, além da redução da progressão da doença (Andrade et al., 2004; Viotti et al., 2006).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A doença de Chagas é uma enfermidade crônica e cerca de 60% da população de chagásicos se encontram na forma indeterminada. Em geral, o paciente nessa forma clínica pode viver muitos anos no completo desconhecimento de sua condição de portador. Na década de 1980, a comunidade científica brasileira indicava o tratamento específico para todos os casos agudos e congênitos da doença. Atualmente, a decisão oficial dos Ministérios da Saúde do Brasil, da Argentina e da Bolívia é prover o tratamento tanto dos casos agudos como dos crônicos recentes. Em se tratando da forma crônica indeterminada tardia e de portadores de cardiopatia ou da forma digestiva sem maior gravidade, a decisão de tratar depende da droga envolvida e da taxa de riscos-benefícios e do consenso entre o paciente e o médico, ambos cientes do alcance do tratamento. Buscam-se novas drogas com alta atividade antiparasitária e melhor perfil de segurança no tratamento dos portadores da infecção chagásica, como o posaconazol. O grande benefício do tratamento da fase indeterminada da doença é a prevenção da evolução da doença para as formas graves. O grande desafio atual, além do desenvolvimento de drogas mais eficazes e com menos efeitos adversos, é o de capacitar profissionais de saúde para o diagnóstico e tratamento da doença.

ABSTRACT

Etiologic treatment of Chagas disease in Brazil

Our research group has experience in monitoring adverse reactions in Chagas disease patients in treatment with benznidazole. This article was born out of need for a review that incorporated different aspects pertaining to the etiologic treatment of Chagas disease. To this end, a search of original articles and revision papers indexed to Medline and Lilacs, and other publications related to the topic was undertaken. Nifurtimox and benznidazole, two chemotherapeutic agents currently used in Chagas disease patients, have an efficacy higher than 80% in the acute phase, however only 8 to 30% in the chronic phase. The success of treatment may be reduced due to various limitations of the currently available drugs, such as prolonged therapeutic scheme, adverse reactions and parasite genetic variability, including the existence of *T. cruzi* strains naturally resistant to these drugs. This review reveals the necessity of development of new anti-*T. cruzi* drugs with lower toxicity and higher effectiveness in the chronic phase.

KEY WORDS: Treatment. Chagas disease. Drug adverse reactions. Benznidazole. Nifurtimox.

REFERÊNCIAS

1. Andrade ALSS, Zicker F, Oliveira RM, Silva AS, Luquetti A, Travassos LR, Almeida IC, Andrade SS, Andrade JG, Martelli CMT. Randomised trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. *Lancet* 348: 1407- 1013, 1996.
2. Andrade AL, Martelli CM, Oliveira RM, Silva AS, Aires AI, Soussumi DT, Covas LS, Silva AS, Andrade JG, Travassos LR, Almeida IC. Short report: Benznidazole efficacy among *Trypanosoma cruzi*-infected adolescents after a six-year follow-up. *Am J Trop Med Hyg* 71: 597, 2004.
3. Andrade SG, Freitas LAR, Peyrol S, Pimentel AR, Sadigursky M. Experimental chemotherapy of *Trypanosoma cruzi* infection: persistence of parasite antigens and positive serology in parasitological cured mice. *Bull World Health Org* 69: 191-197, 1991.
4. Ashall F, Yip-Chuck DAM, Luquetti AO, Miles MA. Radiolabeled total parasite DNA probe specifically detects *Trypanosoma cruzi* in mammalian blood. *J Clin Microbiol* 26: 576-568, 1988.
5. Avila HA, Pereira JB, Thiemann O, Paiva E, Degrave W, Morel CM, Simpson L. Detection of *Trypanosoma cruzi* in blood specimens of chronic chagasic patients by polymerase chain reaction amplification of kinetoplast minicircle DNA: comparison with serology and xenodiagnosis. *J Clin Microbiol* 31: 2421-2426, 1993.
6. Bern C, Montgomery SP, Herwaldt BL, Rassi Jr A, Marin-Neto JA, Dantas RO, Maguire JH, Acquatella H, Morillo C, Kirchhoff LV, Gilman RH, Reyes PA, Salvatella R, Moore A. Evaluation and treatment of Chagas disease in the United States: a systematic review. *JAMA* 298: 2171-2181, 2007.
7. Blanco S, Spillman C, Zarate J, Flores I, Medina J, Sosa-Estani S. Tratamiento y seguimiento de 147 niños de 1 a 14 años, infectados por *Trypanosoma cruzi*, en el área rural del departamento Pellegrini, en vigilancia entomológica. Santiago del Estero. Argentina. *Medicina (Buenos Aires)* 57(Supl III): 43-44, 1997.
8. Braga MS, Lauria-Pires L, Aragañaraz ER, Nascimento RJ, Teixeira ARL. Persistent infections in chronic Chagas' disease patients treated with anti-*Trypanosoma cruzi* nitroderivatives. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 42: 157-161, 2000.

9. Brener Z. *Contribuição ao estudo de terapêutica experimental da doença de Chagas*. Tese. Fac. Odont. Farm. Universidade de Minas Gerais. Mimeografada. Belo Horizonte, 1961. 79p.
10. Brener Z. Terapêutica experimental na doença de Chagas. In: Brener Z, Andrade Z, BarraL-Neto M (eds.). *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*. 2.^a ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan Ed., 2000. p. 379-388.
11. Breniere SF, Poch O, Selaes H, Tibayrene M, Lemesre J, Antezana G, Desjeux P. Specific humoral depression in chronic patients infected by *Trypanosoma cruzi*. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 26: 245-258, 1984.
12. Brito C, Cardoso MA, Vanni CM, Hasslocher-Moreno A, Xavier SS, Oelemann W. Polymerase Chain Reaction Detection of *Trypanosoma cruzi* in Human Blood Samples as a Tool for Diagnosis and Treatment Evaluation. *Parasitology* 110: 241-247, 1995.
13. Cañçado JR. Quimioterapia da doença de Chagas: uma visão atual. In: Castro LP, Rocha PRS, Cunha AS (eds). *Tópicos em Gastroenterologia*. 2.^a ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1991. p. 269-276.
14. Cañçado JR. Terapêutica específica. In: Dias JCP, Coura JR (eds). *Clínica e terapêutica da doença de Chagas*. Rio de Janeiro, Ed. Fiocruz., 1997. p.323-351.
15. Cañçado JR. Tratamiento específico da doença de Chagas crônica pelo Benznidazol. *Rev Patol Trop* 27 (Supl): 21-23, 1998.
16. Cañçado JR. Criteria of Chagas disease cure. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94(suppl.1): 331-335, 1999.
17. Cañçado JR. Tratamento etiológico da doença de Chagas pelo benznidazole. In: Brener Z, Andadre ZA, Barral-Neto M (Eds). *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*. 2. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2000. p.389-405.
18. Cañçado JR. Long term evaluation of etiological treatment of Chagas disease with benzonidazole. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 44: 1-20, 2002.
19. Carpintero DJ. Uso del ácido tióctico para la prevención de los efectos secundarios provocados por el benznidazol en pacientes con infección de Chagas crônica. *Medicina (Buenos Aires)* 43: 285-290, 1983.
20. Castro JA, Mecca MM, Bartel LC. Toxic side effects of drugs used to treat Chagas' disease (American Trypanosomiasis). *Human & Experimental Toxicology* 25: 471-479, 2006.
21. Coura JR, Abreu LL, Willcox HPF, Petana W. Estudo comparativo controlado com emprego de benznidazole, nifurtimox e placebo, na forma crônica da doença de Chagas, em uma área de campo com transmissão interrompida. Avaliação preliminar. *Rev Soc Bras Med Trop* 30: 139-144, 1997.
22. Coura JR, Castro SL. A critical review on Chagas' disease chemotherapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 3-24, 2002.
23. De Castro SL, Meirelles MN. Mechanism of action of a nitroimidazole-thiadiazole derivate upon *Trypanosoma cruzi* tissue culture amastigotes. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 85: 95-99, 1990.
24. Dias JCP, Coura JR. Epidemiologia. In: Dias JCP, Coura JR (eds) *Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas. Uma Abordagem Prática para o Clínico Geral*. Rio de Janeiro, Editora FIOCRUZ, 1997. p.33-66.
25. Díaz DE, Toranzo EG, Castro JA, Franke DE, Cazzulo BM, Cazzulo JJ. Interaction of Benznidazole reactive metabolites with nuclear and kinetoplasmic DNA, proteins and lipids from *Trypanosoma cruzi*. *Experientia* 44: 880-881, 1988.
26. Docampo R, Moreno SN. Free radical metabolites in the mode of action of chemotherapeutic agent and phagocytic cells on *Trypanosoma cruzi*. *Rev Infect Dis* 6: 223-238, 1984.
27. Fabbro DL, Streiger, ML, Arias ED, Bizai ML, Del Barco M, Amicone NA. Trypanocide treatment among adults with chronic Chagas disease living in Santa Fe city (Argentina), over a mean follow-up of 21 years: parasitological, serological and clinical evolution. *Rev Soc Bras Med Trop* 40: 1-10. 2007.
28. Ferraz ML, Gazzinelli RT, Alves RO Urbina JA, Romanha AJ. The Anti-*Trypanosoma cruzi* activity of posaconazole in a murine model of acute Chagas' disease is less dependent on gamma interferon than that of benznidazole. *Antimicrob Agents Chemother* 51: 1359-1364, 2007.
29. Ferreira HO. Tratamento da forma indeterminada da doença de Chagas com Nifurtimox e Benznidazol. *Rev Soc Bras Med Trop* 23: 209-211, 1990.

30. Filardi LS, Brener Z. Susceptibility and natural resistance of *Trypanosoma cruzi* strains to drugs used clinically in Chagas disease. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 81: 755-759, 1987.
31. Fragata Filho AA, Silva MAD, Boainain E. Tratamento etiológico da doença de Chagas na fase aguda e crônica. *Rev Soc Card São Paulo* 4: 192-197, 1994.
32. Freilij H, Altheh J. Respuesta terapéutica al nifurtimox en pacientes de edad pediátrica con enfermedad de Chagas crónica de la ciudad de Buenos Aires, Argentina. *Rev Patol Trop* 27 (Supl): 17-19, 1998.
33. Furtado F. Dobradinha contra Chagas. *Ciência Hoje* 39: 44-45, 2006.
34. Galvão LMC, Chiari F, Macedo AM, Luquetti AO, Silva AS, Andrade AL. PCR as a tool for monitoring, *Trypanosoma cruzi* parasitemia in childhood after specific chemotherapy. *J Clin Microbiol* 41: 5066-5070, 2003.
35. Galvão LMC, Nunes RMBV, Cañado JR, Brener Z, Krettli AU. Lytic antibody titre as a means of assessing cure after treatment of Chagas disease: a 10 years follow up study. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 87: 220-223, 1993.
36. Garcia S, Ramos CO, Senra JFV, Vilasboas F, Rodrigues MM, Campos De Carvalho AC, Santos RR, Soares MBP. Treatment with Benznidazole during the Chronic Phase of Experimental Chagas' Disease Decreases Cardiac Alterations. *Antim Agents Chemoth* 49: 1521-1528, 2005.
37. Gianella A, Holzman A, Liozh N, BarjA ZY, Peredo C. Eficácia del alopurinol en la enfermedad de Chagas crônica. Resultados del estudio realizado en Santa Cruz, Bolivia. *Bol Cientif Cenotrop* 16: 25-30, 1997.
38. Gomes ML, Galvão LMC, Macedo AM, Pena SDJ, Chiari E. Chagas' disease diagnosis: comparative analysis of parasitologic, molecular and serologic methods. *Am J Trop Med Hyg* 60: 205-210, 1999.
39. Ianni BM, Mady C. Terapêutica da forma crônica da Doença de Chagas. É eficaz o tratamento etiológico? *Arq Bras Cardiol* 70: 59-61, 1998.
40. Lages-Silva E, Filardi LS, Brener Z. Effect of the host specific treatment in the phagocytosis of *Trypanosoma cruzi* forms by peritoneal macrophages. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 85: 401-405, 1990.
41. Lazzarri JO, Freilij H. Tratamiento de la enfermedad de Chagas crónica en Argentina. *Rev Patol Trop* 27 (Supl.): 11-16, 1998.
42. Luquetti AO. Megaeosôfago e anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi*. *Rev Goiana Med* 33: 1-16, 1987.
43. Macedo VO. Forma indeterminada da doença de Chagas. In: Dias JCP, Coura JR (eds). *Clínica e terapêutica da doença de Chagas*. Rio de Janeiro, Editora FIOCRUZ, 1997. p. 135-151.
44. Martins-Filho AO, Santos ESM, Carvalho AT, Oliveira CR, Rassi A, Luquetti AO, Rasse GG & Brener Z. Double-blind study to evaluate flow cytometry analysis of anti-live trypomastigote antibodies for monitoring treatment efficacy in cases of human Chagas disease. *Clin Diagn Lab Immunol* 9: 1107-1118, 2002.
45. Maya JD, Cassels, BK, Iturriaga-Vasquez P, Ferreira J, Faúndez M, Galanti N, Ferreira A, Morello A. Mode of action of natural and synthetic drugs against *Trypanosoma cruzi* and their interaction with the mammalian host (Review.) *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 146: 601-620, 2006.
46. Mazza S, Cássio R, Zucardi El Primer caso agudo de enfermedad de Chagas comprobado em Tucumán y su tratamiento com Bayer 7602. *Misión de Estudios de Patología Regional (MEPRA)* 32: 3-18, 1937.
47. Mendes RP, Hoshino-Shimizu S, Silva AMM, Mota I, Heredia RA, Luquetti AO, Leser PG. Serological diagnosis of Chagas disease: a potential confirmatory assay using preserved protein antigens of *Trypanosoma cruzi*. *J Clin Microbiol* 35: 1829-1834, 1997.
48. Ministério da Saúde. Tratamento etiológico da doença de Chagas, 2ª ed. Brasília: *Fundação Nacional de Saúde*, 1997. 32 p.
49. Ministério da Saúde do Brasil. Secretária de Vigilância em Saúde. Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop* 38 (supl III): 1-29, 2005.
50. Miranda L, Campos G. História natural da forma crônica da doença de Chagas. Tratamento específico. *Rev Centro oeste Cardiol* 1: 25-29, 1994.

51. Molina J, Brener Z, Romanha AJ, Urbina JA. *In vivo* activity of the bis-triazole D0870 against drug-susceptible and drug-resistant strains of the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*. *J Antimicrobial Chemotherapy* 46: 137-140, 2000a.
52. Molina J, Martins-Filho O, Brener Z, Romanha AJ, Loebenberg D, Urbina JA. Activities of the triazole derivative (SCH 56592 (Posaconazole) against drug-resistant strains of the protozoan parasite *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* in immunocompetent and immunosuppressed murine host. *Antim Agents Chemoth* 44: 150-155, 2000b.
53. Molina J, Urbina, JGref R, Brener Z, Rodrigues Júnior JM. Cure of experimental Chagas' disease by the bis-triazole DO870 incorporated into 'stealth' polyethyleneglycol-poly lactide nanospheres. *J Antimicrobial Chemotherapy* 47: 101-104, 2001.
54. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud. Tratamiento etiológico de la enfermedad de Chagas: conclusiones de reunión de especialistas. *Rev Patol Trop* 28: 247-279, 1999.
55. Pereira VL, Marcos De AA, Boainain E. Xenodiagnóstico, Hemocultura e teste de lise mediada pelo complemento, como critérios de seleção de pacientes chagásicos crônicos para quimioterapia. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 31: 301-307, 1989.
56. Pfaffenbach G, Carvalho OM, Mendes GB. Reações adversas a medicamentos como determinantes da admissão hospitalar. *Rev Assoc Med Bras*. 48: 237-241, 2002.
57. Polak A, Richle R. Mode of action of the 2- nitroimidazol derivative benznidazole. *Ann Trop Med Parasitol* 72: 45, 1978.
58. Portela-Lindoso AAB; Shikanai-Yasuda MA. Doença de Chagas crônica: do xenodiagnóstico e hemocultura à reação em cadeia da polimerase. *Rev Saúde Pública* 37: 107-115, 2003.
59. Rassi A, Amato-Neto V, Siqueira AF, Ferrioli-Filho F, Amato VS, Rassi GG, Rassi JRA. Tratamento da fase crônica da doença de Chagas com nifurtimox associado a corticóide. *Rev Soc Bras Med Trop* 35: 547-550, 2002.
60. Rassi A, Lustosa ES, Carvalho MESD, Nascimento MD, Ferrioli Filho F, Luquetti AO. Sensibilidade do xenodiagnóstico em pacientes na fase crônica da doença de Chagas. Resultados preliminares. *Rev Soc Bras Med Trop* 24: 36-37, 1991.
61. Rassi A, Luquetti AO. Therapy of chagas disease. In: Wendel S, Brener Z, Camargo ME, Rassi A. *Chagas disease –American Trypanosomiasis: its impact on transfusion and Clinical Medicine*, São Paulo: Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, 1992. p.237-247.
62. Rassi A, Luquetti AO, Rassi AJR, Rassi GG, Rassi SG, Da Silva IG, Rassi AG. Specific treatment for *Trypanosoma cruzi*: lack of efficacy of allopurinol in the human chronic phase of Chagas disease. *Am J Trop Med Hyg*.76: 58-61, 2007.
63. Reunião de Debate Sobre Doença de Chagas. Rio de Janeiro: 19 a 21 de março de 1962. *Rev Goiana Medicina* 9(Supl): 1-300, 1963.
64. Rocha MO, Teixeira MM, Ribeiro AL. An update on the management of Chagas cardiomyopathy. *Expert Rev Anti Infect Ther* 5: 727-743, 2007.
65. Santos RR; Soares MBP, Carvalho ACC. Transplante de células da medula óssea no tratamento da cardiopatia chagásica crônica. *Rev Soc Bras Med Trop* 37: 490-495, 2004.
66. Schofield CJ, Jannin J, Salvatella R. The future of Chagas disease control. *Trends Parasitol* 22: 583-588, 2006.
67. Silva DT, De Nazareth SLM, Meirelles M, Almeida D, Urbina JA, Pereira MC. Cytoskeleton reassembly in cardiomyocytes infected by *Trypanosoma cruzi* is triggered by treatment with ergosterol biosynthesis inhibitors. *Int J Antimicrob Agents* 27: 530-537, 2006.
68. Silveira CAN, Castillo E, Castro C. Avaliação do tratamento específico para o *Trypanosoma cruzi* em crianças, na evolução da fase indeterminada. *Rev Soc Bras Med Trop* 33: 191-196, 2000.
69. Sosa ES, Segura E, Ruiz AM, Velásquez E, Porcel BM, Yampotis C. Efficacy of chemotherapy with benznidazole in children in the indeterminate phase of Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg* 59: 526-529, 1998.

70. Sosa ES, Armenti A, Araujo G, Viotti R, Lococo B, Ruiz Vera B, Vigliano C, De Rissio AM, Segura EL. Tratamiento de la enfermedad de Chagas con benznidazol y ácido tióctico. *Medicina* 64: 1-6, 2004.
71. Streiger ML, Del Barco ML, Fabbro DL, Arias ED, Amicone NA. Estudio longitudinal e quimioterapia específica em crianças, com doença de Chagas crônica, residentes em área de baixa endemicidade da República Argentina. *Rev Soc Bras Med Trop* 37: 365-375, 2004.
72. Urbina JA. Parasitological cure of Chagas disease: is it possible? Is it relevant? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94 (Suppl.1): 349-355, 1999.
73. Urbina JA. Specific treatment of Chagas disease: current status and new developments. *Curr Op Infect Dis* 14: 117-118, 2001.
74. Urbina JA. Chemotherapy of Chagas disease. *Curr Pharm Dis* 9: 287-295, 2002.
75. Urbina JA, Docampo R. Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. *Trends Parasitol* 19: 495-501, 2003.
76. Urbina JA, Payares G, Molina J. Cure of short and long-term experimental Chagas disease using D0870. *Science* 273: 969-971, 1994.
77. Urbina JA, Payares G, Contreras LM, Liendo A, Sanoja C, Molina J, Piras M, Piras R, Perez N, Wincker P, Loebenberg D. Antiproliferative effects and mechanism of action of SCH 56592 against *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*: *in vitro* and *in vivo* studies. *Antimicrob Agents Chemother* 42: 1771-1777, 1998.
78. Urbina JA, Payares G, Sanoja C, Molina J, Lira R, Brener Z, Romanha AJ. Parasitological cure of acute and chronic experimental Chagas disease using the long-acting experimental triazole TAK-187. Activity against drug-resistant *Trypanosoma cruzi* strains. *Intern J Antimicrobial agents* 21: 39-48, 2003a.
79. Urbina JA, Payares G, Sanoja C, Lira R, Romanha AJ. *In vitro* and *in vivo* activities of ravuconazole on *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas disease. *Intern J Antimicrobial agents* 21: 27-38, 2003b.
80. Viotti R, Vigliano C, Armenti H, Segura E. Treatment of chronic Chagas disease with benznidazole: clinical and serologic evolution of patients with long term follow-up. *Am Heart J* 127: 151-162, 1994.
81. Viotti R, Vigliano C, Lococo B, Bertoch G, Petti M, Alvarez MG, Postan M, Armenti A. Long-term Cardiac Outcomes of Treating Chronic Chagas Disease with Benznidazole versus no treatment. *Ann Intern Med* 144: 724-734, 2006.
82. World Health Organization. Disponível em <http://www.who.int/tdr/dw/chagas2003.htm>. Acessado em 14/01/2005.
83. Zicker F, Smith PG, Luquetti AO, Oliveira OS. Mass screening for *Trypanosoma cruzi* infections using the immunofluorescence, ELISA and haemagglutination tests on serum samples and on blood eluates from filter-paper. *Bull World Health Org* 68: 465-471, 1990.