

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA

ALEJANDRO LUQUETTI OSTERMAYER

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA DOENÇA DE CHAGAS

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Caetano de Almeida Netto

TESE DE DOUTORADO

Goiânia, Goiás, Brasil

JULHO 2011



Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TEDE) na Biblioteca Digital da UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás-UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese
2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor(a):	Alejandro Luquetti Ostermayer		
CPF:		E-mail:	luquetti@hc.ufg.br
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? <input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Vínculo Empregatício do autor	Professor Adjunto do IPTSP, UFG		
Agência de fomento:		Sigla:	
País:		UF:	
		CNPJ:	
Título:	Contribuição ao estudo da doença de Chagas		
Palavras-chave:	Doença de Chagas. Trypanosoma cruzi. Hemocultivo. Diagnóstico.		
Título em outra língua:	Contributions for the study of Chagas disease		
Palavras-chave em outra língua:	Chagas disease. Trypanosoma cruzi. Hemoculture. Diagnosis		
Área de concentração:	Medicina Tropical		
Data defesa: (18/07/2011)			
Programa de Pós-Graduação:	Doutorado em Medicina Tropical		
Orientador(a):	Joaquim Caetano de Almeida Netto		
CPF:		E-mail:	
Co-orientador(a):			
CPF:		E-mail:	

3. Informações de acesso ao documento:

Liberção para disponibilização?¹ total parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

Capítulos. Especifique: _____

Outras restrições: _____

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Data: 19 / julho / 2011

Assinatura do(a) autor(a)

i

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA

ALEJANDRO LUQUETTI OSTERMAYER

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA DOENÇA DE CHAGAS

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Caetano de Almeida Netto

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação de Medicina Tropical e Saúde Pública, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Medicina Tropical e Saúde Pública, na área de concentração em doenças infecciosas e parasitárias.

Goiânia, Goiás, Brasil

JULHO 2011

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
GPT/BC/UFG**

Ostermayer, Alejandro Luquetti.
O85cl Contribuição ao estudo da doença de Chagas [manuscrito] / Alejandro Luquetti Ostermayer. - 2011.
93 f. : il., tab., graf.

Orientador: Prof. Joaquim Caetano de Almeida Netto.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, 2011.

Bibliografia.
Inclui lista de abreviaturas.

1. Chagas, Doença de. 2. Chagas, Doença de – Diagnóstico. 3. Tripanossomose. I. Título.

CDU: 616.937-071

AGRADECIMENTOS

Ao mestre de sempre, prof. Emérito Dr. Joffre Marcondes de Rezende, por tudo.

Ao prof. Emérito Dr. Anis Rassi, pelo exemplo de trabalho e dedicação, permitindo a parceria em múltiplos trabalhos nos últimos 35 anos.

Ao prof. Emérito Dr. Joaquim Caetano de Almeida Netto, sempre disposto a colaborar.

Aos colegas das múltiplas parcerias científicas, desde as mais antigas:

George Janossy, Clinical Research Center, Harrow, UK, desde 1975.

Franklin Neva, Al Gam, Renato Gusmão, Department of Parasitic Diseases, National Institute of Health, USA, desde 1977.

Gabriel Schmuñis, Ana Szarfman, José Mauro Peralta, desde 1978.

Maria da Glória Merheb Vaz, Faculdade de Medicina da UFG, infatigável parceira dos megaesôfagos, desde 1978.

Michael Miles e colaboradores, London School of Hygiene and Tropical Medicine, Londres, UK, desde 1979.

Fabio Zicker, atualmente no TDR, Organização Mundial da Saúde, Genebra, desde 1987.

Álvaro Moncayo, atualmente em Bogotá, Colômbia, desde 1989.

Ionizete Garcia da Silva, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, desde 1990.

Nobuko Yoshida, Escola Paulista de Medicina, em múltiplos projetos, desde 1994, com estudos em famílias e cepas de *T. cruzi*.

Amadeo Sáez-Alquezar, à época no Hemocentro de São Paulo, desde 1995.

Eliana Moreira, FUNED, Belo Horizonte, COLAB, TELELAB, desde 1995.

João Carlos Pinto Dias, FIOCRUZ, Belo Horizonte, parceiro em missões da OPAS, em inúmeros congressos, em capítulos, desde 1996.

Jose Rodrigues Coura, parceiro em viagens a serviço, congressos, capítulos, desde 1997.

Yara M. Gomes, Fiocruz, Pernambuco, no TELELAB, pesquisas e publicações, desde 1998.

José Franco da Silveira e Eufrozina Umezawa, Escola Paulista de Medicina e Universidade de São Paulo respectivamente, em missões (IAEA), trabalhos

iii

e publicações, desde 1999.

Octávio Fernandes e Constança Britto, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, em múltiplos projetos, desde 2000.

Aluizio Rosa Prata, FMTM, Uberaba, em missões, congressos e o inquérito nacional, desde 2000 (falecido em 2011).

Mercio Pereira, Tufts University, Boston, desde 2001.

Carlos e Elisa Ponce, Tegucigalpa, Honduras, desde 2002.

Alejandro Schijman, INGEBI, Buenos Aires, desde 2005.

Antonio Carlos Silveira e Afonso Dinis Costa Passos, por ocasião do inquérito Nacional, desde 2005.

Com praticamente todos construímos sólidos laços de amizade, além das parcerias científicas.

Aos meus ex-discípulos, hoje trilhando seus próprios caminhos:

Enio Chaves de Oliveira, Faculdade de Medicina da UFG, desde 1985.

Ana Maria de Castro, IPTSP, UFG, desde 1990.

Dayse Elisabeth Campos, Hospital das Clínicas, UFG, desde 1991.

Suelene Brito do Nascimento Tavares, IPTSP, UFG, desde 1991.

Rozangela Amaral de Oliveira, Hospital das Clínicas, UFG, desde 1995.

Sergio Henrique Nascente Costa, Universidade Católica, GO, desde 1999.

Cada um contribuindo com trabalho, discussões, participação em reuniões e intercâmbio de idéias, com o objetivo de alcançar um resultado.

Todas as pessoas nominadas tem algo em comum: sabem trabalhar em equipe, sem o que não teria sido possível atingir a produção científica do Laboratório de pesquisa da doença de Chagas.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública na pessoa das professoras Mariane M. A. Stefani e Fátima Ribeiro Dias que não mediram esforços para a concretização desta defesa.

A minha família, pelas horas de ausência

Ao paciente, pela sua colaboração.

LISTA DE ABREVIATURAS

ADCC: Antibody Dependent Cell-mediated Cytotoxicity

AIDS: Acquired Immunodeficiency Syndrome

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BCG: Bacilo de Calmette e Guerin

ELISA: enzyme linked immuosorbent assay

HAI: hemaglutinação indireta

IFI: imunofluorescência indireta

ISI: Institute for Scientific Information

OMS: Organização Mundial da Saúde

OPAS: Organização Pan-Americana da Saúde

PCR: polymerase chain reaction

PHA: fitohemaglutinina

Tc: grupo de *Trypanosoma cruzi* (TcI; TcII; TcIII, TcIV; TcV; TcVI)

TDR: Tropical Diseases Research Programm

UFG: Universidade Federal de Goiás

SUMÁRIO

Agradecimentos	iii
Lista de abreviaturas	v
Sumário	vi
Resumo	viii
Abstract	ix
1. Introdução	
1.1. Trajetória de vida acadêmica	1
1.2. As dez principais contribuições científicas (1970-2011)	11
2. Objetivos	
2.1. Objetivo geral	17
2.1. Objetivos específicos	17
3. Seleção de trabalhos publicados nos últimos cinco anos	19
3.1. Artigo 1. Castro AM, Luquetti AO, Rassi A, Chiari E, Galvão LMC 2006. Detection of parasitemia profiles by blood culture after treatment of human chronic <i>Trypanosoma cruzi</i> infection. <i>Parasitol Res</i> 99: 379-383.	20
3.2. Artigo 2. Rassi A, Luquetti AO, Rassi Jr A, Rassi GG, Rassi SG, Silva IG, Rassi AG 2007. Short Report: specific treatment for <i>Trypanosoma cruzi</i> : lack of efficacy of allopurinol in the human chronic phase of Chagas Disease. <i>Am J Trop Med Hyg</i> 76: 58- 61.	25

3.3. Artigo 3. Luquetti AO, Espinoza B, Martínez I, Becerril-Hernández N, Ponce C, Ponce E, Reyes PA, Hernández O, López R, Monteón V 2009. Performance levels of four Latin American laboratories for the serodiagnosis of Chagas disease in Mexican sera samples. <i>Mem Inst Oswaldo Cruz</i> 104: 797-800.	29
3.4. Artigo 4. Hernandez P, Heimann M, Riera C, Solano M, Santalla J, Luquetti AO, Beck E 2010. Highly Effective Serodiagnosis for Chagas Disease. <i>Clin Vaccine Immunol</i> 17: 1598-1604.	33
3.5. Artigo 5. Siriano LR, Luquetti AO, Avelar JB, Marra NL, Castro AM 2011. Chagas Disease: Increased Parasitemia during Pregnancy Detected by Hemoculture. <i>Am J Trop Med Hyg</i> 84: 569-574.	40
3.6. Artigo 6. Luquetti AO, Passos ADC, Silveira AC, Ferreira AW, Macedo V, Prata AR 2011. O inquérito nacional de soroprevalência de avaliação do controle da doença de Chagas no Brasil (2001-2008). <i>Rev Soc Bras Med Trop</i> 44 (Supl. 2): 1-19.	46
4. Discussão	65
5. Conclusões	73
6. Referencias	
6.1. Referencias de artigos	75
6.2. Refererências de capítulos	87

RESUMO

Foram selecionados os principais trabalhos publicados nos últimos cinco anos na área de doença de Chagas no homem, com ênfase em aspectos parasitológicos, de diagnóstico sorológico e de tratamento, os quais refletem o foco das investigações do autor neste período. Como embasamento desses estudos foram brevemente comentados artigos publicados nos últimos quarenta anos. O perfil parasitemico no indivíduo infectado crônico, por meio de hemocultura, foi objeto de dois artigos. No primeiro (publicado em 2006), foi determinada a parasitemia em 27 pacientes, por meio de três hemoculturas seriadas antes do tratamento específico e três após. Os resultados foram comparados com os de 13 pacientes não tratados. O efeito terapêutico do benznidazol no sentido de supressão da parasitemia foi detectado em 89%, enquanto que a falha terapêutica foi comprovada em três casos (11%) nos primeiros dois anos. No segundo (2011), foi realizada hemocultura em 101 gestantes e 51 mulheres não grávidas, todas infectadas. A parasitemia foi o dobro nas gestantes (60,4%), em relação às não grávidas, em particular nos primeiros meses da gestação. Um ensaio imunoenzimático (ELISA) (2010) foi desenvolvido com dois antígenos recombinantes e dois peptídeos sintéticos, com sensibilidade de 99,3% (em 165 soros reagentes) e especificidade de 100% (em 216 negativos). Em estudo multicêntrico, com a participação de laboratórios da América do Norte (México), Central (Honduras) e do Sul (Brasil), em 98 amostras de soro de pacientes do México (2009), foi encontrada excelente concordância entre os laboratórios, empregando-se testes sorológicos de diferentes origens (TcI e II), demonstrando que antígenos de diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi* apresentam desempenho similar. Em estudo multicêntrico (Bolívia, Argentina e Brasil) foi demonstrado, por xenodiagnóstico, que o allopurinol não teve efeito parasiticida em 17 pacientes, em comparação com dez não tratados (estudo do Brasil), pela persistência do exame parasitológico positivo em todos os tratados (2007). Em inquérito nacional sorológico em crianças que nasceram após as medidas de controle (abaixo de cinco anos) de toda a área rural do Brasil (n = 104.954) foram encontradas 104 (0,1%) amostras positivas em papel-filtro (ELISA e imunofluorescência indireta), sendo confirmadas com soro apenas 11 de transmissão vetorial (0,01%), todas em municípios sem *Triatoma infestans*. Este trabalho confirma a efetividade da borrifação com inseticidas no Brasil (2011). Como sub-produto desse trabalho, verificou-se que a transmissão congênita foi 10 vezes superior no estado do Rio Grande do Sul (TcV-VI) com 12 casos, em comparação com outros oito no restante do país, demonstrando pela primeira vez diferenças geográficas no tocante à transmissão vertical no Brasil. Consideramos que os trabalhos apresentados contribuíram efetivamente ao conhecimento de diferentes aspectos da doença de Chagas.

ABSTRACT

The main papers published on the last five years on the area of human Chagas disease, mainly on parasitological, serological and therapeutic aspects, reflecting areas of recent involvement of the author, were selected. As a baseline, briefly comments on publications on the last 40 years were included. Parasitemia profile measured by hemoculture during the chronic infection was the subject of the first two. The first (published in 2006) included six hemocultures from each of 27 patients, the last three after specific treatment. Results were compared with those of 13 non treated, infected patients. The suppressive effect of benznidazole was demonstrated in 89% of the patients and treatment failure was registered in three cases (11%) during the two year follow-up. In the second paper (2011) a single hemoculture was performed in 152 infected women, 101 pregnant. Parasitemic pregnant women doubled the number of non-pregnant, mainly during the first months of pregnancy. A new ELISA test was developed (2010) by employing two recombinant proteins and two synthetic peptides. Sensitivity was 99.3% on 165 positive sera, and specificity of 100% (216 negatives). A multicentric study was done (2009) with participation of laboratories of North America (Mexico), Central America (Honduras) and South America (Brazil) with 98 serum samples from patients of Mexico employing reagents made from Tc1 and Tc2 strains. Results showed good agreement among laboratories demonstrating the feasibility of using reagents prepared from both types of *T. cruzi*. In another multicentric study (Bolivia, Argentina and Brazil) xenodiagnosis performed in 17 patients after a 60 days course of allopurinol treatment, remained positive, showing the lack of effect of this drug in the chronic phase. A national serological survey in children born after insecticide spraying (below five years old) with filter paper, involved 104,954 samples, tested with ELISA and indirect immunofluorescence. Only 11 samples (0.01%) were identified as by vector transmission (negative mothers) mainly from the northeast of the country, areas without *Triatoma infestans*. These findings (2011) confirm the effectivity of house spraying for the control of the disease. As a sub-product of this investigation, an unusual number of cases of congenital transmission (n = 12) was found only in the State of Rio Grande do Sul, where TcV-TcVI circulates. When compared with other states (n=8) the proportion was 10 times higher. This is the first report on geographical differences related to congenital transmission in Brazil. We considered that all these findings contributed significantly to a better knowledge on different aspects of Chagas disease.

1. INTRODUÇÃO

1.1. TRAJETÓRIA DE VIDA ACADÊMICA

Após a nossa formação como médico (“Doctor en Medicina” pela “Universidad de La República”), Montevideo, Uruguai, em março de 1970, iniciamos nossas atividades em pesquisa na Clínica Médica do Hospital Maciel, local da nossa formação, em Montevideo. Como responsável do setor de imunologia celular, iniciamos trabalhos em ativação linfocitária e, junto a outros colaboradores, trabalhando com imuno-eletoforese em gel de poliacrilamida, estudamos o perfil proteico de soros de pacientes com doença de Hodgkin (1) e hepatopatias (2). Prosseguindo uma das linhas de pesquisa desse centro, publicamos um trabalho sobre o efeito do BCG em portadoras de câncer mamário (3).

Ao obter uma Bolsa de Estudos do Conselho Britânico para aperfeiçoar a técnica de transformação blástica, com medições mais objetivas, como a incorporação de timidina tritiada, permanecemos de setembro de 1973 a março de 1975 na Divisão de Imunologia do “Clinical Research Centre, Medical Research Council”, em Harrow, Middlesex, Reino Unido, como “Visiting Research Fellow”, em regime de pós-doutorado, pois a titulação de “Doctor en Medicina”, permitia esse regime. O serviço era especializado em imunodeficiências (antes da era da AIDS) pelo que fomos trabalhar com George Jannossy, especialista em ativação linfocitária, para aperfeiçoar a técnica e aplicá-la nos pacientes com imunodeficiências. O principal trabalho, fruto desse estágio, foi sobre ativação linfocitária com o mitógeno fitohemaglutinina (PHA), descobrindo que a ativação ideal acontecia na presença de sangue total (4). Essa técnica foi utilizada, após a sua publicação, na rotina da Escola Paulista de Medicina, durante anos. Esse trabalho foi citado 47 vezes, assim como outro sobre regulação de células T (123 citações, *ISI Web of Science*, Thomson Reuters) em colaboração com a equipe (5). Também fomos convidado a desenvolver o teste de ADCC (antibody dependent cell mediated cytotoxicity), à época em moda, para aplicação do mesmo em células mononucleares de indivíduos imunodeficientes (9) e, posteriormente, desenvolver nessa instituição, um teste de quimiotaxia de neutrófilos (6).

Ao iniciar nossas atividades na Universidade Federal de Goiás (1975), onde fomos acolhido pelo prof. William Barbosa, à época diretor do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, começamos a trabalhar com Maria do Carmo Moreira de

Souza no laboratório de fisiologia e imunologia de tripanosomatídeos, laboratório que passamos a dirigir após o seu óbito. A linha de pesquisa era doença de Chagas, pelo que iniciamos nossas atividades nessa área.

Em 1977, o Hospital das Clínicas e o Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina receberam, por intermédio dos Profs. Joffre Marcondes de Rezende e Anis Rassi, a visita do Dr. Franklin Neva, do Laboratory of Parasitic Diseases, do National Institute of Health (NIH) dos Estados Unidos da América, interessado no estudo de pacientes chagásicos, em particular na resposta blastogênica a mitógenos e antígenos de *T. cruzi*. Ao terminar os trabalhos, fomos encarregado, dada a nossa experiência na área, a manter toda a infra-estrutura aportada pela equipe do Dr. Neva, com a finalidade de estudar a ativação linfocitária em pacientes na fase aguda da doença de Chagas, relativamente frequente nessa época.

Assim, começou a estreita colaboração com Rezende e Rassi, que perdura até os dias de hoje. Os trabalhos em colaboração com outros grupos de pesquisa tiveram início nessa época. O primeiro foi estabelecido com Gabriel Schmuñis e Ana Szarfman, à época no Dep. de Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Para testar a teoria da auto-imunidade, que explicaria a ausência de parasitos nas lesões de pacientes crônicos, Cossio e col. haviam publicado vários trabalhos sobre anticorpos EVI e PN, que seriam marcadores de doença. Schmuñis e Szarfman fizeram proposta de estudar uma série de pacientes com formas clínicas bem definidas, dos Drs. Rassi e Rezende. As conclusões desse estudo em 1981 (7) não demonstraram correlação entre formas clínicas e presença de autoanticorpos EVI. Com esse mesmo material surgiram estudos com o teste de aglutinação direta (8).

A seguinte colaboração com a Universidade de São Paulo (Thereza Kipnis e Wilmar Dias da Silva), estudando o comportamento de estoques de *Trypanosoma cruzi* isolados na fase aguda, rendeu mais um trabalho (10) que mostrou o perfil parasitêmico de estoques de *T. cruzi* isolados de pacientes e inoculados em camundongos.

Posteriormente, iniciamos colaboração com Michael Miles (1979), na época no Instituto Evandro Chagas (Belém), interessado no estudo de zimodemas, com xenodiagnóstico em centenas de pacientes dos Drs. Rezende e Rassi. O resultado desse trabalho foi publicado em 1986 (13), com 53 citações até o momento.

Paralelamente, com o mesmo grupo de Miles, agora na “London School of Tropical Medicine and Hygiene”, nosso interesse na procura de um marcador clínico

que explicasse a evolução do infectado, levou a colaborações com Schechter (11, 14) em séries de pacientes com formas clínicas bem definidas.

Nessa mesma linha de pesquisa, iniciamos colaboração com o grupo de Julio Scharfstein, testando as respostas ao antígeno GP25KDa em soros de pacientes com formas clínicas bem caracterizadas (12), com 46 citações até o presente.

Na época, iniciamos a dissertação de mestrado, estudando as características epidemiológicas, clínicas, sorológicas e parasitológicas do megaesôfago chagásico (15), que demonstraram uma maior prevalência de formas graves nos pacientes do gênero masculino, assim como a possibilidade de cura espontânea em alguns pacientes.

Participando em pesquisas iniciais de sondas de DNA, em 1988, com a equipe de Miles, descrevemos uma sonda capaz de detectar o DNA de *T. cruzi* em pacientes na fase aguda (16).

A colaboração com o grupo de Alberto Frasch (Fundación Campomar, Argentina), utilizando nossa coleção de soros de pacientes na fase aguda da doença, permitiu descrever o antígeno SAPA (17) em publicação citada 125 vezes na literatura.

Nessa época (1987), iniciamos a realização de inquéritos, com Fabio Zicker, inicialmente em população urbana de trabalhadores braçais (18, 19) e implantamos definitivamente a sorologia no laboratório, com o teste que faltava, ELISA. Essa técnica foi desenvolvida seguindo a de Voller (1975), a partir de reagentes trazidos da *London School of Tropical Medicine and Hygiene*, em 1987. Na época, os testes eram, na sua maioria, produzidos no laboratório (“in house”), ou seja, não comerciais.

Em 1987 e 1988, foram descritos diferentes antígenos purificados, recombinantes, e peptídios sintéticos, sendo que cada autor, em diferentes países, referia melhor especificidade e sensibilidade para o respectivo antígeno descrito. Na reunião anual do TDR (Tropical Diseases Research) da OMS (Organização Mundial da Saúde), em Genebra em julho de 1988, ficou patente a necessidade de avaliar, de forma independente, o desempenho de cada antígeno descrito. O laboratório de pesquisa da doença de Chagas sob a nossa direção, foi escolhido para essa tarefa. Convidamos 15 laboratórios a participar e responderam 10, aos quais foram encaminhados 50 soros. Os resultados se encontravam prontos um ano depois, na reunião seguinte do TDR e foram publicados em 1990 (20, 21), sendo que o primeiro recebeu 50 citações, assim como foi o artigo mais citado pelo periódico Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, durante vários anos.

Em 1987 fomos solicitado pelo TDR para testar a hipótese de que o cristal violeta poderia ser carcinogênico. Estudos experimentais realizados nos Estados Unidos

descreveram linfomas em camundongos alimentados com ração para aves contendo aquele corante. Os únicos lugares no mundo que haviam utilizado esse cristal em seres humanos, foram Uberaba e Goiânia, após a recomendação de “violetar” todo o sangue destinado a transfusões em regiões endêmicas. Esse tratamento foi efetuado em todas as unidades de sangue entre 1960 e 1980 em ambas as cidades. O racional seria entrevistar os pacientes com câncer, em Hospital especializado (Araújo Jorge, em Goiânia). Esse projeto foi financiado integralmente pelo TDR. Foram entrevistados mais de 20.000 pacientes entre 1988 e 1992, sem demonstrar essa relação (22).

O seguimento de pacientes após o tratamento, em colaboração com Rassi, despertou o interesse do grupo de Frascch, que investigou a resposta imune a antígenos recombinantes em estudo seriado (23, 27).

Em colaboração com o Departamento de Saúde Coletiva (De Andrade e Martelli) iniciamos estudo de triagem sorológica em doadores em Goiânia (24).

O estudo pormenorizado de cepas isoladas dos pacientes na fase aguda e a sua resposta *in vitro* ao tratamento, foi objeto de pesquisa em colaboração com os Drs. Rassi e Sônia Andrade (Gonçalo Muniz, Fiocruz, Salvador) (25).

Na linha de xenodiagnóstico, o laboratório colaborou com a equipe do prof. Ionizete G. da Silva, em particular em pacientes com megaesôfago, com algumas centenas de exames, verificando a positividade do exame em relação com a espécie de triatomíneo, assim como a relação com o gênero e idade do paciente (28, 32).

Em 1989, em parceria com o *Instituto de Investigaciones en Ingenieria Genética y Biología Molecular* (INGEBI), o Dr. Mariano Levin, iniciou estudo patrocinado pelo TDR, na procura de marcadores de forma clínica. Foram selecionados 342 soros de pacientes com formas clínicas polares, assim como de cardiopatas não infectados, e aplicados testes de ELISA com diferentes marcadores, como JL7, PObeta, *Heat Shock Protein* de *T. cruzi*, R13, sem encontrar diferenças marcantes. Embora esse estudo tenha sido objeto de doutoramento de um aluno, o trabalho ainda não foi aceito, embora recentemente (2010) tenha sido feita nova tentativa.

Os primeiros trabalhos dos alunos do laboratório, com estudo de estoques de *T. cruzi* isolados de pacientes e as curvas parasitêmicas em camundongos, começaram a ser publicados a partir de 1993 (29, 35, 39).

Em 1990, seguindo recomendações da OMS e da OPAS, foi apresentado projeto ao TDR, sobre ensaios com benznidazol, em ensaio duplo cego, em populações de escolares no estado de Goiás, cabendo a Fabio Zicker a condução do estudo e ao

laboratório a execução dos exames sorológicos. Paralelamente, um estudo similar foi apresentado por pesquisadores argentinos, com o intuito de verificar o efeito terapêutico em crianças, pois vários estudos não randomizados indicavam essa possibilidade. Ambos os estudos foram aprovados no TDR, e pelo comitê de ética em Goiânia. Com a transferência de Zicker para a OPAS, o estudo foi conduzido por Ana Lúcia S.S. Andrade. Após a identificação das crianças reagentes por meio de teste em papel-filtro, foi realizada a confirmação sorológica (26). Após iniciado o tratamento específico, foi feito o seguimento e os resultados publicados em 1996 no periódico *The Lancet* (33) tendo recebido 99 citações até o momento.

Nessa época começamos a publicação de capítulos de livro. O primeiro, seguindo a formação inicial imunológica, foi um capítulo de Imunologia para o livro de *Semiologia Médica*, editado pelo prof. Celmo C. Porto (C-01). Esse capítulo foi atualizado nas suas sucessivas edições (6ª. edição 2009). Em colaboração com Rassi escrevemos dois capítulos em inglês, sobre formas clínicas e tratamento etiológico, para o livro “Chagas disease: its impact on transfusion and clinical medicine” único acesso nessa língua, escrito por brasileiros, para os leitores interessados de língua inglesa, durante vários anos (C-02, C-03).

Por ocasião de simpósio auspiciado pela OMS e OPAS, sobre doença de Chagas e sistema nervoso, foi redigido um capítulo em co-autoria com Joffre M. de Rezende sobre megavísceras (C-07) e outro similar no livro de Storino e Milei sobre doença de Chagas (C-05). Nosso interesse pelo assunto, em colaboração com a Dra Vaz, rendeu posteriormente outro trabalho (40).

Também estivemos envolvidos com organização de eventos, como coordenador da Reunião de Pesquisa Aplicada, Uberaba 1993 (30, 31), como vice-presidente no XIV Congresso brasileiro de Parasitologia (Goiânia, 1995) e como Secretário Geral no XXXII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (Goiânia, 1996), o que acarretou uma possível diminuição da produção científica à época.

Nessa mesma época, fomos requisitado como autor ou co-autor para escrever capítulos sobre doença de Chagas no *Tratado de Infectologia* (Ed. Veronessi e Focaccia, 1996) (C-09), *Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral* (Ed. Dias e Coura, 1997) (capítulos sobre diagnóstico e sobre aspectos trabalhistas) (C-11, C-12) e *Doenças do coração* (Ed. Porto, 1998) (C-14, C-15).

O nosso envolvimento com o tratamento específico, de parceria com Anis Rassi continuou após uma convocação de especialistas pelo Ministério de Saúde Pública,

sendo publicado um manual (C-08, C-10) em duas edições sucessivas, assim como a sua publicação no *Parasitology Today* (36). Posteriormente fomos encarregado pelo TDR de organizar uma reunião técnica de especialistas, sobre tratamento específico, realizada no Rio de Janeiro, precedendo ao Congresso Mundial de Cardiologia, em 23 a 25 de abril de 1998, cujos resumos se encontram na *Rev. Patol.Trop.* 27 (suplemento) (43). Como relator deste evento, foram publicadas posteriormente as conclusões do mesmo na *Rev. Patol.Trop.* 28(2): 247-279, 1999 (47).

Em parceria com Nobuko Yoshida, da Escola Paulista de Medicina (atualmente UNIFESP), iniciamos em dezembro de 1994, até maio de 1996, estudo de 35 famílias de pacientes de Anis Rassi, em colaboração com o Blood Bank of New York, onde seriam completados os estudos. Foram coletados soros e células criopreservadas de 230 indivíduos, na busca de marcador de doença. Lamentavelmente, houve desentendimentos com o orientador em Nova York, o que levou à interrupção deste projeto.

Como membro do Comitê Técnico Assessor da Coordenação Geral de Laboratórios (CGLAB) do Ministério da Saúde, foram veiculadas recomendações (34) e posteriormente um estudo multicêntrico para avaliação de conjuntos diagnósticos para hemaglutinação indireta (42). Devido à necessidade de publicar normas de segurança, as mesmas foram elaboradas, junto com Zigman Brener e Amadeo Saéz-Alquezar (37).

Em parceria com a “Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires”, o ensaio de inibição da trans-sialidase foi realizado em soros de pacientes curados (38, 51).

Em outra parceria, agora com a Universidade Federal de Uberlândia, foi avaliado um teste de *western blot* (41).

Estudos de comparação de xenodiagnóstico natural e artificial, agora em parceria com a Universidade de Brasília, foram também efetuados (44).

Na linha de pesquisa de testes de diagnóstico rápido, em parceria com a empresa Diamed, Fiocruz (Belo Horizonte) e FUNED (Belo Horizonte), foi testado o desempenho do PaGia, teste posteriormente comercializado (45).

Continuando com nosso interesse no estudo de isolados de *T. cruzi*, o polimorfismo genético de seis estoques foi motivo de dissertação neste instituto (48).

A linha de pesquisa relacionada com Chagas e PCR (polymerase chain reaction), teve como primeiro trabalho, em colaboração com a Universidade de Brasília e o Instituto Oswaldo Cruz (IOC, Fiocruz, Rio de Janeiro), o estudo da correlação entre sorologia e xenodiagnóstico em pacientes tratados (54).

Em colaboração com o departamento de Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais e nosso instituto, foi avaliado o resultado de PCR no grupo de crianças tratadas (62). Posteriormente, em trabalho de doutoramento (Ana Maria de Castro), foi comparado o hemocultivo com a PCR, em pacientes candidatos à quimioterapia (Rassi) (57). Em trabalho posterior, nesse mesmo grupo de pacientes, foi repetido o estudo, agora apenas com hemocultivo, em face dos resultados dúbios encontrados por PCR (72).

Em 1997, fomos chamado pela Coordenação de Sangue e hemoderivados (COSAH), para elaborar um manual de normas técnicas para a triagem e diagnóstico sorológico em unidades hemoterápicas e laboratórios de saúde pública, da série denominada Telelab. Este sistema de educação a distância, visava à instrução e capacitação dos técnicos em todo o território nacional. Juntamente com três colegas, assim como duas pedagogas, nos reunimos semanalmente, em Brasília, durante vários meses, para a redação do manual, com ilustrações, assim como a vinheta que um locutor deveria gravar para o vídeo (C-16, C-17). O mesmo foi utilizado, assim como outros manuais desta série, para as doenças infecciosas transmissíveis por hemoderivados, por inúmeros alunos do programa Telelab.

No ano de 1999, deparamos com outro desafio: escrever um capítulo sobre diagnóstico da doença, na 2ª. edição de livro clássico de autoria de Brener e Andrade, em colaboração com Anis Rassi. Esse capítulo, com 383 referências, procurou ser abrangente e significou meses de árduo trabalho (C-18).

Em 1999 fomos convidado como “Agreement Holder” em estudo da “International Atomic Energy Agency” (IAEA), para participar de um projeto sobre diagnóstico de doença de Chagas empregando isótopos radioativos. Participavam desse projeto pesquisadores da Escola Paulista de Medicina, o Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, a Universidade Autônoma do México e o INGEBI de Buenos Aires. Essa pesquisa foi bastante frutífera e dela resultou uma série de publicações (59, 60, 64, 66), em particular sobre o emprego de misturas de antígenos recombinantes e sua aplicação em testes rápidos.

Em 2001 fomos convidado pela OMS, para contribuir, juntamente com os Drs. Rezende e Rassi, em revisões sobre diagnóstico (Serological Diagnosis in *T. cruzi* infected persons and Chagas disease patients. Luquetti AO & Rassi A), megavísceras (Digestive form of Chagas Disease. Rezende JM & Luquetti AO) e tratamento específico (Etiological treatment for Chagas disease. Rassi A & Luquetti AO). De 20 a 28 de novembro de 2001, participamos em Brasília, na elaboração da “WHO Technical

report series No. 905: Control of Chagas disease. Second report”, publicado em 2002 (55). Trata-se do manual de recomendações sobre doença de Chagas da OMS e OPAS.

Em parceria com o Instituto René Rachou (Fiocruz, Belo Horizonte) e junto com o Dr. Rassi, iniciamos outra pesquisa, com a utilização de citometria de fluxo para avaliar a cura dos pacientes tratados (56, 78).

Em outra parceria com a Tufts University, Dr. Mercio Pereira enfatizou aspectos imunológicos da infecção com o *T. cruzi*. Foram encontradas no soro de infectados, proteínas que agem como citocinas (58) e auto-anticorpos anti-receptores de tirosina quinase (81) que protegem da infecção em camundongo (85, 94).

Nova parceria com Nobuko Yoshida (UNIFESP), em 2002, com a utilização de estoques criopreservados no laboratório de pesquisa de Chagas, de diferentes pacientes, na qual os mecanismos de penetração do *T. cruzi* em modelo experimental (61, 76) e relacionados com a via oral (73) foram estabelecidos.

Desde 2001, participamos do Programa de Avaliação Externa da Qualidade em Serviços hemoterápicos, da Gerência Geral de Sangue, outros tecidos e órgãos (GGSTO) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em colaboração com Biomanguinhos, Fiocruz. O Comitê técnico Assessor, do qual fazemos parte para o agravo “Chagas”, conta com um especialista em cada agravo, e seus respectivos suplentes. Este programa disponibiliza três painéis de seis soros cada um, que são encaminhados três vezes por ano, aos 120 bancos de sangue do país, inscritos no programa. Além das avaliações de resultados, fazemos a caracterização, em Goiânia, de 200 soros por ano, para o marcador “Chagas”, contribuindo para a seleção de soros de cada painel. A divulgação dos resultados tem sido feita em congressos da especialidade, embora constem alguns como trabalho científico no Pubmed. No caso, foram excluídos desta defesa, por considerar que não são trabalhos científicos *per se*, porém apresentações em eventos.

As pesquisas de ex-alunos do laboratório (EC Oliveira) continuaram em expansão (53, 70, 74, 75), relacionadas com megacolon e ultimamente com o sistema nervoso entérico (79, 82, 84, 86, 87, 88, 89, 99) com a seleção de pacientes, o fornecimento de soros e de peças cirúrgicas conservadas no laboratório.

O impacto do controle por meio de borrifacção em município de Minas Gerais, de onde foram encaminhadas dezenas de pacientes com a fase aguda, foi ressaltado (63).

O interesse pela transmissão congênita e a sua baixa incidência no Brasil Central foi mais recente, iniciado com trabalho retrospectivo (65) e, antes, pelo inquérito nacional de soroprevalência (68, 69).

Nova empreitada, por iniciativa do Prof. Aluisio Prata, recentemente falecido, entusiasta em diversas frentes, porém, em particular, a da realização do Inquérito Nacional Sorológico, para verificar a efetividade das medidas de controle. Os primórdios desse estudo, de grande fôlego, tiveram começo em 1998 e foram cristalizados em 2001, com a liberação dos recursos pelo Ministério da Saúde. Nossa participação consistiu na realização do exame sorológico de 105.000 papéis de filtro, por dois testes sorológicos, IFI e ELISA. Esse estudo foi finalizado em 2008 e publicado recentemente *on line* (97, 100). Os resultados obtidos serão analisados na próxima sessão.

Seguindo recomendações da OMS, em 1991 foi iniciado estudo multicêntrico em Córdoba, Argentina, Santa Cruz de la Sierra, Bolívia e Goiânia, com patrocínio e supervisão da OMS, para verificar o efeito tripanocida do allopurinol em pacientes na fase crônica da infecção. Os estudos de Córdoba não foram publicados, porém os dos dois outros grupos demonstraram a ausência de efeito tripanocida, verificado por xenodiagnóstico. Apesar de resultado negativo, o trabalho foi aceito (77).

Em 2005 participamos da reunião de consenso em doença de Chagas, em Brasília, coordenando o grupo de diagnóstico. A revisão do texto final foi feita por nós e pelo editor, Prof. Prata (67). Uma segunda edição se encontra em fase de elaboração.

Em trabalho de colaboração com a Universidade de Brasília, foram analisadas 1.055 amostras de soro do estado do Acre (80).

Outro estudo para verificar a teoria de que soros de pacientes em regiões de TcI, não seriam diagnosticados com reagentes fabricados com cepas de TcII, foi feito com soros recebidos do México, em parceria com Victor Monteón, do Instituto Nacional de Cardiologia (91). Também estivemos no México, convocados pela OPAS, para participar de estudo multicêntrico realizado naquele país, em 2005.

Nosso interesse pelos estudos de prevalência e a aplicação de testes rápidos levou-nos recentemente a realizar pesquisa em parceria com a OMS e o Hospital Universitário de Genebra, Suíça, onde foram encontrados 130 imigrantes portadores da infecção (92, 95).

Um novo teste para o diagnóstico foi desenvolvido pela Universidade de Giessen, Alemanha, e foi estabelecida nova parceria (93).

Nossa preocupação com falsos resultados positivos na PCR, levou-nos, em 1997, a criar um banco de amostras de sangue com EDTA-guanidina para futuros estudos. Um estudo inicial com o IOC, Fiocruz, Rio de Janeiro, confirmou que a especificidade

deixava a desejar. Mais da metade do sangue de indivíduos normais era positiva. A proposta inicial foi de fazer estudo multicêntrico no Brasil, escolhendo um “expert” externo, o Dr. Schijman, de INGEBI, Buenos Aires. Ao levar a idéia perante vários pesquisadores em reunião de protozoologia em Mendoza, Argentina, em 2007, representantes do TDR se interessaram em patrocinar o estudo, incluindo todos os países possíveis. Esse estudo, de porte internacional, foi conduzido por Schijman, com sangue de amostras clínicas do laboratório de Chagas e os resultados confirmaram as suspeitas: trabalhava-se com testes “in house”, identificando várias dezenas de metodologias diferentes. Os resultados e recomendações foram recentemente veiculados (96).

Para finalizar esta primeira parte, nosso interesse em transmissão congênita, e sua baixa prevalência no Brasil central, foi incentivado a partir de parceria com a APAE, que realiza o “teste da mamãe”, que inclui diversos marcadores de doenças transmissíveis em gestantes no estado de Goiás, inclusive Chagas. O laboratório, sob nossa direção, recebe todos os soros de gestantes com suspeita de infecção pelo *T. cruzi*, desde 2004. Para nossa surpresa já temos mais de 2.400 soros de gestantes confirmadamente positivas. Como desdobramento, foi iniciado um trabalho de mestrado em um grupo dessas gestantes e grupo pareado de mulheres não grávidas infectadas, por meio de hemocultivo (98). A parasitemia nas grávidas foi 50% mais elevada.

Em 2007 recebemos convite para escrever um capítulo sobre diagnóstico, em livro a ser editado pela Elsevier, como *e-book*, tendo como editores, Michel Tybayrenc e J. Telleria, com o título de “American Trypanosomiasis – Chagas disease. One hundred years of research”. Escolhemos como co-autor Gabriel Schmuñis, com quem estivemos trabalhando ativamente nos primeiros meses de 2010. Já de última hora, por desistência de outros autores, nos foi oferecido o capítulo de formas clínicas, que escrevemos em co-autoria com Anis Rassi, Joffre M. de Rezende e Anis Rassi Júnior. O livro foi editado com 31 capítulos em agosto de 2010 (C-35, C-36)

Em meados de 2009, fomos selecionado por comissão do Banco Interamericano para o Desenvolvimento (BID) para escrever dois capítulos sobre diagnóstico e tratamento, formando parte de um livro sobre recomendações para os governos interessados, como parte da iniciativa de Bens Públicos Regionais. Outros três autores selecionados escreveram sobre controle vetorial, transfusional e vigilância com participação comunitária. Foram apresentados em várias oportunidades os respectivos textos perante uma comissão internacional, que propôs adequações sucessivas. O livro foi publicado em 2010 (C-37).

1.2. AS DEZ PRINCIPAIS CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS (1970-2011)

Comentamos a seguir as principais contribuições que julgamos serviram para o progresso da ciência nas áreas de abrangência (imunologia e doença de Chagas).

Esta seleção independe do índice de impacto de cada trabalho, embora a maioria deles tenha sido publicado em periódicos internacionais, na língua inglesa, e alguns tiveram elevado número de citações no ISI *Web of Science*.

Vários deles atenderam a demanda da comunidade científica, para responder a perguntas específicas.

1.2.1. Lymphocyte activation. VIII. The application of a whole blood test to the quantitative analysis of PHA responsive T cells. 1976. (4).

Neste trabalho, desenvolvido em Londres, demonstramos pela primeira vez, que as melhores condições para uma correta ativação dos linfócitos, são as que se encontram no sangue periférico, o que parece óbvio. Com efeito, procedemos a separação dos diferentes componentes (soro, hemácias, leucócitos polimorfonucleares e mononucleares, estes pela técnica de ficoll-hypaque). Ainda, separamos em outros experimentos, os linfócitos T por meio da técnica disponível na época, rosetas espontâneas, e os linfócitos B. Após 60 horas de incubação foi adicionada timidina tritiada e as respostas medidas em contador de radiações beta.

Foram obtidos índices 10 vezes maiores, em relação à resposta isolada de células mononucleares, com 10% de soro fetal bovino, naquelas culturas reacondicionadas com a mesma proporção do sangue original.

O mais interessante foi constatar que na mistura de linfócitos T e B, em diferentes proporções (20% T -80%B; até 100% T) a resposta máxima foi obtida com 80% de T + 20% B, que é a original no sangue periférico. Na mistura 100% de LT, a resposta foi menor (figure 4).

Outra vantagem foi a simplicidade da técnica, evitando separações de células e possibilidades de contaminação. Na discussão teórica entre os pesquisadores *splitters* (que procuram separar todos os componentes celulares e estudar o comportamento de cada um) e os *bumpers* (que procuram a resposta global) este estudo favoreceu estes últimos.

Este trabalho de cunho metodológico, foi citado 47 vezes (*Web of Science*) e utilizado em vários laboratórios à época.

1.2.2. *Trypanosoma cruzi*: zymodemes associated with acute and chronic Chagas'disease in central Brazil. 1986. (13).

Este trabalho foi proposto em 1979, durante o Congresso Internacional de doença de Chagas, no Rio de Janeiro, onde conhecemos Miles. Aplicamos xenodiagnóstico, com triatomíneos que eram transportados desde Belém, em pacientes com as diversas formas clínicas, em particular durante a fase aguda. Fizemos xenodiagnóstico no mesmo paciente, na fase aguda, cada 4 a 6 horas, na perspectiva de encontrar zimodemas diferentes em diferentes coletas e horários. Trabalhamos durante cinco anos neste projeto, sendo o primeiro que descreve a dicotomia de cepas de *T. cruzi* por meio de estudo isoenzimático dos isolados (zimodema 1 e 2) de pacientes bem caracterizados clinicamente, por ocasião de surto de casos em fase aguda (n = 29) assim como de isolamentos de pacientes na fase crônica. Na mesma localidade, foram isolados parasitos do atual TcI assim como do TcII, durante a fase aguda. Já naqueles na fase crônica, apenas TcII. A repetição de xenodiagnósticos revelou o mesmo zimodema no mesmo paciente. Também foi relacionado o efeito terapêutico entre pacientes tratados portadores de TcI e II, sem encontrar diferenças. O achado de TcII em 10 pacientes na fase crônica com megasôfago também foi original à época. Embora relativamente pouco citado internacionalmente (53 vezes), consideramos que este trabalho fez vários aportes fundamentais no tema “cepas de *T. cruzi* isoladas de seres humanos”.

1.2.3. Multicentre double blind study for evaluation of *Trypanosoma cruzi* defined antigens as diagnostic reagents. 1990. (20)

Este trabalho faz parte daqueles “por encomenda”, ou seja, pretende responder perguntas de interesse global, formuladas por organismos internacionais. No caso, a OMS se encontrava no dilema de financiar projetos apresentados ao TDR sobre os melhores testes diagnósticos, com uma pletera de pesquisadores procurando apoio. Não havia consenso sobre quais seriam os de melhor desempenho. Assim, encomendou um estudo multicêntrico, com participação de todos eles, que receberiam um painel de soros para aplicar os respectivos testes. A condução desse estudo deveria ser feita por alguém independente e que tivesse uma soroteca disponível para esses fins. Fomos convidado para tal e conduzimos o estudo encaminhando um painel de 50 soros para os laboratórios interessados (n = 10). Cada um fez os testes que considerou necessários, pela metodologia própria, e os resultados foram encaminhados por fax à UFG, com recursos deste projeto. Participaram quatro grupos do Brasil, três da Argentina, um de

Colômbia e dois de Estados Unidos. Foi estabelecida uma data limite, feita análise estatística e os resultados foram discutidos na próxima reunião anual do TDR (Genebra, julho 1990). Este estudo multicêntrico foi o primeiro em nível internacional para testar novos antígenos no diagnóstico da infecção pelo *T. cruzi* e teve como peculiaridades, a rapidez na sua execução (menos de um ano entre a idéia e o resultado), a participação dos principais centros internacionais dedicados ao emprego de antígenos recombinantes e outros testes e permitiu reconhecer aqueles de melhor e de pior desempenho. A importância deste estudo, foi confirmada pelas citações do mesmo. Durante mais de uma década (1990 a 2003) foi o trabalho mais citado no periódico Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (entre todos os temas), assim como recebeu 50 citações na *Web of Science*.

1.2.4. Randomized trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. 1996. (33).

Outro trabalho “por encomenda”, a partir da OMS, para responder a seguinte pergunta: qual o real efeito da medicação tripanocida (benznidazol) no tratamento de crianças? Havia na literatura da época vários trabalhos que apontavam para um efeito terapêutico similar ao obtido no tratamento de pacientes na fase aguda, em crianças. Esses estudos eram abertos e careciam da objetividade dos estudos às cegas, com a droga ativa e placebo. Também havia indícios de diferenças regionais em relação aos efeitos terapêuticos. A OMS sugeriu que participassem dois países (Brasil e Argentina) utilizando um protocolo similar, duplo cego, com benznidazol, durante 60 dias, em crianças em idade escolar (até 12 anos). Após submeter o projeto, em parceria com Fabio Zicker, fomos contemplado e iniciamos os estudos de campo, em papel filtro, na região de Posse (de elevada endemicidade), conduzidos por A.L.S. Andrade e colaboradores.

Após coletar 1.990 amostras, foram individualizadas 151 crianças com sorologia reagentes por três testes sorológicos. Esses resultados foram confirmados com coleta de sangue venoso e iniciado o tratamento. Também foram examinados os pais de cada criança, assim como acompanhadas as crianças tratadas. Este estudo demandou a dedicação quase total do laboratório, desde 1991 até 1995, período no qual foram realizados três testes sorológicos em 1.900 soros. Os resultados demonstraram pela primeira vez, em forma inequívoca, com estudo em duplo cego, que o tratamento específico com benznidazol em crianças até 12 anos de idade, foi eficaz em mais da metade dos que receberam o fármaco (58%) em seguimento de 38 meses. Resultados

similares foram publicados posteriormente pelo grupo argentino. Com base nestes achados, foi recomendado pela OMS o tratamento de toda criança infectada.

1.2.5. Estudo multicêntrico: Avaliação do desempenho de conjuntos diagnósticos de hemaglutinação indireta, disponíveis no Brasil, para o diagnóstico sorológico da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. 1997. (42).

Este trabalho foi iniciado após a formação do “Comitê Técnico Assessor para o diagnóstico laboratorial da doença de Chagas” (Portaria No.1472, DOU de 22/7/1996) do Ministério da Saúde. Foi verificada a necessidade de realizar estudo piloto para avaliação do desempenho dos diferentes conjuntos diagnósticos (*kits*) de hemaglutinação indireta, disponíveis no mercado. Tal necessidade decorria do desempenho irregular destes insumos, assim como à existência de diversidade de marcas e preços, com dificuldade de avaliação independente. A coordenação de laboratórios adquiriu os kits disponíveis (11) e a equipe composta por um laboratório em São Paulo (Hemocentro), um em Belo Horizonte (Funed), um em Rio de Janeiro (Fiocruz), um em Recife (Hemope) e um em Goiânia (UFG) formou um painel de 90 soros que foram alíquotados e encaminhados a cada um dos cinco centros. Foram realizados 4.524 testes e foi possível classificar o desempenho de cada *kit*, sendo que quatro tiveram bom desempenho, em quatro foi razoável e em três, sofrível.

Trata-se do primeiro estudo multicêntrico realizado no Brasil para avaliar um teste sorológico de hemaglutinação indireta para o diagnóstico da doença de Chagas. Como consequência deste estudo, foi retirado do mercado um dos *kits*, de pior desempenho, e os demais fabricantes foram obrigados a fazer ajustes para melhorar o produto. Embora este trabalho não tenha tido o impacto almejado, foi de extrema utilidade para demonstrar a necessidade de tais estudos, assim como útil para desclassificar em licitações públicas, aqueles insumos que, mesmo com menor preço, apresentam desempenho aquém do desejável. Também demonstrou a possibilidade de trabalho em equipe, entre vários centros, com a participação acadêmica (RJ, GO), instituições de atendimento ao público (dois hemocentros e a Funed) e um órgão público regulador (Coordenação de Laboratórios do Ministério da Saúde).

1.2.6. Chagas disease diagnosis: a multicentric evaluation of Chagas Stat-Pak, a rapid immunochromatographic assay with recombinant proteins of *Trypanosoma cruzi*. 2003. (60).

Este trabalho surgiu como necessidade de avaliar um novo teste, em modalidade recente de teste rápido. Vários testes deste tipo, como o de aglutinação rápida, de látex, lançados no mercado na década de 1970 tiveram baixo desempenho e levaram ao descrédito desta modalidade. Com a utilização de novos suportes, como as membranas de nitrocelulose e a metodologia de imunocromatografia, novos ensaios foram realizados. O emprego de misturas de antígenos recombinantes que tinham demonstrado sua utilidade em ensaios de ELISA pelo grupo de Umezawa e col., levou ao seu emprego em teste rápido de imunocromatografia desenvolvido por empresa de Estados Unidos (Chembio). Faltava verificar a sua utilidade em estudo amplo, com soros de vários países, o que foi executado neste trabalho. Foram testados 393 soros, sendo a metade não reagente ou reagente com outras infecções, com leitura por três observadores. Os resultados demonstraram a especificidade de 94,8% e sensibilidade de 98,5%. Este estudo multicêntrico demonstrou a possibilidade da sua utilização, com bom desempenho. Como consequência deste trabalho, foi aplicado este teste na Bolívia, em inquérito nacional em milhares de crianças, com resultados satisfatórios.

Este foi o primeiro trabalho que demonstrou a possibilidade de utilizar-se um teste rápido, em doença de Chagas, com resultados confiáveis. As vantagens da sua utilização em países endêmicos são inúmeras: a simplicidade do teste permite que técnicos de nível médio possam executar o mesmo, em regiões longínquas, e definir *in loco* as pessoas com infecção, com vistas a tratamento. A rapidez do mesmo, assim como a dispensa de refrigeração, permitem o seu uso em diversos países. Ainda, a possibilidade de preservar o cassette com a reação, permite o seu arquivo mesmo no prontuário do paciente, assim como contraprova em ações judiciais. A facilidade de manejo, com possibilidade de realização à beira do leito, permite lidar com situações de emergência, como seleção de doadores em regiões de difícil acesso, ou plantões em fins de semana.

Consideramos que este foi um avanço real no diagnóstico sorológico em doença de Chagas.

Os outros quatro trabalhos que consideramos contribuíram significativamente para o conhecimento na área de doença de Chagas, foram os seguintes:

- 1.2.7. Detection of parasitemia profiles by blood culture after treatment of human chronic *Trypanosoma cruzi* infection. 2006.
- 1.2.8. Specific treatment for *Trypanosoma cruzi*: lack of efficacy of allopurinol in the human chronic phase of Chagas Disease. 2007.
- 1.2.9. Increased Parasitemia during Pregnancy Detected by Hemoculture. 2011.
- 1.2.10. O inquérito nacional de soroprevalência de avaliação do controle da doença de Chagas no Brasil (2001-2008). 2011.

Como alguns deles serão comentados a seguir (últimos cinco anos), julgamos desnecessária a sua inclusão nesta seção. Desses artigos retiramos os objetivos específicos desta tese.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Selecionar os seis artigos publicados nos últimos cinco anos, julgados mais importantes pela contribuição ao estudo da doença de Chagas. Descrever a contribuição de cada um.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1. Do Artigo 1. Detection of parasitemia profiles by blood culture after treatment of human chronic *Trypanosoma cruzi* infection.

Avaliar o perfil parasitêmico de 40 pacientes chagásicos durante a fase crônica da doença, por meio de três hemocultivos seriados. Verificar a mudança no perfil parasitêmico em 27 deles após o tratamento etiológico com benznidazole, no seguimento de 24 meses, comparando com 13 não tratados.

2.2.2. Do Artigo 2. Short Report: specific treatment for *Trypanosoma cruzi*: lack of efficacy of allopurinol in the human chronic phase of Chagas Disease.

Verificar o efeito terapêutico de allopurinol administrado durante 60 dias, em 23 pacientes selecionados por xenodiagnóstico positivo, em comparação com 12 pacientes que receberam placebo, por meio de xenodiagnóstico seriado.

2.2.3. Do Artigo 3. Performance levels of four Latin American laboratories for the serodiagnosis of Chagas disease in Mexican sera samples.

Verificar a reatividade de soros de pacientes chagásicos que contraíram a infecção no México, com reagentes produzidos com cepas provenientes do México e comparar os resultados desses soros em laboratórios fora do México, utilizando reagentes de outras origens.

2.2.4. Do Artigo 4. Highly Effective Serodiagnosis for Chagas Disease.

Verificar o desempenho de teste imunoenzimático empregando como antígeno uma proteína de fusão de 24kDa utilizando soros provenientes de duas áreas endêmicas: Bolívia e Brasil.

2.2.5. Do Artigo 5. Chagas Disease: Increased Parasitemia during Pregnancy Detected by Hemoculture.

Este artigo teve como objetivo estudar o perfil parasitêmico por hemocultivo durante diferentes períodos da gravidez, comparando com mulheres chagásicas não gestantes.

2.2.6. Do Artigo 6. O inquérito nacional de soroprevalência de avaliação do controle da doença de Chagas no Brasil (2001-2008).

Estimar a soroprevalência da infecção chagásica humana na população de 0-5 anos de idade, residente na área rural brasileira. Secundariamente, avaliar o impacto havido na transmissão da infecção chagásica no país, a partir do controle das populações domiciliadas do vetor, exercido de forma regular desde 1975.

3. SELEÇÃO DE ARTIGOS PUBLICADOS NOS ÚLTIMOS CINCO ANOS

- Artigo 1. Castro AM, Luquetti AO, Rassi A, Chiari E, Galvão LMC 2006. Detection of parasitemia profiles by blood culture after treatment of human chronic *Trypanosoma cruzi* infection. *Parasitol Res* 99: 379-383.
- Artigo 2. Rassi A, Luquetti AO, Rassi Jr A, Rassi GG, Rassi SG, Silva IG, Rassi AG 2007. Short Report: 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.
- Artigo 3. Luquetti AO, Espinoza B, Martínez I, Becerril-Hernández N, Ponce C, Ponce E, Reyes PA, Hernández O, López R, Monteón V 2009. Performance levels of four Latin American laboratories for the serodiagnosis of Chagas disease in Mexican sera samples. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104: 797-800.
- Artigo 4. Hernandez P, Heimann M, Riera C, Solano M, Santalla J, Luquetti AO, Beck E 2010. Highly Effective Serodiagnosis for Chagas Disease. *Clin Vaccine Immunol* 17: 1598-1604.
- Artigo 5. Siriano LR, Luquetti AO, Avelar JB, Marra NL, Castro AM 2011. Chagas Disease: Increased Parasitemia during Pregnancy Detected by Hemoculture. *Am J Trop Med Hyg* 84: 569-574.
- Artigo 6. Luquetti AO, Passos ADC, Silveira AC, Ferreira AW, Macedo V, Prata AR 2011. O inquérito nacional de soroprevalência de avaliação do controle da doença de Chagas no Brasil (2001-2008). *Rev Soc Bras Med Trop* 44 (Supl. 2): 1-19.

3. DISCUSSÃO

Todos os seis trabalhos selecionados tiveram colaboradores de diversas instituições e países, o que vem demonstrar, mais uma vez, a necessidade de parcerias para obter um avanço significativo no conhecimento. Em apenas dois deles, o primeiro autor é quem subscreve, o que reflete uma participação maior. Deve ser registrado, porém, a participação nos demais trabalhos não foi apenas em plano secundário. Como é sobejamente conhecido, em todo artigo científico, uma das fases que exige maior investimento de tempo, é a publicação. Muitos trabalhos de excelente qualidade não são finalmente publicados, em razão da pouca experiência do autor que executou o trabalho em si (dissertações, teses), ou pela desistência após a submissão rejeitada em primeira instância. A nossa participação como orientador ou co-orientador, reescrevendo o trabalho original, ocorreu em dois trabalhos sobre parasitemia (2006, 2011) onde os aspectos técnicos foram desenvolvidos pelo primeiro autor. No trabalho sobre allopurinol, desenvolvido pelo Dr. Rassi, coube-nos a execução dos exames parasitológicos e sorológicos, assim como a redação em estreita colaboração com o primeiro autor. Em relação à nova técnica de ELISA, além da execução dos testes sorológicos, inclusive com a nova técnica, a maior parcela de soros foi da instituição a qual pertencemos, com 381 soros, em comparação com 215 soros de duas instituições na Bolívia.

Outro aspecto que pode chamar a atenção é que dois deles foram publicados no formato de nota (“short report”) embora submetidos inicialmente como artigo completo. Mesmo assim, consideramos que as contribuições geradas por ambos foram significativas.

3.1. Castro AM, Luquetti AO, Rassi A, Chiari E, Galvão LMC 2006. Detection of parasitemia profiles by blood culture after treatment of human chronic *Trypanosoma cruzi* infection. *Parasitol Res* 99: 379-383.

O primeiro trabalho, desenvolvido como parte da tese de doutoramento de Ana Maria de Castro, foi iniciado anos antes, em colaboração com o Departamento de Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais, com o emprego de três hemocultivos seriados, antes do tratamento, incluindo a comparação com a PCR (ref. 57). Naquele trabalho, feito às cegas, alguns controles negativos tiveram seu

hemocultivo negativo, porém obteve-se resultado positivo empregando o teste de PCR. Foi padronizado, à época, o perfil parasitêmico em baixo, quando os três cultivos foram negativos, médio quando um dos três foi positivo e elevado quando dois ou três exames foram positivos.

Demos ênfase à conveniência de excluir os resultados de PCR, teste ainda não satisfatoriamente padronizado (ref. 96), e frisamos este detalhe no momento da sua submissão para publicação. Neste trabalho, convocamos os mesmos pacientes, após terem sido tratados com benznidazol, para fazer novamente três hemocultivos seriados. Obviamente nem todos compareceram ou aceitaram essas repetições. Foram incluídos como controles alguns pacientes que não concluíram o tratamento, muitas vezes devido a reações colaterais deste fármaco.

Os resultados demonstraram o efeito parasiticida, pelo menos supressor, na maioria dos pacientes. A tabela 1 demonstra a mudança no perfil parasitêmico: de 27 pacientes tratados: oito apresentaram três hemocultivos negativos iniciais. Após o tratamento, o mesmo perfil foi observado em sete, e um deles apresentou hemocultivo positivo, indicando falha terapêutica. Dos 19 restantes, que apresentavam parasitemia média ou elevada, 17 mudaram seu perfil para três hemocultivos negativos, indicando o efeito redutor da parasitemia deste fármaco. Outros dois apresentaram hemocultivos positivos após o benznidazol, confirmando o insucesso terapêutico. No grupo controle, composto de 13 pacientes, mais da metade ($n = 7$) manteve o mesmo perfil; um dos de baixa parasitemia apresentou positividade após aumentar o número de cultivos. Entre os cinco com média parasitemia, um a manteve, dois negativaram e dois mudaram para elevada parasitemia. No grupo de quatro com elevada parasitemia, três a mantiveram e um negativou. Este paciente utilizou o fármaco de forma irregular, sem completar o tratamento; por isso foi incluído no grupo controle.

Este trabalho com seis hemocultivos seriados, permitiu aferir o efeito supressor do fármaco empregado, assim como precisou a percentagem de pacientes que apresenta falha terapêutica no seguimento de 24 meses (11%). Este dado não existia de forma clara na literatura. Obviamente que alguns dos que mudaram o perfil para negativo, vão apresentar na evolução a longo prazo, exames parasitológicos positivos, porém a quantificação só poderá ser avaliada com mais exames. Outra parcela, no decorrer de lustros, vai apresentar sorologia com títulos decrescentes, até atingir a demonstração de cura. Nesses, espera-se que os exames parasitológicos persistam negativos.

Este trabalho, embora relativamente recente, já foi citado 8 vezes, com a média de citações por ano de 1,33.

3.2. Rassi A, Luquetti AO, Rassi Jr A, Rassi GG, Rassi SG, Silva IG, Rassi AG 2007. Short Report: 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.

Após várias publicações sobre o efeito terapêutico do allopurinol *in vitro*, em animais experimentais e em seres humanos, em estudos não randomizados, assim como em outros trabalhos que apontavam para a sua ineficácia, os membros do TDR (OMS) solicitaram pesquisas nesse sentido. Três grupos atenderam ao chamado: o grupo de Córdoba, Argentina, que tinha publicações sobre seu efeito, o grupo de Santa Cruz de la Sierra, Bolívia, e o grupo de Goiás. Os três deveriam desenvolver o estudo nos mesmos moldes, recebendo o fármaco e o placebo de Genebra. O racional era comprovar seu efeito em pacientes com parasitemia patente. Para isso era necessário aplicar xenodiagnóstico (a técnica mais utilizada na década de 1990) em número elevado de pacientes, em exames seriados, para aumentar a possibilidade de encontrar pacientes parasitêmicos.

O nosso grupo, liderado pelo Dr. Anis Rassi, iniciou o estudo com quatro exames sucessivos, aplicando 40 triatomíneos por exame. Foram assim selecionados 35 indivíduos elegíveis. Foi administrado às cegas o fármaco ou o placebo, durante 60 dias, e após, reiniciados os exames de xenodiagnóstico. Embora o protocolo inicial previsse apenas três xenodiagnósticos seriados, Anis Rassi pleiteou a sua realização mensal durante 12 meses, o que foi finalmente aceito.

Após a abertura dos códigos, todos os 17 pacientes que receberam o fármaco, apresentaram xenodiagnóstico positivo, como pode ser observado na tabela 3. Concluimos pela ineficácia do allopurinol na fase crônica, como medicamento único, em pacientes do Brasil Central (Tc2). Trabalho similar conduzido na Bolívia mostrou resultados similares, porém foi divulgado em periódico local, de baixo impacto.

Este trabalho, concluído em 1997, com resultados negativos, foi redigido posteriormente, submetido ao periódico *Transactions of the Royal Society for Tropical Medicine and Hygiene*, rejeitado, reapresentado como artigo original ao periódico *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, aceito finalmente como “short report” e exemplifica o árduo percurso para obter resultados publicados em periódicos

de impacto, em particular quando os resultados são negativos. Apesar da apresentação como *short report* o mesmo foi citado já onze vezes, com 2,2 citações por ano.

3.3. Luquetti AO, Espinoza B, Martínez I, Becerril-Hernández N, Ponce C, Ponce E, Reyes PA, Hernández O, López R, Monteón V 2009. Performance levels of four Latin American laboratories for the serodiagnosis of Chagas disease in Mexican sera samples. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104: 797-800.

A polêmica sobre o diagnóstico sorológico de pacientes infectados no México é antiga, em parte pelos próprios pesquisadores desse país, que acreditaram que os reagentes comerciais, utilizados preferentemente no diagnóstico, e preparados até há pouco no Cone Sul, fossem inadequados para o diagnóstico de pacientes infectados com Tc1. Para verificar esta hipótese, Monteón (Instituto Nacional de Cardiologia) preparou um painel de 98 soros que foram distribuídos para outro laboratório no México (Universidad Autónoma de México), Honduras (Ponce) e Goiânia como centro de referencia. No México foram utilizadas duas cepas isoladas localmente (Ninoa e Querétaro) em ensaios de ELISA, western blot, e imunofluorescência indireta (IFI). Em Honduras foram empregados dois kits de ELISA de procedência argentina (Wiener), um com antígeno bruto (não purificado) e outro com antígeno recombinante, assim como um teste rápido (Stat-pack). No Brasil, utilizamos ELISA e IFI a partir de cepa Y, e hemaglutinação indireta, assim como IFI com antígeno de leishmânia, que também foi utilizado por Monteón.

Os resultados demonstraram boa concordância entre os quatro centros, entre os 40 soros classificados como positivos e os 58 negativos.

Este estudo demonstrou claramente que é possível diagnosticar a infecção pelo *T. cruzi* em pacientes mexicanos, utilizando reagentes preparados com cepas de *T. cruzi* de origem diversa. Embora considerado trabalho essencial para dirimir definitivamente esta dúvida, e submetido como artigo original, o trabalho foi finalmente aceito como short report. Mesmo sendo recente e no formato de nota, já foi citado três vezes, na razão de 1 por ano.

3.4. Hernandez P, Heimann M, Riera C, Solano M, Santalla J, Luquetti AO, Beck E 2010. Highly Effective Serodiagnosis for Chagas Disease. *Clin Vaccine Immunol* 17: 1598-1604.

Esta recente colaboração decorreu da necessidade do grupo que descreveu o teste, de testar a sua especificidade e sensibilidade com número significativo de soros. O pesquisador principal, Dr. Beck, o desenvolveu com o intuito de obter um teste de ELISA econômico, para utilização em regiões endêmicas. Para tal, utilizou peptídios sintéticos de seqüências repetitivas de aminoácidos, freqüentes no *T. cruzi*. Obteve uma fusão de antígenos recombinantes já referidos na literatura (B13, CRA) e peptídios sintéticos (TcD, TcE) construindo um antígeno chamado TcBCDE. Um cuidado especial consistiu no emprego de soros de pacientes com calazar (n=35). Após análise e ajustes de concentração com os soros procedentes da Bolívia, o teste foi utilizado em Goiânia, onde demonstrou excelente especificidade (em 216 soros não reagentes) e sensibilidade (em 165 soros reagentes, a maioria de baixa reatividade, porém positivos nos três testes convencionais utilizados. O idealizador deste projeto, pertencente a uma Universidade da Alemanha, frisou o baixo custo do antígeno utilizado, bem como a disponibilidade gratuita de dados genômicos, que permitem escolher antígenos com maiores possibilidades de sucesso.

Destacamos, neste caso, o trabalho em equipe, na qual um grupo cria um teste, porém não tem condições de testar o seu desempenho, e outros grupos de pesquisa, contando com sorotecas de porte, podem atestar as qualidades do produto gerado.

3.5. Siriano LR, Luquetti AO, Avelar JB, Marra NL, Castro AM 2011. Chagas Disease: Increased Parasitemia during Pregnancy Detected by Hemoculture. *Am J Trop Med Hyg* 84: 569-574.

Este trabalho é fruto de dissertação de mestrado da primeira autora, desenvolvido no laboratório de Chagas, onde trabalha. Ele foi possível graças à parceria estabelecida com a Associação de Pais e Amigos de Excepcionais (APAE) de Goiânia, que, juntamente com a Secretaria Estadual de Saúde, estabeleceram convênio para realizar testes sorológicos para diversos agravos, nas gestantes do Estado de Goiás. Aliás, o primeiro convênio foi firmado no Estado do Mato Grosso do Sul, com início em 2002, entre a APAE local e a Secretaria Estadual de Saúde.

Em virtude de seu sucesso, a experiência foi repetida no Estado de Goiás. Fomos procurado à época para confirmar os casos com triagem (em papel filtro) para o marcador Chagas. Dada a característica estadual, milhares de amostras de todos os municípios do Estado são recebidas por mês, e começamos a receber, desde 2004, soros para confirmação da infecção por *T. cruzi*, confirmando aproximadamente 80%. Além do diagnóstico laboratorial, é oferecido o atendimento da gestante, no ambulatório de Chagas, sob nossa direção. Isto possibilitou a execução deste trabalho, haja vista que uma parcela das gestantes confirmadas, comparece para atendimento clínico.

Nessa ocasião, a partir de junho de 2006, até julho de 2007, foram convidadas a participar do projeto 101 gestantes. Como controle, foram convidadas 51 pacientes do ambulatório, também infectadas pelo *T. cruzi*, porém não gestantes. O objetivo era confirmar o aumento de parasitemia descrito na gravidez, por meio de hemocultivo, em uma única ocasião. De cada caso foram feitos sete hemocultivos e verificada a presença de parasitos mensalmente, durante cinco meses.

Os resultados demonstraram que houve aumento significativo da parasitemia, no grupo de gestantes (29,4% de hemocultivos positivos nas não gestantes e 60,4% nas gestantes), confirmando, agora por hemocultivo, o que já tinha sido descrito por xenodiagnóstico. O fato novo, e não esperado, foi que o aumento foi significativamente maior nos primeiros meses da gestação, o que pode permitir interpretações relacionadas com a transmissão congênita.

Após muita insistência, respondendo a inúmeros questionamentos de vários revisores, o trabalho foi finalmente aceito em periódico da especialidade.

Acreditamos ter contribuído em área polêmica, pois até hoje não se compreende a transmissão congênita e os fatores que determinam a passagem do parasito ao feto. Este achado chama a atenção para um período menos estudado na gestante chagásica, antes de 21 semanas. Talvez devido ao aumento da parasitemia nessa época, as raras transmissões ocorram neste período.

3.6. Luquetti AO, Passos ADC, Silveira AC, Ferreira AW, Macedo V, Prata AR 2011. O inquérito nacional de soroprevalência de avaliação do controle da doença de Chagas no Brasil (2001-2008). *Rev. Soc Brasileira Medicina Tropical* 44 (Supl.2): 1-19.

Este trabalho foi concebido, conduzido e concluído com o auxílio do professor Aluísio Prata, recentemente falecido. Após a luta para eliminar o principal transmissor da doença de Chagas, o *Triatoma infestans*, por meio da borrifação em todos os municípios do país, levado a cabo pela ex-SUCAM, na década de 1980, havia necessidade de demonstrar que o controle da transmissão tinha sido efetivamente alcançado. Uma das formas de alcançar este objetivo consiste na busca de infectados entre aqueles que nasceram após as medidas de controle. O sonho do Dr. Prata, era comprovar essa hipótese. Para tal, desde 1997, grupos de estudo reuniam-se em cada congresso da Sociedade.

Em 2001, foram constituídas as equipes e fomos convidado a participar, com o diagnóstico sorológico, nos moldes do inquérito anterior (1975-1980), em nível nacional. Após cuidadoso cálculo do tamanho amostral, foi decidido que apenas um laboratório faria todos os testes em papel-filtro, com controle de qualidade executado em um segundo laboratório. Fizemos várias exigências: um número único para cada amostra, utilizar papel filtro de qualidade indiscutível (Whatmann No. 1) e aplicar dois testes em cada amostra (ELISA e IFI). A idade das crianças deveria ser desde o nascimento até os cinco anos incompletos.

Foi iniciado um projeto piloto e, a partir de 2002, nos dedicamos a este projeto, até 2008. Recebemos mais de 110.000 amostras nesse período, e encaminhamos para controle de qualidade (Instituto de Medicina Tropical de São Paulo) 15.000 amostras. Quatro técnicos em tempo integral foram necessários para o processamento durante estes anos.

Os resultados, publicados recentemente *on line*, confirmaram o sucesso das campanhas de borrifação, não se encontrando crianças infectadas em áreas onde imperava o *T. infestans*. Apenas 11 crianças (0,01%) foram confirmadas por coleta de sangue venoso, filhos de mães sorologicamente negativas, sendo que a maioria residia na região Nordeste, área sem *T. infestans*.

Como resultado colateral, e não esperado, foram encontradas muitas crianças confirmadamente positivas, no Estado do Rio Grande do Sul, onde a população de crianças estudadas foi de 5% do total (4.500 amostras). Doze crianças foram positivas filhos de mães reagentes, caracterizando transmissão vertical. Apenas outras oito foram

encontradas no restante do país, também filhos de mães chagásicas dentre 100.500 crianças analisadas. A frequência de transmissão congênita no sul do Brasil foi similar a encontrada nos países do Cone Sul, indicando a presença de outro tipo de *T. cruzi*, o TcV e o TcVI.

Esse subproduto do inquérito Nacional, não tinha sido relatado anteriormente, e vem reforçar a existência de diferenças regionais, dependentes de diferentes tipos de *T. cruzi*, mais do que a diferenças da genética dos hospedeiros. Este exemplo vem a somar com outros já descritos, como a presença de megaesôfago no Brasil Central, a cardiopatia mais grave na mesma região, e o escasso efeito terapêutico do nifurtimox.

O investimento nesta empreitada, em parceria com a Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, Universidade de Brasília, Instituto de Medicina Tropical de São Paulo e Universidade Federal de Goiás, foi compensados pelo resultados obtidos, validando o controle do triatomíneo para interromper a transmissão da infecção e aportando conhecimento sobre a transmissão congênita.

4. CONCLUSÕES

Após os comentários referentes a produção científica relevante dos últimos cinco anos, as conclusões relativas aos trabalhos efetuados com pacientes procedentes do Brasil Central (72, 77, 93, 98) se referem sempre a região onde o parasito isolado apresenta características predominantes de TcII. Essas conclusões podem não ser válidas para regiões com circulação preponderante de outros tipos de *T. cruzi*, tais como sul do Brasil, Amazônia, Cone Sul, America Central e México.

Em relação ao trabalho com soros de pacientes do México (91), as conclusões se referem ao TcI. Os resultados do inquérito nacional (100) representam a situação no Brasil, onde podem ser encontrados os seis tipos de *T. cruzi*.

Com essas ressalvas, concluímos que:

1. Artigo 1. A parasitemia na fase crônica da doença de Chagas é variável, como já era conhecido. Empregando-se três hemocultivos seriados foi possível dividir os 40 pacientes em três perfis: elevada (n = 15; 37,5%); média (n = 13; 32,5%) e baixa parasitemia (n = 12; 30%). O número de pacientes com parasitemia detectável aumenta à medida que os exames são repetidos, fato já descrito. O tratamento específico com benznidazol tem como efeito imediato a negatificação das hemoculturas, demonstrando sua atividade parasiticida. De 19 pacientes com média ou elevada parasitemia, 17 (90%) apresentaram três hemocultivos negativos em seguimento de dois anos. A percentagem de falha terapêutica após dois anos do tratamento é de 11% (3/27). Este percentual não era conhecido na literatura.
2. Artigo 2. O allopurinol (900 mg/dia) administrado durante 60 dias na fase crônica da doença de Chagas, não é eficaz, persistindo os pacientes com exame parasitológico positivo (xenodiagnóstico).
3. Artigo 3. Pacientes na fase crônica da doença provenientes do México podem ser diagnosticados com reagentes fabricados com cepas de *T. cruzi* não autóctones.
4. Artigo 4. Um novo teste de ELISA, utilizando uma proteína de fusão de 24 kDa apresentou sensibilidade e especificidade acima de 99%.
5. Artigo 5. A parasitemia nas gestantes aumenta, de 29,4% para 60,4%, com hemocultura única. Este aumento corrobora pesquisas anteriores, com xenodiagnóstico. O aumento da parasitemia ocorre relacionado a idade

gestacional, sendo maior nas primeiras 21 semanas, fato não descrito anteriormente.

6. Artigo 6. O inquérito nacional de soroprevalência para avaliar o controle da doença de Chagas no Brasil, não encontrou crianças infectadas em áreas anteriormente colonizadas pelo *Triatoma infestans*, demonstrando a efetividade das medidas de borrifação. Foram estabelecidas diferenças geográficas no tocante a transmissão congênita no Brasil. Confirmou-se a baixa prevalência deste mecanismo de transmissão em todo o Brasil, com exceção do estado do Rio Grande do Sul, onde o tipo de *T. cruzi* circulante é outro (TcV-VI). Este é o primeiro relato de associação de tipo de *T. cruzi* com a transmissão vertical.

5. REFERÊNCIAS

5.1. Referências de artigos publicados em periódicos, pelo autor

Observação: dadas as características desta tese, consideramos que a ordem cronológica dos artigos facilitaria a sua procura. O asterisco (*) ressalta os 10 artigos mais citados, com o número de citações desde sua publicação. Ainda, para facilitar a comparação entre artigos publicados no exterior e no Brasil, foi acrescentada no final de cada artigo, essa característica (legenda: exterior: “Ex 01” e “Br 01”).

1. Oehninger C, Lasalvia E, Haedo C G, Garbino C E, Valverde E, Luquetti A, Valdez L, Novales EN, & Reissenweber N 1971. Valor de critérios inmunológicos en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de la enfermedad de Hodgkin. *Prensa med Arg* 58: 1904-1907. (Ex 01)
2. Oehninger C, Lasalvia E, Luquetti A, Valverde E, Paciel J, Reissenweber N 1972. Valor de criterios inmunológicos en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las hepatopatías. *Prensa med Arg* 59: 935-938. (Ex 02)
3. Oehninger C, Lasalvia E, Luquetti A 1973. Rehabilitación inmunológica por BCG en pacientes con carcinoma mamario. *Medicina (Buenos Aires)* 33: 295-299. (Ex 03)
4. Luquetti A, Janossy G 1976. Lymphocyte activation. VIII. The application of a whole blood test to the quantitative analysis of PHA responsive T cells. *J Immunol Meth* 10: 7-25. (Ex 04)*47 citações.
5. Janossy G, Gomes de la Concha E, Luquetti A, Snajdr MJ, Waxdal MJ, Platts-Mills TAE 1977. T-Cell Regulation of Immunoglobulin Synthesis and Proliferation in Pokeweed (Pa-1)-Stimulated Human Lymphocyte Cultures. *Scand J Immunol* 6: 109-123. (Ex 05)**123 citações.
6. Larson HE, Parry RP, Gilchrist C, Luquetti A, Tyrrel DAJ 1977. Influenza viruses and staphylococci *in vitro*: some interactions with polymorphonuclear leucocytes and epithelial cells". *Brit J Exp Pathol* 58: 281-288. (Ex 06)
7. Szarfman A, Luquetti A, Rassi A, Rezende JM, Schmunis GA 1981. Tissue-reacting immunoglobulins in patients with different clinical forms of Chagas'disease . *Am J Trop Med Hyg* 30: 43-46. (Ex 07)
8. Peralta JM, Magalhaes TCR, Abreu L, Manigot DA, Luquetti A, Dias JCP 1981. The direct agglutination test for chronic Chagas' disease. The effect of pre-

- treatment of test samples with 2-mercaptoethanol. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 75: 695-698. (Ex 08)
9. Luquetti A, Newton CA, Webster ADB 1981. Cellular immunity in primary hypogammaglobulinaemia: Evidence for a generalised lymphocyte defect in some patients with 'common' variable hypogammaglobulinaemia. *Allergol Immunopathol* 9: 295-306. (Ex 09)
 10. Kipnis TL, Minoprio PM, Luquetti AO, Rassi A, Dias da Silva W 1983. Estudo imunobiológico de estoques de *Trypanosoma cruzi* isolados de pacientes na fase aguda da doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop* 16: 175-183. (Br 01)
 11. Schechter M, Luquetti AO, Rezende JM, Rassi A, Miles MA 1985. Further evaluation of lectin affinity purified glycoprotein (GP90) in the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 79: 637-640. (Ex 10)
 12. Scharfstein J, Luquetti A, Murta ACM, Senna M, Rezende JM, Rassi A, Mendonca-Previato L 1985. Chagas'disease: serodiagnosis with purified Gp25 antigen. *Am J Trop Med Hyg* 34: 1153-1160. (Ex 11)*46 citações.
 13. Luquetti AO, Miles MA, Rassi A, de Rezende JM, De Souza AA, Povoá MM, Rodrigues I 1986. *Trypanosoma cruzi*: zymodemes associated with acute and chronic Chagas'disease in central Brazil". *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 80: 462-470. (Ex 12)*53 citações.
 14. Schechter M, Stevens AF, Luquetti AO, Snary D, Allen AK, Miles MA 1986. Prevalence of Antibodies to 72-Kilodalton Glycoprotein (GP72) in Patients with Chagas'Disease and Further Evidence of Zymodeme-Associated Expression of GP72 Carbohydrate Epitopes. *Infect Immun* 53: 547-552. (Ex 13)
 15. Luquetti AO 1987. Megaesôfago e anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* 1987. *Rev Goiana Med* 33: 1-16. (Br 02)
 16. Ashall F, Yip-Chuck DAM, Luquetti AO, Miles MA 1988. Radiolabeled Total Parasite DNA Probe Specifically Detects *Trypanosoma cruzi* in Mammalian Blood. *J Clin Microbiol* 26: 576-578. (Ex 14)
 17. Affranchino JL, Ibañez CF, Luquetti AO, Rassi A, Reyes MB, Macina RA, Aslund L, Pettersson U, Frasch ACC 1989. Identification of a *Trypanosoma cruzi* antigen that is shed during the acute phase of Chagas' disease. *Mol Bioch Parasitol* 34: 221-228. (Ex 15) ***125 citações.

18. Zicker F, Oliveira RM, Luquetti AO, Oliveira OS, Smith PG 1989. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* infection among unskilled urban workers in central Brazil. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 83: 511-513. (Ex 16)
19. Zicker F, Smith PG, Luquetti AO, Oliveira OS 1990. 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. [A]. Zicker F, Smith PG, Luquetti AO, Oliveira OS 1991. Detección de infectados por *Trypanosoma cruzi* mediante inmunofluorescencia, ELISA y hemaglutinación en suero y eluidos de sangre seca. *Bol Of Sanit Panam* 110: 489-498. [B] (Ex 17)
20. Moncayo A, Luquetti AO 1990. Multicentre double blind study for evaluation of *Trypanosoma cruzi* defined antigens as diagnostic reagents (+). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 85: 489-495. (Br 03) *50 citações.
21. Luquetti AO 1990. Use of *Trypanosoma cruzi* defined proteins for diagnosis-multicentre trial: serological and technical aspects. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 85: 497-505. (Br 04)
22. Luquetti AO 1990. Carta ao Editor. Resposta à Carta ao Editor 23(1):53, 1990: Risco de desenvolver câncer em receptores de sangue violetado. Validade da entrevista. *Rev Soc Bras Med Trop* 23: 237-238. (Br 05)
23. Jazin EE, Luquetti AO, Rassi A, Frasch ACC 1991. Shift of Excretory-Secretory Immunogens of *Trypanosoma cruzi* during Human Chagas'Disease. *Infec Immun* 59: 2189-2191. (Ex 18)
24. Andrade ALSS, Martelli CMT, Luquetti AO, Oliveira OS, Almeida e Silva S, Zicker F 1992. "Triagem sorológica para o *Trypanosoma cruzi* entre doadores de sangue do Brasil Central". *Bol Of Sanit Panam* 113: 19-27. [A] Andrade ALS, Martelli CMT, Luquetti AO, Oliveira OS, Almeida e Silva S, Zicker F 1992. Serologic Screening for *Trypanosoma cruzi* among Blood Donors in Central Brazil. *Bull PAHO* 26: 157-163.[B]. (ex 19).
25. Andrade SG, Rassi A, Magalhaes JB, Ferriolli Filho F, Luquetti AO 1992. Specific chemotherapy of Chagas' disease: a comparison between the response in patients and experimental animals inoculated with the same strains. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 86: 624-626. (Ex 20)

26. Andrade ALSS, Zicker F, Luquetti AO, Oliveira RM, Silva SA, Souza JMP, Martelli CMT 1992. Surveillance of *Trypanosoma cruzi* transmission by serological screening of schoolchildren. *Bull World Health Org* 70: 625-629. (Ex 21)
27. Reyes MB, Luquetti AO, Rassi A, Frascch ACC 1993. Long lasting IgM and IgG reactivities against *Trypanosoma cruzi* antigens in human cases of Chagas' disease. *Anales Asoc Quimica Argentina* 81: 101-110. (Ex 22)
28. Silva IG, Luquetti AO, Silva HHG 1993. Importância do Método das Dejeções dos Triatomíneos na Avaliação da Suscetibilidade Triatomínica para *Trypanosoma cruzi*. *Rev Soc Bras Med Trop* 26: 19-24. (Br.06)
29. Oliveira EC, Stefani MMA, Luquetti AO, Vencio EF, Moreira MAR, Souza C, Rezende JM 1993. *Trypanosoma cruzi* and Experimental Chagas Disease: Characterization of a Stock Isolated from a Patient with associated digestive and cardiac form. *Rev Soc Bras Med Trop* 26: 25-33. (Br 07)
30. Luquetti AO 1994. Practical Aspects of Chagas Disease. *Parasitol Today* 10: 287-288. (Ex 23)
31. Luquetti AO 1995. Chagas Disease. A recent meeting on practical aspects. Applied Meeting of Chagas Disease 4 - 6 november 1993, Uberaba, Brazil. *Int J Parasitol* 25: 869-874. (Ex 24)
32. Silva IG, Silva HHG, Luquetti AO, Rezende JM 1995. Positividade do xenodiagnóstico de acordo com a faixa etária o sexo e a forma clínica da doença de Chagas. *Rev Patol Trop* 24: 193-197. (Br 08)
33. Andrade A.L.S.S., Zicker F., Oliveira RM, Silva SA, Luquetti AO, Travassos LR, Almeida IC, Andrade SS, Andrade JG, Martelli CMT 1996. Randomized trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. *Lancet* 348: 1407-1413. (Ex 25) *99 citações.
34. Luquetti AO, Alquezar AS, Moreira EF, Zapata MTG, Guimaraes MC, Gadelha F, Pereira JB, Arruda AHS, Nasser LF 1996. Recomendações e conclusões da II Reunião do Comitê Técnico Assessor para o diagnóstico laboratorial da doença de Chagas, São Paulo, SP, 19-21/03/96. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 38: 328. (Informe técnico 1)
35. Oliveira EC, Stefani MMA, Campos DE, Andrade ALSS, Silva SS, Rassi A, Luquetti AO 1997. *Trypanosoma cruzi* stocks isolated from acute Chagas disease patients lead to lethal murine infection. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 91: 25-27. (Ex 26)

36. Luquetti AO 1997. Etiological treatment for Chagas disease. *Parasitol Today* 13: 127-128. (Ex 27)
37. Brener Z, Saez-Alquezar A, Luquetti AO 1997. Normas de segurança para infecções acidentais com o *Trypanosoma cruzi*, agente causador da doença de Chagas. *Rev Patol Trop* 26: 129-130. (Informe técnico 2).
38. Leguizamón MS, Russomando G, Luquetti AO, Rassi A, Almiron M, Gonzalez-Cappa SM, Frasc ACC, Campetella O 1997. Long-lasting antibodies detected by a trans-Sialidase inhibition assay of sera from parasite-free, serologically cured chagasic patients. *J Infect Dis* 175: 1272-1275. (Ex 28)
39. Oliveira EC, Leite MSB, Luquetti AO, Almeida AC, Moreira H 1997. Chagasic megacolon associated with colon cancer. *Am J Trop Med Hyg* 56: 596-598. (Ex 29)
40. Vaz MGM, Rezende JM, Ximenes CA, Luquetti AO 1996. Correlação entre a sintomatologia e a evolução do megaesôfago. *Rev Goiana Med* 41: 1-15. (Br 9)
41. Mendes RP, Hoshino-Shimizu S, Silva AMM, Mota I, Heredia RAG, Luquetti AO, Leser PG 1997. Serological diagnosis of Chagas' disease: a potential confirmatory assay using preserved protein antigens of *Trypanosoma cruzi*. *J Clin Microbiol* 35: 1829-1834. (Ex 30)
42. Saéz-Alquézar A, Luquetti AO, Borges-Pereira J, Moreira EF, Gadelha MFS, Garcia-Zapatta MT, Arruda AHS 1997. Estudo multicêntrico: Avaliação do desempenho de conjuntos diagnósticos de hemaglutinação indireta, disponíveis no Brasil, para o diagnóstico sorológico da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. *Rev Patol Trop* 26: 343-374. (Br 10)
43. Luquetti AO, Rassi A 1998. Tratamiento específico de la enfermedad de Chagas en la fase crónica: criterios de cura convencionales: xenodiagnóstico, hemocultivo y serología. *Rev Patol Trop* 27 (supl.): 37-50. (Br 11).
44. Pineda JP, Luquetti A, Castro C 1998. Comparação entre o xenodiagnóstico clássico e artificial na fase crônica da doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop* 31: 473-480. (Br 12)
45. Rabello A, Luquetti AO, Moreira EF, Gadelha MF, Santos JA, Melo L, Schwind P 1999. Serodiagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection using the new particle gel immunoassay - ID-PaGIA Chagas". *Mem Inst Oswaldo Cruz* 77: 77-82. (Br 13)
46. Luquetti AO 1999. Evolution of Knowledge on the Etiological Diagnosis of Chagasic Infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94: 283-284. (Br 14).

47. Coura JR, Luquetti AO (relator) et al. 1999. Tratamiento etiológico de la enfermedad de Chagas: conclusiones de reunión de especialistas. Organización Mundial de la Salud y Organización Panamericana de la Salud. *Rev Patol Trop* 28: 247-279. (Reporte técnico, consenso 1)
48. Castro AM, Araújo TCC, Jesuíno RSA, Soares CMA, Luquetti AO 1999. Genetic Polymorphism Among Six *Trypanosoma cruzi* Stocks Isolated from Chronic Chagasic Patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94: 655-658. (Br 15).
49. Luquetti AO 2000. Diagnóstico etiológico da doença de Chagas. *Rev Patol Trop* 29 (supl.): 145-149. (Br 16).
50. Rassi A, Luquetti AO, Rassi GG, Rassi A Jr 2000. Tratamento específico da doença de Chagas: uma visão de 1962 a 1999. *Rev Patol Trop* 29 (supl.): 157-163. (Br 17).
51. Buchovsky AS, Campetella O, Russomando G, Farnco L, Oddone R, Candia N, Luquetti AO, Cappa SMG, Leguizamon MS 2001. Trans-Sialidase Inhibition Assay, a Highly Sensitive and Specific Diagnostic Test for Chagas' Disease. *Clin Diag Lab Imm* 8: 187-189. (Ex 31)
52. Silveira JF, Umezawa ES, Luquetti AO 2001. Chagas disease: recombinant *Trypanosoma cruzi* antigens for serological diagnosis. *Trends Parasitol* 17: 286-291. (Ex 32)*47 citações.
53. Oliveira EC, Leite MS, Miranda JÁ, Andrade AL, Garcia SB, Luquetti AO, Moreira H 2001. Chronic *Trypanosoma cruzi* infection associated with low incidence of dimethylhydrazine-induced colon cancer in rats. *Carcinogenesis* 22: 737-740. (Ex 33)
54. Britto C, Silveira C, Cardoso MA, Marques P, Luquetti AO, Macêdo V, Fernandes O 2001. Parasite Persistence in treated Chagasic Patients Revealed by Xenodiagnosis and Polymerase Chain Reaction. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 823-836. (Br 18).
55. Control of Chagas Disease 2002. WHO Technical Report Series N°. 905. Second Report of the WHO Expert Committee, World Health Organization, Geneva. Publicação resultante de Comitê de Expertos, reunidos em Brasília, DF, Brasil de 20 a 28 de novembro de 2001. Coura JR, Dias JCP, Frasch ACC, Guhl F, Lazzari JO, Lorca M, Monroy C, Ponce C, Silveira AC, Velasquez G e Zingales B. Luquetti AO como "Temporary adviser" e staff da WHO/OPS Finkelman J, Moncayo A, Schmunis GA e Valencia A. (Reporte técnico, consenso 2).

56. Martins-Filho AO, Santos ESM, Carvalho AT, Oliveira CR, Rassi A, Luquetti AO, Rassi GG, Brener Z 2002. Double-blind study to evaluate flow cytometry analysis of anti-live trypomastigote antibodies for monitoring treatment efficacy in cases of human Chagas disease. *Clin Diag Lab Immunol* 9: 1107-1118. (Ex 34)
57. Castro AM, Luquetti AO, Rassi A, Rassi GG, Chiari E, Galvão LMC 2002. Blood culture and polymerase chain reaction for the diagnosis of the chronic phase of human infection with *Trypanosoma cruzi*. *Parasitol Res* 88: 894-900. (Ex 35)*41 citações.
58. Gao W, Luquetti AO, Pereira MA 2003. Immunological tolerance and its breakdown in Chagas' heart disease: role of parasitokines. *Front Bioscience* 8: E218-E227. (on line desde set. 2002) (Ex 36).
59. Umezawa ES, Bastos SF, Coura JR, Levin MJ, Gonzalez A, Rangel-Aldao R, Zingales B, Luquetti AO, Franco DA Silveira J 2003. An improved serodiagnostic test for Chagas' disease employing a mixture of *Trypanosoma cruzi* recombinant antigens. *Transf* 43: 91-97. (Ex 37).*42 citações.
60. Luquetti AO, Ponce C, Ponce E, Esfandiari J, Schijman A, Revollo S, Añez N, Zingales B, Aldao R.R, Gonzalez A, Levin M, Umezawa E, Franco da Silveira J 2003. Chagas disease diagnosis: a multicentric evaluation of Chagas Stat-Pak, a rapid immunochromatographic assay with recombinant proteins of *Trypanosoma cruzi*. *J Diag Microbiol Infect Dis* 46: 265-271. (Ex 38).
61. Cortez M, Neira I, Ferreira D, Luquetti AO, Rassi A, Atayde VD, Yoshida N 2003. Infection by *Trypanosoma cruzi* metacyclic forms deficient in gp82 but expressing a surface molecule, gp30. *Infect Immun* 71: 6184-6191. (Ex 39).
62. Galvão LM, Chiari E, Macedo AM, Luquetti AO, Silva AS, Andrade AL 2003. PCR assay for monitoring *Trypanosoma cruzi* parasitemia in childhood after specific chemotherapy. *J Clin Microbiol* 41: 5066-5070. (Ex 40).
63. Rassi A, Luquetti AO, Ornelas JF, Ervilha JF, Rassi GG, Rassi Junior A, Azeredo BV, Dias JC 2003. The impact of the extensive chemical control of *Triatoma infestans* on the incidence acute cases and the prevalence of human Chagas Disease. The example of Montalvania Minas Gerais State. *Rev Soc Bras Med Trop* 36: 719-727. (Br 19).
64. Umezawa ES, Luquetti AO, Levitus G, Ponce C, Ponce E, Henriquez D, Revollo S, Espinoza B, Sousa O, Khan B, Silveira JF 2004. Serodiagnosis of chronic and acute Chagas' disease with *Trypanosoma cruzi* recombinant

- proteins: results of a collaborative study in six Latin American countries. *J Clin Microbiol* 42: 449-452. (Ex 41).
65. Rassi A, Amato Neto, V, Rassi GG, Amato VS, Rassi Junior A, Luquetti AO, Rassi SG 2004. A retrospective search for maternal transmission of Chagas infection from patients in the chronic phase. *Rev Soc Bras Med Trop* 37: 485-489. (Br 20).
 66. Ponce C, Ponce E, Vinelli E, Montoya R, Aguilar V, González A, Zingales B, Rangel-Aldao R, Levin MJ, Esfandiari J, Umezawa E, Luquetti AO, Silveira JF 2005. Validation of a rapid and reliable test for diagnosis of Chagas disease by detection of *Trypanosoma cruzi*-specific antibodies in blood of donors and patients in Central America. *J Clin Microbiol* 43: 5065-5068. (Ex 42).
 67. Ministério da Saúde. Consenso Brasileiro em Doença de Chagas 2005. *Rev Soc Bras Med Trop* 38 (suppl. III). 29 p. (Reporte técnico, Consenso 3)
 68. Luquetti AO, Ferreira AW, Oliveira RA, Tavares SBN, Rassi A, Dias JCP, Prata A 2005. Transmisión congénita del *Trypanosoma cruzi* en Brasil: estimativa de prevalencia baseada en resultados preliminares de la encuesta nacional serológica en niños menores de cinco años, así como otras fuentes. *Rev Soc Bras Med Trop* 38 (Suppl II): 24-26. (Br 21).
 69. Luquetti AO, Dias JCP, Prata A 2005. Diagnóstico y tratamiento de la infección congénita por *Trypanosoma cruzi* en Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 38 (Suppl II): 27-28. (Br 22).
 70. Gabriel AG, Gabriel-Neto S, Oliveira EC, Luquetti AO, Cleve R, Zilberstein B 2005. Gastric and transverse colonic volvulus in patient with chagasic megagastria and megacolon. Case Report. *Arq Bras Cir Dig* 18: 71-73. (Br 23).
 71. Baruch WA, Contreras JAA, Fernandez DHB, Carlier Y, Coura JR, Chuit R, Dias JCP, Freilij H, Gascón J, Prat JG, Luquetti AO, et al. 2005. Consulta técnica regional OPS/MSF sobre organización e estrutura da atenção médica do doente e infectado por *Trypanosoma cruzi*/doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop* 38: 538-541. (Br 24).
 72. Castro AM, Luquetti AO, Rassi A, Chiari E, Galvão LMC 2006. Detection of parasitemia profiles by blood culture after treatment of human chronic *Trypanosoma cruzi* infection. *Parasitol Res* 99: 379-383. (Ex 43).
 73. Cortez M, Silva MR, Neira I, Ferreira D, Sasso GR, Luquetti AO, Rassi A, Yoshida N 2006. *Trypanosoma cruzi* surface molecule gp90 downregulates

- invasion of gastric mucosal epithelium in orally infected mice. *Microb Infect* 8: 36-44. (Ex 44).
74. Gabriel AG, Gabriel-Neto S, Rocha PE, Oliveira EC, Luquetti AO, Zilberstein B, Habr-Gama A, Teixeira MG 2006. Avaliação da morbimortalidade do tratamento cirúrgico do volvo colônico de sigmóide na urgência. *Arq Bras Cir Dig* 19: 63-66. (Br 25).
75. Gabriel-Neto S, Habr-Gama A, Gabriel AG, Rocha PE, Neder J, Oliveira EC, Luquetti AO, Zilberstein B 2006. Estudo do tempo de trânsito colônico em pacientes com megacólon chagásico com constipação. *Arq Bras Cir Dig* 19: 67-71. (Br 26).
76. Silva CV, Luquetti AO, Rassi A, Mortara RA 2006. Involvement of SSP-4-related carbohydrate epitopes in mammalian cell invasion by *Trypanosoma cruzi* amastigotes. *Microb Infect* 8: 2120-2129. (Ex 45).
77. Rassi A, Luquetti AO, Rassi Jr A, Rassi GG, Rassi SG, Silva IG, Rassi AG 2007. Short Report: 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. (Ex 46).
78. Vitelli-Avelar DM, Sathler-Avelar R, Wendling APB, Rocha RDR, Teixeira-Carvalho A, Martins NV, Dias JCP, Rassi A, Luquetti AO, Eloi-Santos SM, Martins-Filho AO 2007. Non-conventional flow cytometry approaches to detect anti-*Trypanosoma cruzi* immunoglobulin G in the clinical laboratory. *J Immun Methods* 318: 102-112. (Ex 47).
79. Silveira ABM, Reis DD, Oliveira EC, Neto SG, Luquetti AO, Poole D, Correa-Oliveira R, Furness JB 2007. Neurochemical coding of the enteric nervous system in chagasic patients with megacolon. *Digest Dis Sci* 52: 2877-2883. (Ex 48).
80. Dantas-Maia TO, Castro C, Luquetti AO, Macedo V 2007. Soroprevalência de tripanossomíase americana em adultos de uma área da Amazônia ocidental Brasileira. *Rev Soc Bras Med Trop* 40: 436-442. (Br 27).
81. Lu B, Petrola Z, Luquetti AO, PereiraPerrin M 2008. Auto-antibodies to receptor tyrosine kinases TrkB and TrkC in patients with chronic Chagas' disease. *Scand J Immunol* 67: 603-609. (Ex 49).
82. Silveira AB, Correa-Oliveira R, Matsuyama H, Oliveira EC, Neto SG, Luquetti AO, Furness JB, Reis DD 2008. Decreased expression of IK channels in neurons

- from enteric nervous system is associated with the development of chagasic megacolon. *Human Pathol* 39: 1406-1407. (Ex 50).
83. Bern C, Coura JR, Goldenberg S, Guhl F, Junqueira ACV, Lorca M, Luquetti AO, Ribeiro I, Saez-Alquezar A, Torrico F, Umezawa ES, Ward B, Albajar-Vinas P, Chaves G, Flevaud L, Goiri J, Guillerm M, Karunakara UK, Lotrowska M, Rocha S, Usdin M 2008. International meeting: new diagnostic tests are urgently needed to treat patients with Chagas disease. *Rev Soc Bras Med Trop* 41: 315-319. (Br 28).
84. Silveira ABM, Freitas MAR, Oliveira EC, Neto SG, Luquetti AO, Furness JB, Correa-Oliveira R, Reis DD 2008. Neuronal plasticity of the enteric nervous system is correlated with chagasic megacolon development. *Parasitol* 135: 1337-1342. (Ex 51).
85. Lu B, Alroy J, Luquetti AO, PereiraPerrin M 2008. Human autoantibodies specific for Neurotrophin Receptors TrkA, TrkB and TrkC Protect against Lethal *Trypanosoma cruzi* Infection in Mice. *Amer J Pathol* 173: 1406-1414. (Ex 52).
86. Silveira ABM, Freitas MAR, Oliveira EC, Neto SG, Luquetti AO, Furness JB, Correa-Oliveira R, Reis DD 2008. Substance P and NK1 receptor expression in the enteric nervous system is related to the development of chagasic megacolon. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 102: 1154-1156. (Ex 53).
87. Silveira ABM, Araujo FF, Freitas MAR, Gomes JAS, Chaves AT, Oliveira EC, Neto SG, Luquetti AO, Souza GD, Bernardino R, Fujiwara R, Reis DD, Correa-Oliveira R 2009. Characterization of the presence and distribution of Foxp3 (+) cells in chagasic patients with and without megacolon. *Hum Immunol* 70: 65-67. (Ex 54).
88. Silveira ABM, Freitas MAR, Oliveira EC, Neto SG, Luquetti AO, Furness JB, Correa-Oliveira R, Reis DD 2009. Glial fibrillary acidic protein and S-100 colocalization in the enteroglial cells in dilated and nondilated portions of colon from chagasic patients. *Hum Pathol* 40: 244-251. (Ex 55).
89. Silveira ABM, Chaves AT, Araújo FF, Gomes JAS, Correa-Oliveira R, Fujiwara RT, Freitas MAR, Oliveira EC, Neto SG, Luquetti AO, Reis DDA 2009. Expression of caspase-3 in enteric cells is related to development of chagasic megacolon. *Human Pathol* 40: 605-606. (Ex. 56)
90. Gomes YM, Lorena VMB, Luquetti AO 2009. Diagnosis of Chagas disease: what has been achieved? What remains to be done with regard to diagnosis and follow up studies? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104 (Suppl I): 115-121. (Br 29).

91. Luquetti AO, Espinoza B, Martínez I, Becerril-Hernández N, Ponce C, Ponce E, Reyes PA, Hernández O, López R, Monteón V 2009. Performance levels of four Latin American laboratories for the serodiagnosis of Chagas disease in Mexican sera samples. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104: 797-800. (Br 30).
92. Jackson Y, Gétaz L, Wolff H, Holst M, Mauris A, Tardin A, Sztajzel J, Besse V, Loutan L, Gaspoz JM, Jannin J, Vinas PA, Luquetti AO, Chappuis F 2010. Prevalence, Clinical Staging and Risk for Blood-Borne Transmission of Chagas Disease among Latin American Migrants in Geneva, Switzerland. *PLoS Negl Trop Dis* 4: 1-7. (Ex 57)
93. Hernandez P, Heimann M, Riera C, Solano M, Santalla J, Luquetti AO, Beck E 2010. Highly Effective Serodiagnosis for Chagas Disease. *Clin Vaccine Immunol* 17: 1598-1604. (Ex 58)
94. Lu B, Luquetti AO, Rassi A, PereiraPerrin M 2010. Autoantibodies to Neurotrophic Receptors TrkA, TrkB and TrkC in Patients with Acute Chagas' Disease. *Scand J Immunol* 71: 220-225. (Ex 59).
95. Chappuis F, Mauris A, Holst M, Albajar-Viñas P, Jannin J, Luquetti AO, Jackson Y 2010. Validation of a rapid immunochromatographic assay for diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection among latin-american migrants in Geneva, Switzerland. *J Clin Microbiol* 48: 2948-2952. (Ex. 60).
96. Schijman AG, Bisio M, Orellana L, Sued M, Duffy T, Jaramillo AMM, Cura C, Auter F, Veron V, Qvarnstrom Y, Deborggraeve S, Hajar G, Zulantay I, Lucero RH, Velazquez E, Tellez T, Leon ZS, Galvão L, Nolder D, Rumi MM, Levi JE, Ramirez JD, Zorrilla P, Flores M, Jercic MI, Crisante G, Añez N, Castro AM, Gonzalez CI, Viana KA, Yachelini P, Torrico F, Robello C, Diosque P, Chavez OT, Aznar C, Russomando G, Buscher P, Assal A, Guhl F, Sosa-Estani S, Da Silva A, Britto C, Luquetti A, Ladzins J 2011. International Study to Evaluate PCR Methods for Detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in Blood Samples from Chagas Disease Patients. *PLoS Negl Trop Dis* 5: 1-13. (Ex 61)
97. Frade AF, Luquetti AO, Prata A, Ferreira AW 2011. Western blotting method (TESAcruzi) as a supplemental test for confirming the presence of anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies in finger prick blood samples from children aged 0-5 years in Brazil. *Acta Tropica* 117: 10-13. (Ex 62)

98. Siriano LR, Luquetti AO, Avelar JB, Marra NL, Castro AM 2011. Chagas Disease: Increased Parasitemia during Pregnancy Detected by Hemoculture. *Am J Trop Med Hyg* 84: 569-574. (Ex 63)
99. Silveira ABM, Oliveira EC, Neto SG, Luquetti AO, Fujiwara RT, Oliveira RC, Brehmer A 2011. Enteroglial cells act as antigen-presenting cells in chagasic megacolon. *Human Pathol* 42: 522-532. (Ex. 64).
100. Luquetti AO, Passos ADC, Silveira AC, Ferreira AW, Macedo V, Prata AR 2011. O inquérito nacional de soroprevalência de avaliação do controle da doença de Chagas no Brasil (2001-2008). *Rev Soc Bras Med Trop* 44 (Supl.2): 1-19. (Br 31).

5.2. Referências de capítulos de livro publicados pelo autor

Observação: dadas as características desta tese, consideramos que a ordem cronológica dos capítulos facilitaria a sua procura. Para diferenciar das citações de publicações em periódicos, a numeração foi precedida da letra C (de Capítulo). Novas edições foram contabilizadas com o mesmo numero de capítulo (i.e. Cap. 01b).

- C 01. Jobim LFJ, Luquetti AO, Baiocchi JRG, Aires WG 1990. Sistema Imunológico. Parte 11. In: *Semiologia Médica*. Porto CC. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. p. 824-847. (Cap.01)
- C 02. Rassi A, Luquetti AO, Rassi Junior A, Rassi SG, Rassi AG 1992. Chagas´disease: clinical features. In: *Chagas´disease (American Trypanosomiasis): Its impact on transfusion and clinical medicine*. Editores: Wendel S, Brener Z, Camargo ME, Rassi A. Editora ISBT, São Paulo. p 237-247. (Cap.02)
- C-03. Rassi A, Luquetti AO 1992. Therapy of Chagas´disease. In: *Chagas´disease (American Trypanosomiasis): Its impact on transfusion and clinical medicine*. Editores: Wendel,S., Brener Z., Camargo,ME., Rassi,a. Editora ISBT, São Paulo. p. 237-247. (Cap.03)
- C-04. Luquetti AO 1993. Técnicas Modernas Para O Diagnóstico Da Doença De Chagas. In: *III e IV Conclaves Brasileiros De Academias De Medicina*. Editores: dos Reis FA, Neves J. Editora: Imprensa Oficial de Minas Gerais, Belo Horizonte. p.85-93. (Cap. 04)
- C-05. Rezende JM, Luquetti AO 1994. Megaformaciones Digestivas. Capítulo 20. In: *Enfermedad de Chagas*. Editores: Storino R, Milei J. Ed.Mosby-Doyma Argentina SA, Buenos Aires. p.331-342. (Cap.05)
- C-06. Luquetti AO, Baiocchi GJ, Jobim LFJ, Aires WF 1994. Sistema Imunologico. Parte 11. In: *Semiologia Medica*, segunda edição, Ed. Porto CC, Ed.Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro. p. 965-1001. (Cap.01b)
- C-07. Rezende JM de, Luquetti AO 1994. Chagasic Megavisceras. Chapter 7.In: *Chagas´ disease and the nervous system*. Scientific Publication No.547, Ed.Pan American Health Organization, Washington DC. p. 149-171. (Cap.06)
- C-08. Fragata Fo.AA, Luquetti AO, Prata A, Rassi A, Gontijo ED, Ferreira HO, Cançado JR, Coura JR, Andrade SG, Macêdo V, Amato Neto V, Oliveira Jr.W, Brener Z 1996. *Tratamento etiológico da doença de Chagas*. Ed.Fundação Nacional de Saúde, Brasília. Manual, 16 p. (Manual 1)

- C-09. Ferreira MS, Lopes ER, Chapadeiro E, Dias JCP, Luquetti AO 1996. Doença de Chagas. Parte IX, capítulo 93. In: *Tratado de Infectologia*. Ed. Veronesi R, Focaccia R. Editora Atheneu, São Paulo. p. 1175-1213. (Cap.07)
- C-10. Fragata Fo.AA, Luquetti AO, Prata A, Andrade ALSS, Rassi A, Gontijo ED, Umezawa E, Ferreira HO, Silveira JF, Cançado JR, Coura JR, Fernandes O, Andrade SG, Macêdo V, Amato Neto V, Oliveira Jr.W, Brener Z 1997. *Tratamento etiológico da doença de Chagas*. Ed.Fundação Nacional de Saúde, Brasília, 1997, 2a.edição. Manual, 32 p. (Manual 1b)
- C-11. Luquetti AO, Castro AM 1997. Capítulo 6. Diagnóstico sorológico da doença de Chagas. In: *Clínica e Terapêutica da doença de Chagas. Uma abordagem prática para o clínico geral*. Ed. JCP Dias, JRCoura. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro. p. 99-113. (Cap.08)
- C-12. Luquetti AO, Porto CC 1997. Capítulo 20. Aspectos Médico-trabalhistas da doença de Chagas. In: *Clínica e Terapêutica da doença de Chagas. Uma abordagem prática para o clínico geral*. Ed. JCP Dias, JRCoura. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro. p. 353-363. (Cap.09)
- C-13. Luquetti AO, Baiocchi GJ, Jobim LFJ, Aires WF 1997. Sistema Imunológico. Parte 11. In: *Semiologia Médica*, terceira edição, Ed. Porto CC, Ed.Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro. p. 815-843. (Cap.01 c)
- C-14. Porto CC, Luquetti AO, Gonzalez RF, Branco R, Menezes-Junior AS 1998. Aspectos médico-trabalhistas das doenças cardiovasculares. Capítulo 7. In: *Doenças do Coração*. Ed. CCPorto. Guanabara Koogan. p.54-59. (Cap. 10)
- C-15. Porto CC, Luquetti AO, Rassi A 1998. Doença de Chagas e coração. Capítulo 158. *Doenças do Coração*. Ed. CC Porto, Guanabara Koogan. p. 783-788. (Cap.11)
- C-16. Luquetti AO, Moreira EF, Gadelha MFS, Gomes YM, Ribinik MLR, Marteleto MA 1998. *Doença de Chagas - Triagem e diagnóstico sorológico em unidades hemoterápicas e laboratórios de saúde pública*. Curso 11. Brasília: Ministério da Saúde, Coordenação Nacional de doenças sexualmente transmissíveis e AIDS. 76 p. Série Telelab. Manual e Vídeo. (Manual 2)
- C-17. Ferreira AGP, Miranda ICS, Ferreira JAPS, Ferreira LAP, Bazzo ML, Franchini M, Adati MC, Ferreira OC, Gomes VMB, Marteleto MA, Luquetti A, Gaspar AMC, Sykora REG 1998. *Controle de qualidade interno de testes sorológicos*. Curso 14. Brasília: Ministério da Saúde, Coordenação Nacional de doenças sexualmente transmissíveis e AIDS. Série Telelab. Manual e Vídeo. 88 p. (Manual 3)

- C-18. Luquetti AO, Rassi A 2000. Diagnóstico Laboratorial da Infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. In: Brener Z, Andrade AZ, Barral-Neto M (eds). *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2º edição. p.344-378. (Cap.12)
- C-19. Luquetti AO, Baiocchi GJ, Failace LH, Jobim LFJ 2001. Parte 12. Capítulos 146, 147, 148 e 149. Sistema Imunológico. In: Porto CC. *Semiologia Clínica*. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro 4º edição. p.1025-1058. (Cap.01d)
- C-20. Carlier Y, Dias JCP, Luquetti, AO, Hontebeyrie M, Torrico F, Truyens C 2002. Trypanosomiase américaine ou maladie de Chagas. In: *Encyclopédie Médico-chirurgicale*. Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, *Maladies Infectieuses* 8-505-A-20. 21p. (Cap.13)
- C-21. Rassi A, Luquetti AO 2003. Specific treatment for *Trypanosoma cruzi* infection (Chagas disease). In: *American Trypanosomiasis*. Ed. Tyler KM. and Miles MA. World Class Parasites. Kluwer Academic Publishers, Boston. p. 117-125. (Cap.14)
- C-22. Luquetti AO 2004. Diagnosis of American Trypanosomiasis. Chapter 12. In: *The Trypanosomiasis*. Ed. Maudlin I, Homes PH, Miles MA. Oxfordshire: CABI publishing. p. 233-241. (Cap.15)
- C-23. Rassi A, Luquetti AO 2004. Current chemotherapy of American Trypanosomiasis. Chapter 22. In: *The Trypanosomiasis*. Ed. Maudlin I, Homes PH, Miles MA. Oxfordshire: CABI publishing. p.421-429. (Cap.16).
- C-24. Luquetti AO, Aguilar MV, Abad-Franch F 2004. Enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis Americana), Cap.9. In: Fernández Ronquillo T (ed) *Medicina Tropical*, 3ª. Edición. Guayaquil, Ecuador, Imprenta Mariscal. p. 99-124. (Cap. 17)
- C-25. Rassi A, Luquetti AO 2005. Capítulo 49: Critérios de Cura da Infecção pelo *Trypanosoma cruzi* na Espécie Humana. Ed. JRCoura. *Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. p. 677-683. (Cap.18)
- C-26. Luquetti AO, Baiocchi GJ, Failace LH, Jobim LFJ 2005. Parte 12. Capítulos 146, 147, 148 e 149. Sistema Imunológico. Em: Porto CC. *Semiologia Clínica*. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro 5º edição. p. 955-984. (Cap.01e)
- C-27. Ferreira MS, Lopes ER, Silva AM, Rocha A, Dias JCP, Luquetti Ostermayer AO 2005. Doença de Chagas. Capítulo 93. In: *Tratado de Infectologia*. 3ª. Ed. Atheneu, São Paulo. p. 1485-1529. (Cap.06b)
- C-28. Luquetti AO 2007. Diagnóstico de la enfermedad de Chagas.- Diagnóstico serológico

- gico, xenodiagnóstico, hemocultivo, reacción en cadena de la polimerasa y examen directo. In: F. Rosas, D.Vanegas, M. Cabrales (eds). *Enfermedad de Chagas*. Bogotá, Colombia, Sociedad Colombiana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular, Panamericana Formas e impresos S.A. p. 25-31. (Cap.19).
- C-29. Rosas F, Guhl F, Luquetti AO 2007. Tratamiento etiológico de la enfermedad de Chagas. In: F. Rosas, D.Vanegas, M. Cabrales (eds) *Enfermedad de Chagas*. Bogotá, Colombia, Sociedad Colombiana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular, Panamericana Formas e impresos S.A. p. 139-143. (Cap.20).
- C-30. Luquetti AO, Rassi A 2007. Tratamiento etiológico de la enfermedad de Chagas - Experiencia en Brasil. In: F. Rosas, D.Vanegas, M. Cabrales (eds). *Enfermedad de Chagas*. Bogotá, Colombia, Sociedad Colombiana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular, Panamericana Formas e impresos S.A. p. 145-148. (Cap. 21).
- C-31. Luquetti AO 2007. El control de la transmisión transfusional. In: *La enfermedad de Chagas. A la puerta de los 100 años del conocimiento de una endemia americana ancestral*. Mundo Sano, Publicación Monográfica 7, OPS/CD/426-06. p.157-166. (Cap.22).
- C-32. Ramos NA, Luquetti AO, Reis AG Jr, Tatto E, Padilha EM, Dias JCP, de Melo LBBB, dos Santos SO 2007. *Doença de Chagas aguda. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e tratamento. Guia de consulta rápida para profissionais de saúde*. Ministério da Saúde. Manual. *Rev Patol Trop* 36: 1-32. (Manual 4).
- C-33. Luquetti AO, Baiocchi GJ, Failace LH, Jobim LFJ 2009. Sistema Imunológico – Parte 12. In: Porto CC. *Semiologia Medica*, sexta edição, Ed.Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro. p. 963-990. (Cap.01 f)
- C-34. Rassi A, Rezende JM, Luquetti AO, Rassi Jr A 2010. Clinical Phases and Forms of Chagas Disease. Chapter 27. In: Telleria J, Tibayrenc M. *American Trypanosomiasis Chagas Disease One Hundred Years of Research*. Elsevier, Amsterdam (*E-book*). p. 709-742. (Cap.23)
- C-35. Luquetti AO, Schmuñis GA 2010. Diagnosis of *Trypanosoma cruzi* Infection. Chapter 28 In: Telleria J, Tibayrenc M. *American Trypanosomiasis Chagas Disease One Hundred Years of Research*. Elsevier, Amsterdam (*E-book*). p. 743-792. (Cap.24).
- C-36. Luquetti AO 2010. Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Chagas.

Capítulo IV. In: *Programa Regional para el control de la enfermedad de Chagas em América Latina*. Iniciativa de Bienes Públicos Regionales, Banco Interamericano de Desarrollo (BID), Montevideo, 2010. p.213-242. (Cap.25).

C-37. Luquetti AO, Razzitte GL, Nascimento Tavares SB 2010. Capítulo 9. El diagnóstico de laboratorio em la enfermedad de Chagas. In: Storino RA. *Chagas en el siglo XXI. De la enfermedad a la problemática social*. 1ª. Ed., Buenos Aires, Libreria Akadia Editorial, 2010. p. 95-102. (Cap.26).