



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS (UFG)
FACULDADE DE MEDICINA (FM)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

MARILLIA LIMA COSTA

**Transmissão Sexual do *Trypanosoma cruzi* em Humanos: Uma
Revisão de Escopo Associada a um Estudo Observacional**

**Goiânia
2024**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE MEDICINA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), 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.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

Marillia Lima Costa

3. Título do trabalho

Transmissão Sexual do Trypanosoma cruzi em humanos: Uma revisão de Escopo associada a um estudo observacional

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

- consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);
- novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Marco Tulio Antonio Garcia Zapata**, Usuário Externo, em 03/09/2024, às 14:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marillia Lima Costa**, Usuário Externo, em 17/09/2024, às 08:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4795899** e o código CRC **30A6AEC7**.

MARILLIA LIMA COSTA

**Transmissão Sexual do *Trypanosoma cruzi* em Humanos:
Uma Revisão de Escopo Associada a um Estudo
Observacional**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Goiás (UFG) para obtenção do Título de Doutora em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: Dinâmica do Processo Saúde-Doença

Linha de Pesquisa: Aspectos Epidemiológicos das Doenças Humanas

Orientador: Prof. Dr. Marco Tulio Antônio Garcia Zapata

Co-orientadora: Profa. Dra. Elisângela de Paula Silveira Lacerda

Goiânia

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Costa, Maríllia Lima

Transmissão Sexual do *Trypanosoma cruzi* em Humanos: Uma Revisão de Escopo Associada a um Estudo Observacional [manuscrito] / Maríllia Lima Costa. - 2024.
xx, 150 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Marco Tulio Antonio Garcia-Zapata; co orientador Elisângela de Paula Silveira Lacerda.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Medicina (FM), Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Goiânia, 2024.

Bibliografia. Anexos. Apêndice.

Inclui siglas, mapas, fotografias, abreviaturas, símbolos, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. *Trypanosoma cruzi*. 2. Análise Seminal. 3. Doença de Chagas. 4. Infecções Sexualmente Transmissíveis. I. Garcia-Zapata, Marco Tulio Antonio, orient. II. Título.

CDU 576.8



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

FACULDADE DE MEDICINA

ATA DE DEFESA DE TESE

Ata nº 23/2024 da sessão de Defesa de Tese de **MARILLIA LIMA COSTA** que confere o título de Doutora em **Ciências da Saúde**, na área de concentração em Dinâmica do Processo Saúde-Doença.

Aos vinte e seis dias do mês de agosto de dois mil e vinte e quatro, a partir das 13:00 horas, em formato híbrido, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada "**Transmissão Sexual do *Trypanosoma cruzi* em Humanos: Uma Revisão de Literatura Associada a um Estudo Observacional**". Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, Prof. Dr. **Marco Tulio Antonio Garcia Zapata** (Orientador - PPGCS/IPTSP/UFG) com a participação dos demais membros da Banca Examinadora Professores Doutores **Antônio Raimundo Lima Cruz Teixeira** (UnB), **Hugo Delleon da Silva** (USP), **Carlos Eduardo Anunciação** (ICB/UFG) e **Cleber Gomes Cardoso** (PPGCS/ICB/UFG). Durante a arguição os membros da banca **fizeram** sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão privada a fim de concluir o julgamento da Tese tendo sido a candidata **APROVADA** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Professor Doutor **Marco Tulio Antonio Garcia Zapata**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Transmissão Sexual do *Trypanosoma cruzi* em humanos: Uma revisão de Escopo associada a um estudo observacional



Documento assinado eletronicamente por **Marco Tulio Antonio Garcia Zapata**, **Usuário Externo**, em 03/09/2024, às 14:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Hugo Delleon da Silva**, **Usuário Externo**, em 03/09/2024, às 14:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Carlos Eduardo Anunciacao**, **Professor do Magistério Superior**, em 04/09/2024, às 12:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **ANTONIO RAIMUNDO LIMA CRUZ TEIXEIRA**, **Usuário Externo**, em 06/09/2024, às 09:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cleber Gomes Cardoso**, **Professor do Magistério Superior**, em 09/09/2024, às 08:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 4795845 e o código CRC 7E4DA962.

Referência: Processo nº 23070.039129/2024-65

SEI nº 4795845

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
da Universidade Federal de Goiás**

BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

Aluno(a): Marillia Lima Costa

Orientador(a): Prof. Dr. Marco Tulio Antonio Garcia-Zapata

Co-Orientador(a): Profa. Dra. Elisângela de Paula Silveira Lacerda

Membros:

1. Prof. Dr. Marco Tulio Antonio Garcia Zapata

2. Prof. Dr. Antonio Raimundo Lima Cruz Teixeira

3. Prof. Dr. Clever Gomes Cardoso

4. Prof Dr. Hugo Delleon da Silva

5. Profa. Dr. Carlos Eduardo Anuniação

OU

6. Prof. Dra. Denise Sisterolli Diniz

7. Prof Dr. Ricardo de Mattos Santa Rita

Data: 26/08/2024

Dedico este trabalho ao meu adorado esposo Kelvin, pelo suporte que tem me dado ao longo de todos esses anos que estamos juntos, especialmente durante o período de desenvolvimento deste trabalho.

Dedico também à nossa amada e querida filha Helena, que me deu razões para continuar...

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, não somente pela oportunidade de trilhar este caminho, mas também por ter me dado força e suporte ao longo de todos esses anos.

Especialmente ao meu marido Kelvin. Obrigada, Kelvin, por todo o suporte, força, por todo esforço que fez para que eu concluísse esse capítulo de minha vida. Obrigada especialmente por todas as vezes que você assumiu a responsabilidade do cuidado de nossa filha para que eu pudesse me dedicar integralmente ao desenvolvimento desta pesquisa.

A minha filha Helena que, por mais que não tivesse conhecimento suficiente para reconhecer, se privou de minha companhia em muitos momentos de sua breve existência.

Aos meus pais e sogros, cujo apoio e auxílio também foram fundamentais nesse período.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marco Túlio, por ter aceitado o convite de me orientar. Obrigada professor, por me conduzir, com destreza, pelo caminho da excelência científica e pelo burilamento, pessoal e profissional.

Ao Prof. Clever pela disponibilidade e pela orientação nessa área de conhecimento muito pouco desconhecida. Obrigada pela sua paciência. Agradeço imensamente a Profa. Elisângela, pela confiança em abrir as portas de seu laboratório para que esta pesquisa pudesse ser realizada, assim como agradeço pela sua disponibilidade nesse trabalho e auxílio na conclusão do mesmo.

Ao Prof. Antônio Teixeira. Agradeço primeiramente, por ter dedicado tantos anos de sua vida a conhecer e esclarecer tantos fatores importantes da Doença de Chagas. Conhecimento este essencial para o manejo da doença. Obrigada por ter dado os passos tão importantes na elucidação dos mecanismos dessa forma de infecção da doença. Agradeço também por sua disponibilidade, assistência e auxílio em momentos oportunos.

Sou grata também à Perla, pela sua disponibilidade, disposição e pela doçura que sempre teve comigo. Um grande exemplo de fé e resiliência e que, juntamente com a Adriana tornaram esse projeto possível.

Ao Prof. Dr. Marcílio que sempre se disponibilizou com gentileza e prontidão na elucidação de minhas dúvidas.

Não poderia deixar de agradecer a uma pessoa sem a qual esse trabalho não seria concluído: meu grande parceiro, que se tornou um irmão: Edu! Edu, meu caro, nenhuma palavra conseguiria descrever minha gratidão. Obrigada por todos os ensinamentos, pela paciência, mas acima de tudo, pela parceria. Obrigada por ter assumido o leme durante tantos momentos. Não pare de remar!

As minhas amigas Juliana, Daisy, Sarah, Flávia, Natane e Adriana. Grandes presentes que o doutorado me concedeu. A minha amiga Denise, pela força em importantes momentos dessa jornada, e pelas orações, que fortaleceram meus passos e à Julia por ter me dado tanta força em diversos momentos.

E a tantos outros que, diretamente e indiretamente, torceram para meu sucesso!

***“Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e,
ao mesmo tempo, participar da responsabilidade coletiva por
toda a humanidade”***

Marie Curie

AGRADECIMENTOS.....	vi
SUMÁRIO.....	ix
TABELAS, FIGURAS E ANEXOS.....	xi
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURA.....	xiv
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvii
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Cinetoplastídeos e <i>Trypanosoma cruzi</i>	2
1.2 Epidemiologia da Doença de Chagas.....	4
1.3 Diagnóstico Laboratorial	6
1.4 Transmissão Sexual do <i>T. cruzi</i> : conceitos e antecedentes históricos.....	7
2. OBJETIVOS.....	12
2.1 Objetivo Geral.....	12
2.2 Objetivos Específicos.....	12
3 METODOLOGIA	13
3.1 Revisão de Escopo.....	14
3.1.1 Conceitos e diretrizes	14
3.1.1.1 Fase 0 – Elaboração da Pergunta Norteadora	14
3.1.1.2 Fase 1: Formação da Equipe de Pesquisadores	15
3.1.1.3 Fase 2: Definição dos Descritores, Idioma, Banco de Dados, Período de Publicação e Critérios de Elegibilidade	15
3.1.1.4 Fase 3: Estratégia de Pesquisa.....	17
3.1.1.4 Extração e Análise de Dados.....	18
3.1.2 <i>Protocolo e Registro da Revisão Sistemática da Literatura</i>	19
3.2 Estudo Observacional Transversal	20
3.2.1 Tipo e Local do Estudo	20
3.2.2 <i>Seleção dos Pacientes</i>	22
3.2.2.1 Critérios de Inclusão dos Pacientes no Estudo	22
3.2.2.2 Critérios de Exclusão dos Pacientes do Estudo	23
3.2.2.3 Critérios de Inclusão dos Participantes para Avaliação da Transmissão Sexual	23
3.2.3 <i>Coleta dos dados</i>	23
3.2.3.1 Dados qualitativos	23
3.2.3.2 Coleta de Amostras Biológicas.....	24
3.2.4 <i>Análise das Amostras Biológicas</i>	24
3.2.4.1 Análise Sorológica	24
3.2.4.2 Extração de DNA das amostras sanguíneas	27
3.2.4.3 Reação em Cadeia da Polimerase das Amostras Sanguíneas	28
3.2.4.4 Seleção das Amostras de Sêmen para Análise	29
3.2.4.5 Extração de DNA das Amostras de Sêmen	29
3.2.4.6 Reação em Cadeia da Polimerase das Amostras de Sêmen	30

3.2.4.7 Eletroforese em Gel de Agarose	30
3.2.4.8 Sequenciamento da Amostra de Sêmen	30
3.2.5 <i>Identificação da Transmissão Sexual</i>	31
3.2.6 <i>Análise Estatística</i>	31
3.2.7 <i>Aspectos Éticos da Pesquisa</i>	32
4 PRODUTOS.....	33
4.1 Transmissão Sexual de Protozoários Antropozoonóticos Sanguíneos : Uma Revisão de Escopo.....	34
4.2 Relato de Transmissão Sexual do <i>Trypanosoma cruzi</i> em Famílias do Recôncavo Baiano, Brasil.....	52
.....	126
6 CONCLUSÕES.....	72
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	73
REFERÊNCIAS.....	75
ANEXOS	84
Anexo 1 – Registro do Protocolo de Revisão Sistemática da Literatura no Registro Internacional Prospectivo de Revisões Sistemáticas	84
Anexo 2 - Formulário de Pesquisa.....	96
Anexo 4 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	104
Anexo 5 – Normas para Publicação – Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.....	106
Anexo 6 – Comprovante de Submissão do Artigo 1 à Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.....	107
Anexo 7 – Normas para Publicação : Memórias do Instituto Oswaldo Cruz	108
Anexo 8 – Extrato de Submissão do Artigo 2 à Revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.....	109
APÊNDICES.....	110
Apêndice 1 - Equipe do Projeto de Pesquisa.....	110
Apêndice 2 – Tabelas de Extração de Dados dos Artigos Selecionados para a Revisão	113
Tabela 01 : Estudos encontrados na literatura que sugerem a transmissão sexual de Tripanosomatídeos publicados entre os anos de 1992 a 2019.....	113
Apêndice 3 - Check-list PRISMA-ScR (Adaptado de TRICCO et al, 2018).....	118
Apêndice 4 – Heredogramas com resultados dos testes sorológicos e moleculares dos participantes do estudo distribuídos em famílias	119

TABELAS, FIGURAS E ANEXOS

Figura 1	Fotomicrografia eletrônica do <i>Trypanosoma cruzi</i>	2
Figura 2	Fluxograma da investigação da transmissão sexual do <i>Trypanosoma cruzi</i>	7
Figura 2	Fluxograma das etapas metodológicas deste projeto de pesquisa.....	11
Figura 3	Fluxograma das etapas realizadas nesta Revisão Sistemática de Literatura	12
Tabela 1	Anagrama PICOT de Elaboração da Pergunta Norteadora desta Revisão Sistemática	13
Figura 4	Fluxograma das etapas realizadas na Revisão de Escopo	14
Tabela 2	Descritores utilizados na busca de trabalhos	13
Figura 5	Mapa político demonstrativo do território urbano e rural do Município de São Felipe, inserido no Recôncavo Baiano, estado da Bahia, Brasil, com destaque para as fazendas onde parte da população avaliada reside ...	19
Anexo 1	Registro do Protocolo de Revisão Sistemática de Literatura no Registro Internacional Proctectivo de Revisões Sistemáticas	94
Anexo 2	Formulário de Pesquisa.....	106
Anexo 3	Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa.....	113
Anexo 4	Termo de Consentimento Livre Esclarecido.....	114
Anexo 5	Normas de Publicação – Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.....	116

Anexo 6	Comprovante de Submissão do Artigo 1 à Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.....	117
Anexo 7	Normas de Publicação – Memórias do Instituto Oswaldo Cruz ...	118
Anexo 8	Extrato de Submissão do Artigo 2 à Revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.....	119

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURA

DC	Doença de Chagas
ELISA	<i>Enzyme Linqued Immunsorbent Assay</i>
HAI	Hemagglutination Inhibition Assay
IFAT	<i>Immunofluorescence Antibody Test</i>
IFI	Imunofluorescência Indireta
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
kDNA	Kinetoplastid Desoxyribonucleic Acid
LAMP	<i>Loop-Mediated Isothermal Amplification</i>
nDNA	Ácido Desoxirribonucleico nuclear do <i>Trypanosoma cruzi</i>
<i>Nested PCR</i>	<i>Nested Polymerase Chain Reaction</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PRISMA	<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i>

Introdução: A possibilidade que o *Trypanosoma cruzi* pudesse ser transmitido sexualmente foi sugerida por Vianna e Carlos Chagas logo após a descoberta da doença. No entanto, a infectividade de amostras de sêmen e a transmissão sexual do parasito em modelos experimentais ocorreu posteriormente, sendo escassos os estudos que avaliaram esse mecanismo de transmissão na espécie humana. **Objetivos:** investigar a possibilidade da transmissão sexual dos tripanosomatídeos e do *T. cruzi* em animais experimentais e em humanos. **Metódos:** Foi realizada uma revisão de escopo associada a um estudo observacional. A busca pelos trabalhos foi realizada nos bancos de dados Pubmed, Lilacs, Global Health e Portal Capes com os seguintes termos: “Trypanosomatídeos”, “*Trypanosoma*”, “*Leishmania*”, “Transmissão sexual”, “Sêmen”, “Secreção vaginal”, “Macho”, “Fêmea”, nos idiomas inglês, espanhol e português. Foi realizado também um estudo observacional de investigação da transmissão sexual do *T. cruzi* em uma amostra composta por 171 indivíduos distribuídos em 10 famílias, residentes no território do município de São Felipe, Bahia. As amostras de sangue e sêmen obtidas foram analisadas por métodos sorológicos e moleculares, associadas com informações socioepidemiológicas obtidas de um formulário a fim de confirmar ou excluir a transmissão do *T. cruzi* pela via sexual. **Resultados:** De acordo com os critérios de elegibilidade estabelecidos, foram encontrados 27 artigos. Os relatos da literatura mostraram a presença dos protozoários do gênero *Leishmania* e *Trypanosoma* em órgãos reprodutivos e fluídos sexuais, assim como a transmissão sexual dos parasitos aos parceiros sexuais e à progênie. No estudo observacional, a presença do *T. cruzi* nas amostras sanguíneas foi encontrada em 24,56% pelo teste molecular.. A análise das amostras seminais permitiu encontrar o protozoário em apenas uma amostra de sêmen, sendo essa presença confirmada pela técnica de sequenciamento. A associação dos achados moleculares da análise sanguínea, seminal e das informações extraídas do formulário aplicado permitiu identificar ao menos três casos de mulheres que adquiriram a

infecção pela via sexual. **Conclusão:** Com base nas informações obtidas na revisão, assim como a presença do *T. cruzi* nas amostras de sêmen foi possível concluir que os tripanosomatídeos, em especial o *T. cruzi*, podem ser transmitidos pela via sexual, sendo o sêmen um fluido infectante.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*; análise seminal; doença de Chagas; infecções sexualmente transmissíveis.

Introduction: The possibility of sexual transmission of *Trypanosoma cruzi* was suggested by Carlos Chagas after the discovery of the disease. However, the infectivity of semen samples and sexual transmission of the parasite on animal models occurred recently with few studies evaluating this transmission mechanism in humans. **Objectives:** to investigate the possibility of sexual transmission of trypanosomatids and *T. cruzi*, both in experimental animals and human. **Methods:** a scoping review associated with an observational study was conducted. The search for studies was performed in the databases PubMed, Lilacs, Global Health and Portal CAPES with the following terms: “Trypanosomids”, “*Trypanosoma*”, “*Leishmania*”, “Sexual Transmission”, “Sêmen”, “Vaginal Secretion”, “Male”, “Female”, in English, Spanish and Portuguese. An observational study was also conducted to investigate the sexual transmission of *T. cruzi* in a population of 171 individuals distributed across 10 families residing in the municipality of São Felipe, Bahia. Blood and semen samples obtained were analyzed by serological and molecular methods, combined with socio-epidemiological information obtained from a questionnaire, to confirm or exclude the sexual transmission of *T. cruzi*. **Results:** According to the eligibility criteria 27 articles were found. Literature reports showed the presence of protozoa of *Leishmania* and *Trypanosoma* genus in reproductive organs and sexual fluids, as well as the sexual transmission of these parasites to sexual partners and offspring. In the observational study, the presence of *T. cruzi* in blood samples was found in 24,56% through molecular testing. Analysis of semen samples revealed the protozoan in only one semen sample, with the presence confirmed by sequencing technique. The association of molecular findings from blood and semen analyses and information extracted from the applied questionnaire identified at least three cases of women who acquired the infection through sexual transmission. **Conclusion:** based on the information obtained from the review, as well as the presence of *T. cruzi* in semen samples, it was possible

to conclude that trypanosomatids, especially *T. cruzi*, can be sexually transmitted, with semen being an infective fluid.

Key words: *Trypanosoma cruzi*; semen analysis; Chagas disease; sexually transmitted diseases

Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST) podem ser transmitidas especialmente pelo contato sexual vaginal, anal e oral, além de serem transmitidas da mãe para o filho durante o parto ou pela amamentação. Os sinais e sintomas decorrentes das IST variam desde quadros silenciosos até o aparecimento de inflamações nos órgãos reprodutores, câncer, infertilidade, complicações gestacionais e até mesmo o aborto, além do acometimento dos neonatos (ARAL et al, 2011; WHO, 2024).

O grande feito realizado pelo médico sanitário e pesquisador Carlos Chagas em 1909, ao descobrir, simultaneamente, o protozoário *Trypanosoma cruzi*, seu ciclo de vida, seus reservatórios naturais e a infecção causada, pouco impacto trouxe ao mundo científico, resultando na perda do maior prêmio mundial em ciência, o Prêmio Nobel, em dois momentos consecutivos, em 1913 e 1921 (PITTELA, 2009). A continuidade dos estudos sobre o mecanismo de transmissão da infecção resultou na suspeição da transmissão sexual do protozoário *Trypanosoma cruzi*, inicialmente levantada por Vianna (1911) ao encontrar formas evolutivas do protozoário durante análise histopatológica de testículos, epidídimo e sêmen de camundongos infectados. Achados semelhantes foram encontrados pelo próprio Carlos Chagas (1916), ao evidenciar o parasito em testículos e ovários de pacientes que vieram a óbito durante a fase aguda da doença. Descoberta análoga foi realizada por Teixeira e colaboradores (1970) em crianças.

Estudos recentes tem comprovado a presença deste parasito em amostras de sêmen de animais e homens em fase aguda e crônica, assim como a confirmação da transmissão do *T. cruzi* pela via sexual em estudos experimentais, utilizando animais de laboratório (ARAÚJO et al, 2017; MARTIN et al, 2015; RIBEIRO et al, 2016; RIOS et al, 2018).

A ausência de estudos que avaliem essa forma de infecção do *T. cruzi* na população humana, assim como os escassos trabalhos que avaliem o mecanismo sexual de transmissão deste parasito aponta para a necessidade do avanço de trabalhos nessa temática.

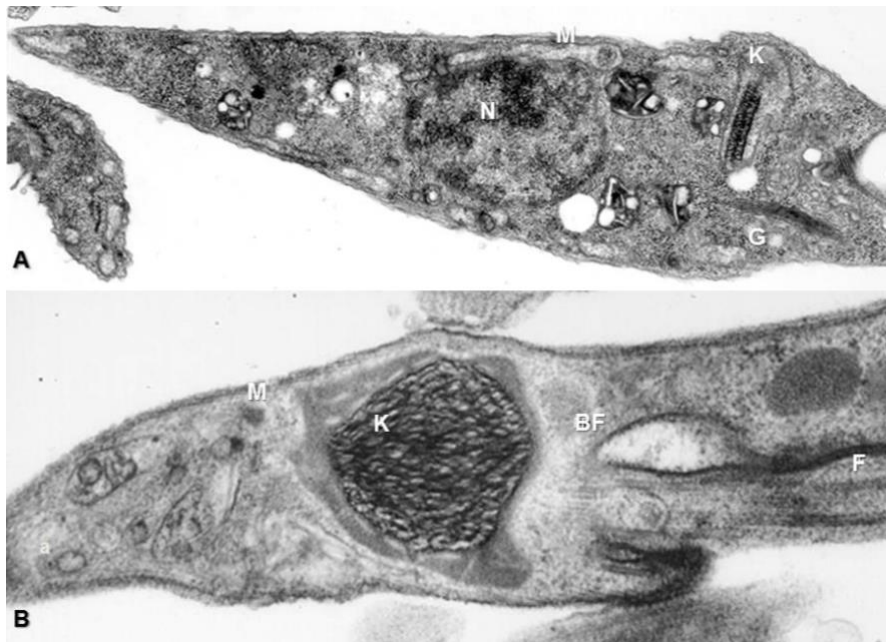
1.1 Cinetoplastídeos e *Trypanosoma cruzi*

Os cinetoplastídeos constituem um importante grupo de protozoários parasitas, flagelados, caracterizados pela presença do cinetoplasto, uma organela rica em DNA. Fazem parte dessa ordem várias espécies responsáveis por infecções consideradas negligenciadas e de grande relevância para a saúde pública mundial.

Dentro dessa ordem existe a família Tripanosomatidae, com destaque para espécies do gênero *Trypanosoma* e *Leishmania* sp. Os tripanosomatídeos, de modo geral, apresentam uma mitocôndria única que se ramifica pelo corpo do parasito (PAULIN, 1975). Próxima a ela observa-se uma densa região, caracterizada pela concentração de DNA, o cinetoplasto (ALVES & COLLI, 1974; BORST & HOEIJMAKERS, 1980), onde se encontra aproximadamente 20-25% do DNA total da célula. O DNA mitocondrial do cinetoplasto (kDNA) é único em sua estrutura, função e modo de replicação sendo constituído por uma rede composta de milhares de círculos de DNA interligados. Os círculos de kDNA são de dois tipos, maxicírculos presentes em algumas dúzias de cópias, e os minicírculos presentes em milhares de cópias. Os maxicírculos codificam RNAs ribossomais e algumas proteínas mitocondriais, sendo similar em estrutura ao DNA mitocondrial de outros eucariotos (SHAPIRO & ENGLUND, 1995). Vários maxicírculos sofrem um processo de inserção ou deleção de resíduos de uridina em sítios específicos (BENNE et al, 1986). De sua parte, os minicírculos codificam um pequeno RNA guia que controla a especificidade da edição dos RNAs produzidos a partir dos maxicírculos (STURN et al, 1990).

O *T. cruzi* é um protozoário flagelado pertencente ao gênero *Trypanosoma* (Figura 1). Por apresentar variações morfológicas, fisiológicas e biológicas, relacionadas tanto à patogenicidade quanto à infectividade, alguns autores classificam o *T. cruzi* como um “complexo *cruzi*”, e não como uma espécie única (COURA, 1965; COURA et al, 1966 apud COURA & DIAS, 2009).

Figura 1: Fotomicrografia eletrônica do *Trypanosoma cruzi*



A - Forma epimastigota; B - Forma tripomastigota; BF - Bolsa flagelar; F - Flagelo, G – Golgi; K – Cinetoplasto; M - Mitocôndria, N - Núcleo. Fonte: Santa-Rita, R.M.

O *T. cruzi* têm polimorfismo evolutivo, alterando sua forma celular ao longo do seu ciclo de vida, heteroxênico, com a multiplicação intracelular no hospedeiro vertebrado (homem e mamíferos de outras sete ordens diferentes) e a multiplicação extracelular no hospedeiro invertebrado, o inseto vetor (hemípteros hematófagos) (LANA & TAFURI, 2010).

No ser humano, hospedeiro vertebrado, o ciclo tem início quando, pelas diferentes formas de infecção, as tripomastigotas metacíclicas ou então epimastigotas infectantes interagem com qualquer célula hospedeira. Essa interação é procedida de duas etapas: adesão e internalização, que variam de acordo com o tipo de cepa. Durante a endocitose há a alteração da composição lipídica e proteica da membrana celular do hospedeiro e o protozoário, por diferentes vias, que podem ou não estarem relacionadas com a clatrina e através de vários ligantes celulares, induzem sua endocitose pela célula do hospedeiro em mecanismos não totalmente elucidados (BARRIAS, DE CARVALHO & DE SOUZA, 2013; DE SOUZA & BARRIAS, 2017; DE SOUZA & BARRIAS, 2020).

Uma vez dentro da célula hospedeira, parasito permanece no interior do vacúolo digestivo, onde pode ser morto. No entanto, os mecanismos de evasão evolutivamente desenvolvidos permitem que esses consigam destruir o vacúolo parasitóforo e permanecerem livres no citoplasma, onde se multiplicam intensamente por divisão binária e se convertem novamente em tripomastígotas. Quando a célula não consegue suportar a alta carga parasitária ela se rompe, liberando essas formas na corrente sanguínea, onde permanecem circulantes, sendo então combatidas pela imunidade, desenvolvida pelo organismo do hospedeiro (CAMARGO, 1964; DE SOUZA & BARRIAS, 2020).

O mesmo mecanismo de adesão e internalização celular é compartilhado pelas tripomastigotas que sobrevivem. Essas formas infectantes conseguem penetrar em qualquer tipo celular do hospedeiro, incluindo células somáticas e germinativas. Essas formas, por sua vez, permanecem por longos períodos nos tecidos parasitados ou podem infectar outras células hospedeiras, continuando seu ciclo (TEIXEIRA et al, 2006; DE SOUZA & BARRIAS, 2020).

1.2 Epidemiologia da Doença de Chagas

A Doença de Chagas é uma infecção tropical de grande importância no mundo, com alto impacto social e econômico, principalmente nas áreas endêmicas. A WHO (2024) sugere que existam de 6 a 7 milhões de pessoas infectadas no planeta com aproximadamente 75 milhões de pessoas em risco de infecção. Por ano, 10.000 pessoas morrem mundialmente em decorrência da doença e a incidência, nas Américas, é de 30 mil casos diagnosticados anualmente (MS, 2024; OPAS, 2024). No Brasil estima-se que existam mais de 4 milhões de portadores da doença e cerca de 14.000 mortes anuais (MARTINS-MELO et al, 2014; OPAS, 2024). O último inquérito sorológico, realizado entre 2001 e 2008, em crianças com menos de 5 anos, identificou a infecção em 0,1% (OSTERMAYER et al, 2011).

A média de prevalência da DC no país é de 4,2%, o que representa 4,6 milhões de brasileiros (MARTINS-MELO et al, 2014), com registro de mais de 50 mil mortes, em consequência da doença, no período de 2007 a 2017 (MS,

2020). Em estudo realizado no território brasileiro por Matins-Melo et al (2014) a prevalência de infecção variou de 0% a 25,1%, entre os anos de 1980 a 2011.

Uma vez diminuído o contágio por triatomíneos, resultado do intenso combate químico realizado no país, a disseminação do *T. cruzi* aconteceu majoritariamente através da transfusão sanguínea. Nesse sentido, no Brasil, a partir dos anos de 1990, foi implementado o controle dos bancos de sangue, com cobertura atual em 98% no país. O descarte das bolsas de sangue de doadores identificados como portadores da doença durante o rastreamento da doença reduziu a incidência desse via de disseminação (DIAS & NETO, 2011; FRAGATA-FILHO, 2008). No entanto, a contaminação via transfusão sanguínea constitui importante fonte de infecção em indivíduos tanto de países endêmicos quanto em países não endêmicos uma vez que os testes sorológicos utilizados não são sensíveis e específicos o suficiente, além do fato de parte dos infectados não desenvolverem anticorpos para o *T. cruzi* (CARDOSO et al, 2018; SCHMUNIS, 2007).

A transmissão vertical, também conhecida como congênita, quando existem ninhos de amastigotas na placenta, que liberam tripomastigotas e estas chegam à circulação fetal (CONTIJO et al, 2009; RASSI et al, 2004). A frequência de transmissão da mãe para o filho, no Brasil, é de 1% e nos países do Cone Sul e varia de 4 a 12%, com frequência mundial de 5%, sendo as taxas mais elevadas encontradas em países não endêmicos. (COURA et al, 2015; HOWARD et al, 2014).

Na Bahia, maior estado da região Nordeste, a prevalência da DC foi de 5,4%, em um inquérito realizado entre 1975-1981 (OSTERMAYER et al, 2011). Em Salvador, a doença foi identificada através de testes sorológicos, em 3,5% da população assistida pelo Programa da Saúde da Família (MATOS et al, 2013). A taxa de mortalidade da doença no estado é de 4,16 a cada 100 mil habitantes, a quarta maior taxa encontrada no país, com destaque para o município de São Felipe (62,2/100 mil habitantes). A Bahia destaca-se também por ser o único em sua região a notificar casos agudos da DC, com um único caso ocorrido em 2013. Nesse mesmo ano foram notificados no estado 62 casos crônicos da doença, desses 3 confirmados, 22 considerados como inconclusivos, e os demais descartados, em sua maioria, ou não

classificados como casos (SES, 2019; MS, 2020, MS, 2021; RIBEIRO-JR et al, 2022).

Visto que os estudos de prevalência da doença no país são escassos e desatualizados, é de fundamental importância realizar um intenso levantamento epidemiológico da doença, utilizando métodos de diagnósticos sensíveis e específicos a fim de identificar a real prevalência da doença no país, assim como investir as verdadeiras formas de infecção da doença, a fim de se realizar o manejo adequado da doença.

Tem sido frequente o número de casos autóctones da DC, em especial nos EUA e na Europa, o que torna a infecção um grave problema de saúde pública (SCHMUNIS, 2007). Mesmo diante da presença de triatomíneos em alguns estados do EUA, são poucas as espécies com íntimo contato com indivíduos infectados, sendo raros os relatos de exposição aos barbeiros (BERN et al, 2019). O constante fluxo migratório de chagásicos para áreas não endêmicas associado à ausência de triagem de infectados dentre os doadores de sangue e órgãos tem sido apontado com um dos principais fatores de risco para o surgimento de novos casos nesses países. A falta de conhecimento sobre as reais fontes de infecção do *T. cruzi* nessa população impede a adoção de medidas de prevenção e controle dessa doença nessas regiões, favorecendo o aumento no número de casos. (BEATTY & KLOTZ, 2020; CARDOSO et al, 2018; COURA & VIÑAS, 2010; FRANCO-PAREDES et al, 2007; RAMOS JR & HEUKELBACK, 2010; ZANIELLO et al, 2012).

1.3 Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico laboratorial para comprovação de casos suspeitos de infecção por *T. cruzi* pode ser realizado com testes parasitológicos, pela busca de anticorpos, como também pela identificação de seu material genético por meio de testes moleculares.

A busca pelo protozoário é indicada na fase aguda da doença, sendo o exame de gota espessa de sangue um dos mais indicados (DIAS et al, 2016; MS, 2013).

Na fase crônica, os métodos imunológicos são muito utilizados, devido à sua facilidade de execução e rapidez na obtenção nos resultados (DIAS et

al, 2016). Nesse estágio o diagnóstico deve ser realizado utilizando um teste de elevada sensibilidade associado a outro teste de alta especificidade, sendo a técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI) e a ELISA as mais utilizadas (COURA et al, 2015; LUZ et al, 1994; MS, 2013; REY, 2008).

A técnica de *Polymerase Chain Reaction* (PCR) consiste em um método molecular que detecta o material genético do parasito existente em diferentes amostras, tais como sangue, soro, sêmen, secreção vaginal, assim como amostras teciduais. Técnica altamente sensível e específica, com inúmeras variações que permitem a identificação do material genético de interesse com elevada especificidade e sensibilidade. Associada à hibridização com sondas de DNA marcadas radioativamente e fluoróforos, o resultado obtido por essa técnica se torna ainda mais fidedigno (DEGRAVE et al, 1994).

1.4 Transmissão Sexual do *T. cruzi* : conceitos e antecedentes históricos

Desde a descoberta da doença, em 1909, a transmissão sexual foi cogitada, porém poucos estudos abordam esse assunto. Os primeiros achados da presença do *T. cruzi* em órgãos reprodutivos foram realizados por Vianna (1911), ao identificar a presença do protozoário nos testículos e epidídimos e até mesmo no sêmen de camundongos infectados. Semelhante descoberta foi realizada pelo próprio Carlos Chagas (1916), ao analisar testículos e também ovários durante a necrópsia de pacientes que vieram a óbito durante a fase aguda da doença (Figura 2).

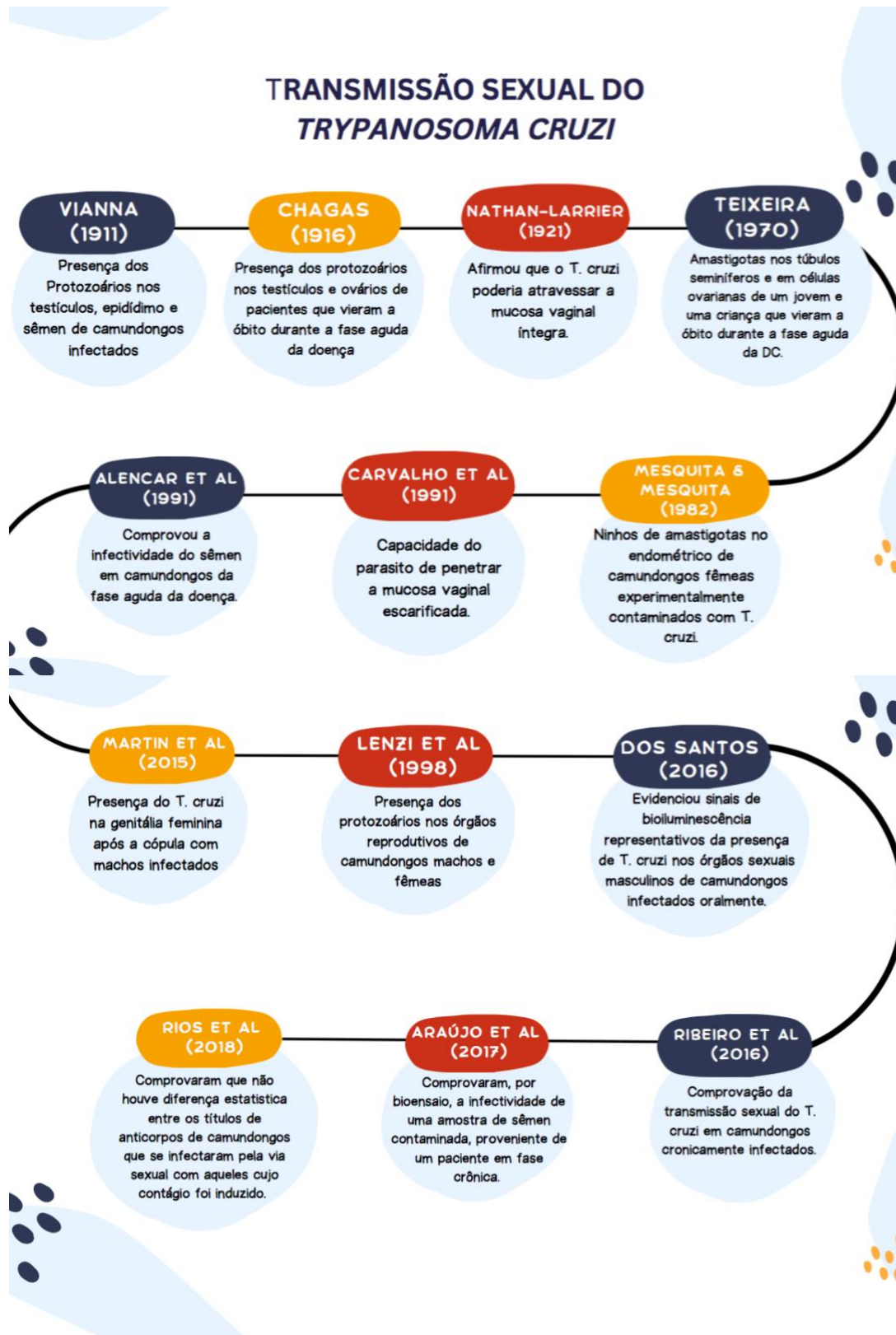
A discussão a cerca da presença do *T. cruzi* em estruturas reprodutivas foi retomada por Teixeira e colaboradores (1970), que encontraram amastigotas nos túbulos seminíferos e em células ovarianas de um jovem e de uma criança, respectivamente, que tiveram como causa de óbito a doença de Chagas aguda. Mesquita & Mesquita (1982) encontraram ninhos de amastigotas no endométrio de camundongos experimentalmente contaminados com o protozoário. O protozoário também foi evidenciado por Lenzi e seus colaboradores (1998) nos órgãos reprodutivos de camundongos

machos e fêmeas, e notaram que a infecção pelo *T. cruzi* mais intensa no macho que na fêmea, e por Do Santos (2016), que evidenciou sinais de bioluminescência representativos da presença do *T. cruzi* nos órgãos sexuais masculinos de camundongos infectados oralmente, sendo a região genital um dos principais focos do protozoário encontrados nestes animais.

As primeiras investigações da transmissão deste parasito pelo acasalamento foram realizadas por Nathan-Larrier (1921) que afirmou que o *T. cruzi* poderia atravessar a mucosa vaginal íntegra em camundongos. Ao avaliarem a mesma espécie de animal, Carvalho e colaboradores (1991) confirmaram que o *T. cruzi* também possui capacidade de penetrar a mucosa vaginal escarificada, semelhante ao encontrado por Alencar e seus parceiros (1991), que comprovaram a infectividade do sêmen de camundongos na fase aguda da doença. Araujo et al (2012) mostraram diferenças entre as frequências de exames positivos pela demonstração do anticorpo específico e pelos testes moleculares de DNA pela PCR com iniciadores específicos. A tolerância imunológica foi considerada compatível com a transmissão sexual do *T. cruzi*. A presença de protozoários da espécie de *T. cruzi* foi encontrada na genitália de um camundongo fêmea após sua cópula com machos infectados (MARTIN et al, 2015).

Ao cruzar camundongos cronicamente infectados com *T. cruzi* com parceiros saudáveis, Ribeiro e seus colaboradores (2016) comprovaram, através de técnicas sorológicas, que todos os animais saudáveis se infectaram após o cruzamento, além de demonstrarem que as gônadas masculinas e femininas (testículos e ovários) apresentaram elevados níveis parasitários. Seguindo o mesmo protocolo, Rios e colaboradores (2018) também demonstraram que não houve diferença estatística entre os títulos de anticorpos IgG em camundongos infectados com *T. cruzi* pela via intramuscular e os títulos de anticorpos específicos os camundongos que adquiriram a infecção pela via sexual. Porém, mais da metade de progenies nascidas do cruzamento entre os camundongos chagásicos não tinham anticorpos, mas a infecção foi reconhecida pelos exames de PCR-nDNA confirmados pelo sequenciamento.

Figura 2: Fluxograma da investigação da transmissão sexual do *Trypanosoma cruzi*



Fonte: Autoria própria.

A presença do material genético nuclear (nDNA) do *T. cruzi* foi evidenciada, por Araújo e colaboradores (2017), em uma amostra de sêmen proveniente de um paciente em fase crônica da doença e seu potencial infectivo foi comprovado nos camundongos infectados com o parasito isolado do sangue. Os resultados obtidos neste estudo indicaram a possibilidade da transmissão do *T. cruzi* em humanos pela via sexual.

A transmissão sexual do *T. cruzi* ocorre quando o parceiro infectado contamina o saudável através do ato sexual. Considera-se também transmissão sexual a contaminação da prole resultante do acasalamento de um macho infectado com uma fêmea saudável. A transmissão congênita, por sua vez, ocorre quando a fêmea, previamente contaminada, transfere o *T. cruzi* para o feto durante o período gestacional.

1.5 Relevância

A identificação do *T. cruzi* nos órgãos sexuais e nas amostras de sêmen de animais de laboratório e humanos, bem como a confirmação da transmissão sexual mediante cruzamentos experimentais, constituem importantes evidências da transmissão do parasito pelo ato sexual.

Diante de tantos vestígios e indícios experimentais, e da escassez de pesquisas nessa temática é de grande importância o desenvolvimento, assim como o aprofundamento de estudos que avaliem o coito como fonte de infecção dos tripanosomatídeos em seus hospedeiros, em especial na população humana.

A identificação de casos de infecção do *T. cruzi* pela via sexual em seres humanos atestará as evidências científicas apresentadas até o momento de que relações sexuais constituem importantes mecanismos de contaminação do parasito.

A divulgação desses resultados é essencial para a mudança das condutas até então preconizadas para o manejo e controle da doença, assim como servirá de subsídios para aprofundar estudos que melhor elucidem os mecanismos biológicos associados com a forma de transmissão da doença de Chagas. O mais relevante deste estudo é a comprovação da transmissão sexual da Doença de Chagas e a implementação de Programa de Educação, Comunicação e Informação para a saúde pública.

2.1 Objetivo Geral

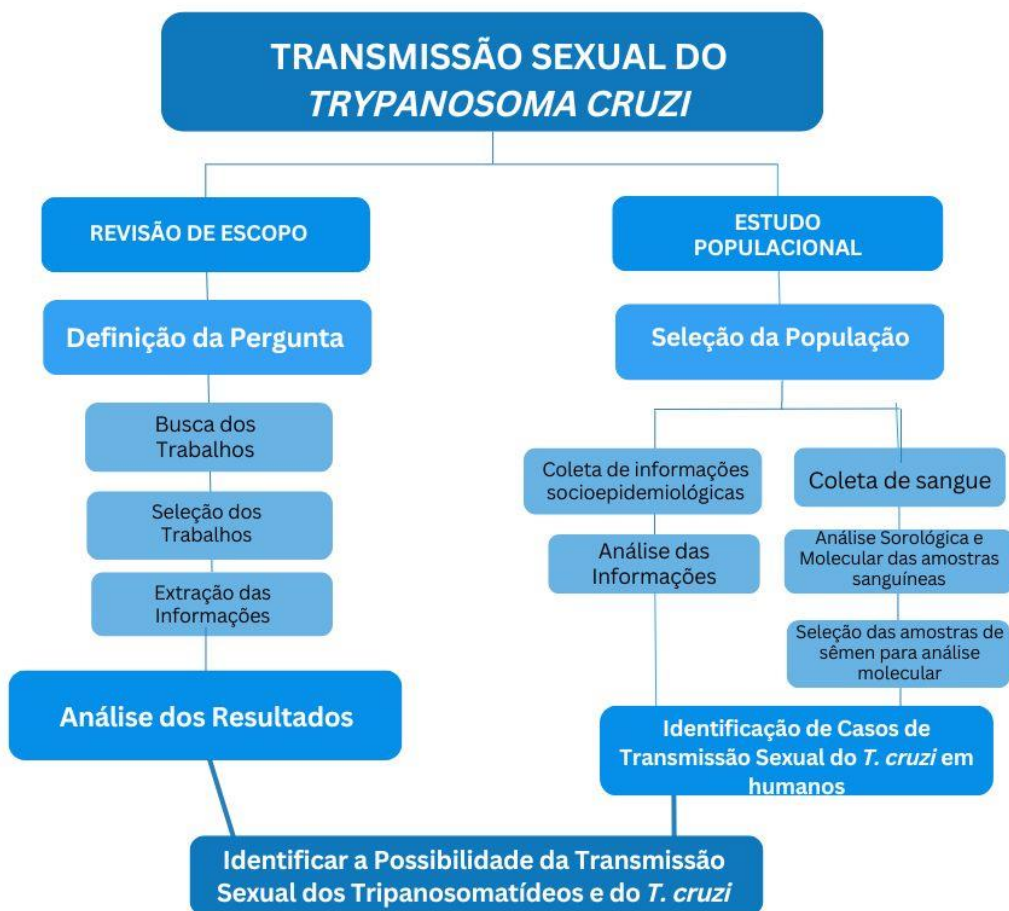
- Verificar a existência de evidência da transmissão sexual dos tripanosomatídeos, com ênfase no *Trypanosoma cruzi*

2.2 Objetivos Específicos

- Verificar, mediante revisão de escopo, as evidências disponíveis sobre a possibilidade de transmissão antroponótica e zoonótica pela via sexual de tripanosomatídeos indutores de infecções crônicas
- Demonstrar a possibilidade da transmissão sexual do *Trypanosoma cruzi* em famílias residentes em área endêmica da Doença de Chagas.

Esse projeto de pesquisa foi realizado com base em duas abordagens distintas, realizadas de forma simultânea, conforme está ilustrado na Figura 2. Uma das abordagens compreendeu na elaboração de um protocolo de Revisão de Escopo visando evidenciar a ocorrência da transmissão sexual, de protozoários da família Trypanosomatidae, enquanto a outra etapa consistiu em um estudo observacional, populacional, retrospectivo da transmissão sexual em um grupo de 171 indivíduos distribuídos em 10 famílias nascidas e/ou residentes em um município endêmico da Doença de Chagas (São Felipe – BA).

Figura 2: Fluxograma das abordagens metodológicas deste estudo.



3.1 Revisão de Escopo

3.1.1 Conceitos e diretrizes

Revisões de escopo consistem em uma importante ferramenta para esclarecer conceitos utilizados na literatura e examinar evidências relacionadas às lacunas existentes no campo científico, com o objetivo de realizar levantamento sobre todas as evidências disponíveis sobre determinado assunto, esclarecer conceitos, e apontar as lacunas existentes sobre determinado assunto (MUNN et al, 2018).

Como instrumentos que podem antecipar revisões sistemáticas de literatura (RSL), uma revisão de escopo não possui a mesma rigidez metodológica que uma RSL. No entanto, sua elaboração exige passos criteriosos, rigorosos e transparentes que fornecerão evidências com a mesma confiança que a revisão sistemática (MUNN et al, 2018; TRICCO et al, 2018).

3.1.1.1 Fase 0 – Elaboração da Pergunta Norteadora

A primeira etapa do desenvolvimento desta revisão consistiu na escolha da pergunta que norteou: **Existe a possibilidade dos protozoários da Família Trypanosomatidae serem transmitidos pela via sexual nos animais e em humanos?**

A pergunta que direcionou a seleção de trabalhos foi elaborada com base no anagrama PICOT (População, Intervenção, Comparação, Desfecho e Tipo de Estudo) (Tabela 1).

Tabela 1: Anagrama PICOT de Elaboração da Pergunta Norteadora desta Revisão Sistemática de Literatura

Anagrama	
População	Não especificada (animais e humanos)
Intervenção	Não especificada
Comparação	Comprovar e/ou sugerir a transmissão sexual
Desfecho	Houve ou não a transmissão sexual
Estudos	Pré-clínicos e/ou Experimentais

3.1.1.2 Fase 1: Formação da Equipe de Pesquisadores

Seguindo as diretrizes metodológicas de uma revisão de escopo, a equipe responsável pela condução do trabalho foi composta por uma pesquisadora responsável, bióloga, pós-graduada e doutoranda, e pesquisadores-colaboradores, sendo um também biólogo, pós-graduado e dourorando, e outra acadêmica do curso de Medicina.

A fim de estabelecer a melhor e mais eficaz estratégia de busca e seleção dos estudos, foi realizada uma pesquisa prévia pelos pesquisadores, a partir da qual foram definidos os descritores, idioma, indexador booleano, critérios de elegibilidade, banco de dados e período de publicação.

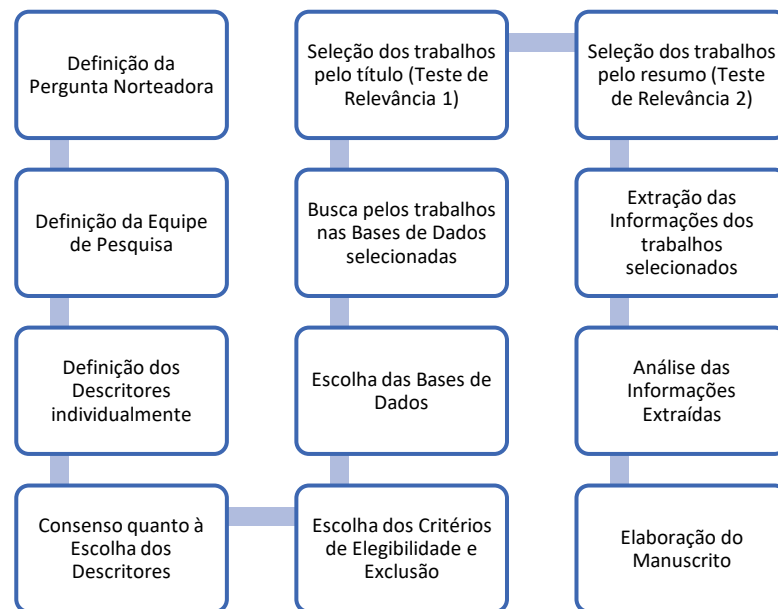
A busca e seleção dos trabalhos foi realizada mediante concordância entre dois dos pesquisadores (Figura 3). Quando não houve consenso, o terceiro pesquisador foi consultado e uma decisão tomada.

3.1.1.3 Fase 2: Definição dos Descritores, Idioma, Banco de Dados, Período de Publicação e Critérios de Elegibilidade

Os descritores foram determinados, pelos revisores, visando selecionar trabalhos científicos que contemplem o tema proposto. Sendo assim, os termos escolhidos foram: “Trypanosomatideos”, “*Trypanosoma*”, “*Leishmania*”, “Transmissão sexual”, “Sêmen”, “Secreção vaginal”, “Aparelho

reprodutor”, “Macho”, “Fêmea”, utilizados de forma arranjada, com o indexador booleano AND (Tabela 2).

Figura 3: Fluxograma das etapas realizadas na Revisão de Escopo



Foram definidos que os trabalhos publicados no período de Janeiro de 1990 e Dezembro de 2020, publicados nos idiomas inglês, português e espanhol nos bancos de dados PubMed, Lilacs, Global Health e Portal Capes fossem selecionados para esta análise

A partir da definição da pergunta norteadora, foram estabelecidos os seguintes critérios de elegibilidade:

- Estudos pré-clínicos e/ou experimentais;
- Estudos em que fossem encontradas formas evolutivas de protozoários da família Trypanosomatidae em secreções vaginais e sêmen, assim como sua presença nos órgãos do sistema reprodutor;
- Trabalhos em que fossem encontrados o contágio pela via sexual em diferentes espécies de animais, incluindo seres humanos;
- Trabalhos nos idiomas inglês, espanhol e português.

Foram excluídos da análise os trabalhos que:

- Estudaram espécies de protozoários não pertencentes à família Trypanosomatidae;

- Estudos que apenas objetivaram a qualidade dos fluidos sexuais dos hospedeiros;
- Estudos que analisaram apenas os aspectos histopatológicos da presença dos protozoários nos órgãos sexuais dos animais infectados.
- Estudos de revisão e editoriais;
- Artigos que foram encontrados apenas os resumos.

Tabela 2: Descritores utilizados na busca de trabalhos

Estratégia de Pesquisa
"Tripanosomatídeos" AND "Transmissão Sexual" AND "Sêmen"
"Tripanosomatídeos" AND "Transmissão Sexual" AND "Secreção Vaginal"
"Tripanosomatídeos" AND "Transmissão Sexual" AND "Aparelho Reprodutor" AND "Feminino"
"Tripanosomatídeos" AND "Transmissão Sexual" AND "Aparelho Reprodutor" AND "Masculino"
"Tripanosomatídeos" AND "Transmissão Sexual" AND " <i>Trypanosoma</i> "
"Tripanosomatídeos" AND "Transmissão Sexual" AND " <i>Leishmania</i> "
"Trypanosomatids" AND "Semen" AND " <i>Trypanosoma</i> "
"Trypanosomatids" AND "Semen" AND " <i>Leishmania</i> "
"Tripanosomatídeos" AND "Secreção Vaginal" AND " <i>Trypanosoma</i> "
"Tripanosomatídeos" AND "Secreção Vaginal" AND " <i>Leishmania</i> "
" <i>Trypanosoma</i> " AND "Semen"
" <i>Trypanosoma</i> " AND "Secreção Vaginal"
" <i>Trypanosoma</i> " AND "Transmissão Sexual"
" <i>Leishmania</i> " AND "Semen"
" <i>Leishmania</i> " AND "Secreção Vaginal"
" <i>Leishmania</i> " AND "Transmissão Sexual"

3.1.1.4 Fase 3: Estratégia de Pesquisa

A etapa de busca pelos trabalhos, seguindo os critérios previamente citados, foi realizada por dois pesquisadores, nos dias 08 e 09 de Junho de

2021, no mesmo horário, tendo a comunicação entre os revisores ocorrido por videoconferência, utilizando a plataforma Google Meet ®.

Os revisores estavam em dois locais distintos, uma vez que a busca pelos trabalhos ocorreu durante o período pandêmico, no qual era recomendado o isolamento social. Nesse sentido a busca foi realizada na residência dos mesmos, em seus próprios computadores, sendo uma delas no município de Goiânia e outra no município de Jataí, ambos localizados no estado de Goiás.

O número de artigos encontrados em cada banco de dados, utilizando o arranjo dos descritores, foi alocado no programa Excel®, assim como link obtido na busca e dos trabalhos encontrados. Nesse mesmo programa foram inseridos os títulos dos trabalhos para sua seleção.

Todo o processo de seleção dos trabalhos, também realizado pelos dois pesquisadores, ocorreu seguindo os critérios de elegibilidade e de exclusão, de forma distinta, em ambiente separados. Dessa forma, após a busca, foi realizada a seleção dos trabalhos pelo título, seguida da eliminação dos trabalhos que estavam em duplicidade. O próximo passo da triagem consistiu na leitura dos resumos e posteriormente do trabalho completo.

A cada etapa do processo de seleção, havia uma reunião entre os pesquisadores para definir quais trabalhos avançariam para a próxima etapa. Quando havia discordância entre os mesmos, o terceiro avaliador participava da reunião, a fim de resolver a questão levantada. Todo processo de triagem dos trabalhos aconteceu entre Junho de 2021 a Maio de 2022.

A seleção de trabalhos publicados em revistas científicas garante que os mesmos foram criticamente avaliados quanto a originalidade, relevância, assim como obtenção e confirmação dos resultados.

3.1.1.4 Extração e Análise de Dados

Uma tabela de extração de dados foi elaborada pela equipe pesquisadora para extrair os dados e evidências disponíveis em cada estudo selecionado para compor a revisão. Dessa forma foram extraídas, pela pesquisadora responsável, as seguintes informações: tipo de estudo, espécie de protozoário avaliada, espécie animal estudada, objetivo da pesquisa, tipo de amostra e seu método de análise, os resultados obtidos no estudo. Esses

elementos foram utilizados para preencher, em uma única tabela, informações referentes às tabelas de relevância 1 e 2 (Apêndice 2). As informações coletadas foram verificadas pelo outro pesquisador que compôs a revisão.

Os resultados foram categorizados de acordo com a espécie de tripanosomatídeo avaliada, assim como a espécie de hospedeiro, qual órgão, secreção esses parasitos foram encontrados, o tipo de método de análise das amostras biológicas e se houve ou não a transmissão dos parasitos pelo acasalamento. O corpo textual da revisão de escopo foi elaborado seguindo as diretrizes do check-list PRISMA-ScR (Apêndice 3).

3.1.2 Protocolo e Registro da Revisão Sistemática da Literatura

O protocolo desta revisão foi registrado pelo Registro Internacional Prospectivo de Revisões Sistemáticas (PROSPERO – N° CRD42021239112) (Anexo 1)

3.2 Estudo Observacional Transversal

A população participante deste estudo também é integrante de um projeto de pesquisa intitulado *Frequência de Mutações de kDNA do Trypanosoma cruzi na População do Recôncavo Baiano*.

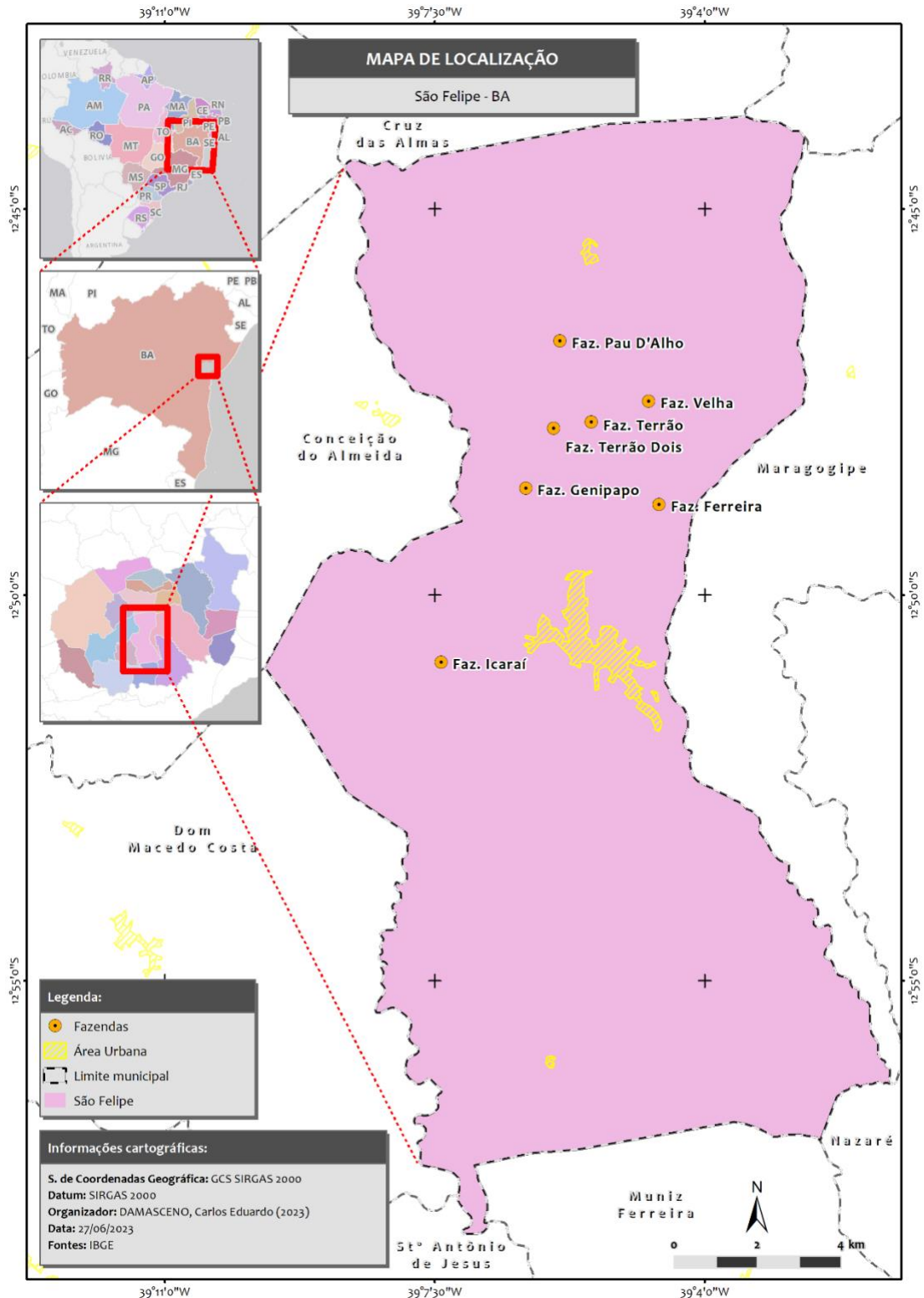
3.2.1 Tipo e Local do Estudo

Trata-se de um estudo observacional, retrospectivo, de investigação da transmissão sexual em um grupo de 171 indivíduos, entre homens, mulheres e seus respectivos filhos, de diferentes idades, com diferentes graus de parentesco distribuídos em 10 famílias, nascidos e/ou residentes na área urbana e nas fazendas Pau d'Álho, Terrão, Terrão 2, Genipapo, Ferreira, Icarí e Velha na zona rural do município de São Felipe, estado da Bahia, avaliados no ano de 2013 (Figura 5)

O Estado da Bahia, maior estado da região nordeste do Brasil, é composto por cerca de 417 municípios que fazem divisa com diversos outros estados, tais como Espírito Santo, Minas Gerais, Goiás, Tocantins, Piauí, Pernambuco, Sergipe e Alagoas (Figura 5). Com área territorial de quase 565 milhões de Km², estima-se que o estado possua aproximadamente 15 milhões de indivíduos que habitam, em sua maioria a zona urbana do estado que possui densidade demográfica de 24,82 habitantes por Km². Com Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) de 0,660 de acordo com o último censo realizado em 2010, a economia da Bahia baseia-se principalmente em atividades de agropecuária, mineração, industrial e turismo (IBGE, 2022).

O Recôncavo Baiano consiste em uma área do Estado da Bahia formado por 20 municípios localizados na Baía de todos dos Santos, a cerca de 100 quilômetros da capital do estado, Salvador, sendo uma das áreas mais antigas no país, cuja área total chega a quase 5,2 mil quilômetros quadrados com clima semiárido (Figura 5).

Figura 5: Mapa político demonstrativo do território urbano e rural do Município de São Felipe, inserido no Recôncavo Baiano, estado da Bahia, Brasil, com destaque para as fazendas onde parte da população avaliada reside. Fonte: SIRGAS 2000.



O município de São Felipe está localizado na região denominada de Recôncavo Baiano, a 184,3 quilômetros da capital do estado, Salvador (Figura 5). Segundo o IBGE, a população aproximada de São Felipe, em 2022, era de 20.282 pessoas e densidade demográfica de 91,20 habitantes/km² distribuídos em 222,407 km², sendo a área urbanizada de 2,71 km² e IDH de 0,616. Localizada na mesorregião Metropolitana de Salvador, Microrregião de Santo Antônio de Jesus e na Região imediata de Cruz das Almas, São Felipe tem como bioma a Mata Atlântica. A Agricultura é a principal atividade econômica do município, cuja população ganha, em média, 1,7 salários mínimos e possui mais da metade dos indivíduos (54,8%) com rendimento mensal de até meio salário mínimo e PIB, per capita, de R\$ 10.071,81 (IBGE, 2024).

A cidade de São Felipe, inserida na Regional de Saúde Santo de Jesus possui 6 unidades de saúde em seu território e 9,2% de esgotamento sanitário adequado (IBGE, 2024). O município de São Felipe está localizado em uma região de alto risco de mortalidade pela DC e com grande número de indivíduos que se autodeclaram chagásicos (SES, 2019).

3.2.2 Seleção dos Pacientes

A população inicial do projeto contava, 189 indivíduos, distribuídos em 10 famílias distintas (Apêndice 3), cujos integrantes nasceram e/ou residem na zona urbana ou rural do território do município de São Felipe, na Bahia.

A partir desta população, foram estabelecidos, para esta abordagem de estudo, seguintes critérios de inclusão e exclusão dos participantes :

3.2.2.1 Critérios de Inclusão dos Pacientes no Estudo

Para serem incluídos no estudo, os indivíduos deveriam:

- Ser nascido em município da região do Recôncavo do Estado da Bahia;
- Ter assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 4), sendo voluntário com mais de 18 anos de idade, ou com a permissão expressa dos pais ou responsáveis, para os menores de idade;

- Ter doado amostras para as análises sorológicas e biomoleculares;
- Ter respondido o formulário de pesquisa.

3.2.2.2 Critérios de Exclusão dos Pacientes do Estudo

Foram excluídos dessa pesquisa os pacientes que:

- Não consentiram em participar da pesquisa ou desistiram de participar do estudo por livre e espontânea vontade em qualquer momento;
- Não doaram amostras biológicas;
- Não responderam ao formulário de pesquisa.

A seleção dos participantes a partir dos critérios estabelecidos resultou em um total de 171 indivíduos.

3.2.2.3 Critérios de Inclusão dos Participantes para Avaliação da Transmissão Sexual

Foram incluídos, para a avaliação da transmissão sexual, os indivíduos que:

- Ter um parceiro sexual, o que incluiu casais que se consideram casados ou então em união estável;
- Ser filho/a dos casais selecionados;
- Ter doado amostra de sêmen para análise molecular;

Dessa forma, foram selecionados para a análise da transmissão sexual 63 indivíduos. Destes, 38 participantes formam 19 casais e 25 filhos resultaram desses relacionamentos.

3.2.3 Coleta dos dados

3.2.3.1 Dados qualitativos

O grupo populacional estudado passou por uma consulta médica, realizada no Hospital Regional de Santo Antônio de Jesus.

O formulário utilizado para a extração dos dados clínico-epidemiológicos e sociodemográficos, respondido pelos participantes, foi elaborado pela equipe pesquisadora (Apêndice 1). O mesmo contém questões que abordaram o contato com o inseto vetor (se viram o triatomíneo, se foram picados), se realizaram transfusão sanguínea em algum momento de suas vidas e até mesmo se os pais participantes tinham a doença.

Essas informações foram utilizadas para excluir as vias de transmissão do *T. cruzi* vetorial, transfusional, oral e também gestacional.

3.2.3.2 Coleta de Amostras Biológicas

Com o intuito de confirmar ou excluir a hipótese levantada, foram analisadas amostras de sangue dos integrantes das famílias e sêmen daqueles que consentiram em conceder o material biológico.

Sendo assim, foram coletados, logo após a consulta médica, de 15 a 20 mL de sangue venoso de cada indivíduo em tubos VACUTAINER® com e sem anticoagulante EDTA. Os tubos com material estéril foram imediatamente colocados em geladeira a 4°C para não coagularem. Destes, 5 mL foram destinados para a detecção de anticorpos IgG anti-*T. cruzi* pelas técnicas de ELISA e IFI.

As amostras de sêmen foram obtidas dos integrantes das famílias, em suas próprias residências, por meio de masturbação, em preservativo de látex. A esse fluido foi adicionado solução de extração, e posteriormente diluído em glicerol estéril em microtubos. As amostras foram mantidas resfriadas em isopor com gelo e conduzidas para o Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa em Doença de Chagas da Universidade de Brasília até o momento de sua análise.

3.2.4 Análise das Amostras Biológicas

3.2.4.1 Análise Sorológica

Os testes sorológicos ELISA e IFI foram realizados no Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa em Doença de Chagas da Faculdade de Medicina

da Universidade de Brasília, de acordo com os protocolos desenvolvidos por VEXENAT (1993) e LAURIA-PIRES (2000).

Os métodos IFI e ELISA, escolhidos para o diagnóstico sorológico, tiveram como objetivo identificar anticorpos IgG anti-*T. cruzi* nos participantes desta pesquisa. Para o desenvolvimento da técnica, foram utilizados antígenos, obtidos de epimastigotas de *T. cruzi* (estoque Berenice) cultivadas em meio LIT ou DMEM, suplementados com 10% de soro fetal bovino (Cultilab, Campinas, BR) e 40 µg/ml de gentamicina. A cultura em meio LIT foi mantida a 28°C, enquanto as preservadas em DMEM, cresceram a 24°C. A colheita dos flagelados foi feita na fase exponencial de seu crescimento.

Os antígenos para IFI foram preparados a partir de epimastigotas centrifugadas a 3 mil rpm por 15 min a 4°C, lavadas três vezes com PBS, pH 7,4, por 15 min e suspensas em 2 ml de paraformaldeído (3,7%). Após nova lavagem, os parasitos foram diluídos em PBS, em pH 7,4, para concentração de aproximadamente 30 mil parasitos/ml. A alíquota com 30 parasitos/5µl foi depositada sobre lâmina de vidro desengordurada e após secagem a temperatura ambiente, as lâminas foram embrulhadas com papel alumínio e guardadas a -20°C até o momento de seu uso.

A IFI foi conduzida nas amostras de 5 ml. Após centrifugação, o soro colhido foi armazenado em glicerol (1/1) e guardado a -20°C até a realização do exame. Do soro em PBS, mantidos em pH 7,4, foram retirados 10 µL das diluições seriadas (1: 20 a 1: 1.280), e dispostos sobre os parasitos, fixados na lâmina. Após incubação por 40 min a 37°C, em câmara úmida, as lâminas foram lavadas três vezes com PBS, pH 7,4. A montagem das lâminas com lamínulas foi feita sobre a glicerina tamponada, em pH 9,0. A leitura foi realizada em microscópio de fluorescência (*Olympus®* BX 51), cuja luz ultravioleta ativa o isotiocianato de fluorescência presente apenas nos parasitos com anticorpos ligados à membrana. Para amostra ser considerada positiva, a fluorescência verde brilhante obtida precisa ter títulos menores ou iguais a 1:40.

Assim como para a análise de IFI, o teste ELISA foi realizado com antígenos epimastigotas de *T. cruzi*. As formas infectantes foram centrifugadas a 3 mil rpm durante 15 minutos a 4°C, e lavadas três vezes em PBS, pH 7,4, pelo mesmo período de tempo e então suspensas em 2 ml de

água Milli-Q, passando por três ciclos de congelamento a -20°C e descongelamento a 37°C . Após a lise das epimastigotas, a suspensão foi centrifugada a 5 mil rpm durante 15 minutos, a 4°C . O sobrenadante foi então coletado, ultracentrifugado a 14 mil rpm, durante 10 minutos e suspenso em 2ml de água destilada. A concentração de proteínas foi determinada pelo método de Bradford (1976) e as alíquotas dos extratos foram mantidas a -80°C até o momento do uso.

A sensibilização das placas de ELISA com o antígeno foi realizada em microplacas de fundo chato com 96 poços. Cada placa foi sensibilizada com 50 μL por poço do antígeno, posteriormente diluída em PBS, em pH 7,4 para concentração de 0,2 μg do antígeno de *T. cruzi* em cada poço. A incubação ocorreu por 18 horas, a 4°C , em câmara úmida *overnight*. O excesso do antígeno foi descartado e as placas foram lavadas por três vezes com PBS, em pH 7,4, contendo 0,05% de *Tween-20* (PBS-T). Para impedir que sítios inespecíficos de adesão de proteínas se formassem na placa, foram adicionados 100 μL em cada poço de PBS com leite desnatado 5% (Molico, Nestlé). Após incubação, ocorrida por mais 2 horas a 37°C , em câmara úmida, o excesso foi retirado e as placas foram novamente lavadas por três vezes com PBS-T e sensibilizadas, envoltas em papel alumínio, e armazenadas a -20°C até que fossem utilizadas.

Com o objetivo de detectar os anticorpos específicos, a incubação com o primeiro anticorpo, juntamente com os soros dos indivíduos das famílias do estudo, foi diluído 1:100 em PBS com leite desnatado a 2%, e adicionados à placa (50 μL /poço, em triplicata). Após incubação por 2 horas a 37°C , em câmara úmida, o excesso foi retirado e mais uma vez lavado três vezes com PBS-T. Os controles positivos e negativos foram inseridos nas placas nas mesmas condições. Para controle dos reagentes, foram colocados nos poços de placas apenas dos PBS com leite desnatado a 2%.

Para a incubação com o segundo anticorpo, o conjugado de anticorpo anti-IgG humano foi marcado com peroxidase (Invitrogen-ZyMax™). O anticorpo foi diluído em 1:5 mil com PBS e leite desnatado 2%, previamente testado e titulado e adicionado à placa (50 μL em cada poço). Após incubação por mais de 2 horas a 37°C , em câmara úmida, o excesso foi retirado e as placas foram lavadas, por três vezes, com PBS-T.

A revelação dos imunocomplexos foi realizada com adição, em 50 µl/poço, do substrato H₂O₂-Peróxido de Hidrogênio (Merke). Isso aconteceu na diluição de 2 µl em 5 ml de tampão citrato de sódio/ácido cítrico, em pH 5,0, contendo 2 mg do cromógeno OPD-*o*-Phenylenediamine dihydrochloride-Sigma. Após o desenvolvimento da reação cromógena por 5 minutos, em temperatura ambiente, na ausência de luz, a reação foi interrompida pelo acréscimo de 50 µl ácido sulfúrico em cada poço. A leitura, realizada em espectrofotômetro *Bio TeK-Synergy HT*, a 490 nm. A plotagem de densidade óptica (DO), de soros padrão positivos compôs um gráfico com ponto de corte entre os resultados positivos e negativos: os soros positivos apresentaram DO acima do ponto de corte, e os soros negativos abaixo.

Foram considerados indivíduos sorologicamente reagentes ao parasito aqueles que apresentaram para ELISA o resultado iguais ou maiores que 1,2 e resultados de IFI iguais ou maiores que 1/60 em conjunto. Aqueles indivíduos que apresentaram para ELISA 0,9 - 1,1 e/ou 1/20 - 1/40 no IFI foram considerados inconclusivos e títulos até 1/10 para IFI e/ou ELISA 0,1 - 0,8 foram considerados não reagentes para *T. cruzi* (OSTERMAYER & CASTRO, 1997).

3.2.4.2 Extração de DNA das amostras sanguíneas

Para a análise biomolecular foram utilizados 15 ml de sangue venoso de cada indivíduo. O DNA das amostras de sangue, armazenado em EDTA, foi extraído com o auxílio do kit Promega Wizard Genomic DNA Purification. Este protocolo consistiu na adição de 10 mL de sangue venoso a tubos Falcon contendo 30 mL de Cell Lysis Solution. As amostras foram então homogeneizadas, incubadas em temperatura ambiente por 10 minutos, e centrifugados a 2000 x g por 10 min. O sedimento foi suspenso em 10 mL de Nuclei Lysis Solution e homogeneizado em vortex; as membranas nucleares das células da série branca do sangue foram lisadas com pipeta para liberação do DNA nuclear e o sobrenadante descartado.

Foi adicionada à solução 20 µg/mL de RNase, e então incubada a 37°C por 15 minutos e a ela adicionada 3,3 mL de Protein Precipitation Solution. Em seguida a solução foi homogeneizada no vórtex durante 20 segundos e

centrifugada a 2000 g, por 10 minutos. O sobrenadante com o DNA foi transferido para novo tubo estéril, ao qual foi adicionado 10 mL de isopropanol e então centrifugado a 2000 g durante 1 min. Uma vez descartado o sobrenadante, adicionou-se ao tubo 10 mL de etanol 70%, e o mesmo foi centrifugado a 2000 g por 1 min. O etanol foi aspirado e os tubos em repouso ficaram abertos, overnight, para secagem do álcool. O DNA foi então suspenso com 800 µl de DNA Rehydration Solution, e armazenado a 4° C para reidratação. O material genético foi guardado em tubos estéreis de 1,5 ml a temperatura de -20°C. As amostras de DNA foram quantificadas no NanoDrop2000® e as alíquotas de 20 µL foram diluídas para concentração final de 100 µg/µl de DNA usada na *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

As amostras de DNA extraídas foram conduzidas, de forma refrigerada, para o Laboratório Multidisciplinar em Doença de Chagas da Universidade de Brasília onde foram quantificadas e devidamente condicionadas até serem transportadas para o Laboratório de Genética Molecular e Citogenética do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás onde foram analisadas.

3.2.4.3 Reação em Cadeia da Polimerase das Amostras Sanguíneas

A PCR para identificação do material nuclear do *T. cruzi* (nDNA) foi conduzida utilizando os *primers* TCZ1 e TCZ2 (MOSER et al, 1989), que amplificam uma região de 188 pb do telômero do *T. cruzi*. As reações foram realizadas com 200 ng de DNA, 2,5 µL de Tampão TE 10X, 1,25 µl de magnésio a 50mM, 0,5 µL de dNTPs a 10 mM e 2 U de Platinum Taq polymerase INVITROGEN®, 0,25 µl de cada primer na concentração de 10 mM e água ultrapura até o volume final de 25 µl. O termociclador BioRad foi programado para ciclos de 95°C durante 5 min, 40 ciclos de 95°C durante 30 segs, 68°C durante 1 min, 72°C por mais 1 minuto e, por fim, 72°C por 5 min, e refrigeração a 4°C.

A fim de aumentar a sensibilidade e a especificidade da reação nas amostras cuja concentração de DNA era baixa (Abaixo de 20 ng/µl), foi realizada uma variação da técnica *Nested* PCR. Dessa forma, os produtos da

PCR convencional foram novamente amplificados, com os mesmos *primers*, nas mesmas condições de ciclagem que a PCR.

Os resultados obtidos pelas análises de PCR estão apresentados no apêndice 5.

3.2.4.4 Seleção das Amostras de Sêmen para Análise

A seleção das amostras de sêmen para análise, foi realizada a partir dos resultados obtidos pela análise molecular (PCR). Para a avaliação da amostra de sêmen foram selecionadas amostras de cujos pacientes tiveram a infecção confirmada pela técnica de PCR (nDNA+ em amostras sanguíneas).

3.2.4.5 Extração de DNA das Amostras de Sêmen

A extração do DNA nas amostras de sêmen foi realizada, de acordo com o método de Carter e colaboradores (2000). Inicialmente os espermatozoides, ressuspensos em PBS, foram centrifugados a 1.300 x g. Ao sedimento adicionou-se 3 mL de tampão de extração (10mM Tris, 10 mM NaCL, 20 mM EDTA, 1% SDS, 0,04% proteinase K, 1% DTT) e incubados por 2 horas a 55°C.

A extração de DNA dessas amostras seguiu o protocolo de Sambrook e Russel (2001). Nesse procedimento as amostras no tampão de extração foram submetidas a duas extrações, sendo uma com 3 mL de Clorofane (fenol: clorofórmio: ácido isoamílico, proporção 25:24:1) e uma outra com o mesmo volume de Clorofil (clorofórmio:álcool isoamílico, proporção 24:1). A separação da fase orgânica da aquosa foi realizada pela centrifugação a 5 mil x g durante 15 minutos. Após essa etapa, as amostras foram mantidas a -80°C para a precipitação do DNA, em 5 V de etanol 100%, seguida de incubação de 12 horas a -80°C. Em seguida o sedimento foi lavado duas vezes com etanol 70%, gelado, secado e ressuspenso em 500 µl de tampão TE (10mM Tris HCl pH 8,0; 1 mM EDTA pH 8,0) a 37°C por 12 horas.

O DNA resultante da extração foi quantificado em espectrofotômetro. Sua integridade foi avaliada por meio da técnica de eletroforese, utilizando um gel de agarose 0,8% corado com 0,5 mg/ml de brometo de etídio. Após esse

processo as amostras foram armazenadas a -20°C até o momento de sua análise.

3.2.4.6 Reação em Cadeia da Polimerase das Amostras de Sêmen

Os *primers* utilizados, TCZ1 e TCZ2 (MOSER et al, 1989) amplificam uma região de 188 pb do telômero do *T. cruzi*. As reações foram feitas, em triplicata, com 2 µL de DNA, 2,5 µL de Tampão TE 10X, 1,25 µL de magnésio a 50mM, 0,5 µL de dNTPs a 10 mM e 2 U de Platinum *Taq polymerase* INVITROGEN®, 0,25 µL de cada primer na concentração de 10 mM e água ultrapura até o volume final de 25 µL. O termociclador BioRad foi programado para ciclos de 95°C durante 5 min, 40 ciclos de 95°C durante 30 segs, 68°C durante 1 min, 72°C por mais 1 minuto e, por fim, 72°C por 5 min, e refrigeração a 4°C.

3.2.4.7 Eletroforese em Gel de Agarose

A técnica de eletroforese foi realizada em gel de agarose (Invitrogen) a 1,5%, corada com brometo de etídeo 0,4 µg/ml, submerso em tampão TBE diluído a 1X. A migração dos fragmentos de DNA amplificado foi visualizada pela exposição do gel à radiação ultravioleta no aparelho Ômega UltraLum com software UltraQuant®. Para ser considerado como positiva, a amostra de *T. cruzi* deveria ter a banda de tamanho de 188 pares de base (pb).

3.2.4.8 Sequenciamento da Amostra de Sêmen

A fim de confirmar a presença do material genético do *T. cruzi* nas amostras de sêmen, as mesmas foram enviadas para sequenciamento.

O preparo das amostras foi realizado de acordo com as recomendações do fabricante Myleus Biotecnologia e o sequenciamento de eletroforese capilar processado no aparelho ABI3730 Applied Biosystems com o polímero POD7 e BigDye™ v3.1.

Foram adicionados a microtúbulos 200µl, 20µg de DNA, 1µl dos *primers*, TcZ1 e TcZ2, e água ultrapura até completar o volume final de 7,5µl.

Os eletroferogramas foram analisados utilizando os programas ChromasPro DNA Sequencing Software, BioEdit 7.2 e Bloco de Notas. Para o controle positivo foi utilizada uma amostra do material genético do *T. cruzi* enquanto para o controle negativo foram utilizados tubos sem amostras assim como uma amostra de sêmen nDNA negativo.

Após a amplificação das sequências, as mesmas foram analisadas na plataforma *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) tendo como base as sequencias encontradas no banco de dados do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), afim de comparar as sequencias homólogas ao DNA humano e do *T. cruzi*.

3.2.5 Identificação da Transmissão Sexual

A triagem dos casos de infecção pela via sexual teve início com o diagnóstico da infecção dos casais, feito com técnicas sorológicas e moleculares. A partir do diagnóstico de infecção para *T. cruzi* obtido pela técnica de PCR, os casais foram classificados em 4 grupos: 1. Casais Homens -/Mulheres - (H-/M-); 2. Casais Homem +/Mulher - (H+/M-); 3. Casais Homem -/Mulher + (H-/M+) e 4. Casais Homem +/Mulher + (H+/M+).

A identificação da infecção pela via sexual foi realizada mediante associação entre os achados moleculares das análises de sêmen dos casais com as informações obtidas pelo formulário, que excluíram a contaminação pelas outras formas transmissão do *T. cruzi*.

Uma vez que só foram avaliadas amostras sexuais de participantes do sexo masculino, considerou-se a transmissão pelo *T. cruzi* foi induzida via coito naqueles casais preenchiam os seguintes critérios: 1. Ambos parceiros haviam sido positivos, pela técnica de PCR; 2. Presença do material genético do parasito na amostra de sêmen; 3. Parceira sexual não havia sido exposta a infecção por nenhuma outra via vetorial, transfusional e/ou gestacional (informações extraídas dos formulários respondidos).

3.2.6 Análise Estatística

Foi realizada análise estatística descritiva dos dados com apresentação das frequências absolutas (n) e relativas (%). Foram realizados os testes de qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher (5 ou menos observações). A análise foi realizada no software STATA, versão 14.0. O nível de significância adotado foi de 5%.

3.2.7 Aspectos Éticos da Pesquisa

Os indivíduos da amostra aderiram ao estudo voluntariamente, de acordo com as normas aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) de Seres Humanos, aprovada pelo CEP da Faculdade de Medicina/UnB (CEP-FM n°25000.167567/2004-28) (Anexo 3).

Os resultados desta tese estão apresentados sob a forma de artigos científicos, formatados de acordo com as normas de submissão das revistas aos quais serão submetidos:

Artigo 1 Translations of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene

Artigo 2 Memórias do Instituto Oswaldo Cruz

4.1 Transmissão Sexual de Protozoários Antropozoonóticos Sanguíneos : Uma Revisão de Escopo

M. L. Costa¹, J.E. Santos¹, R.M.O Lopes², A.R.V. Souza³, E. P. Silveira-
Lacerda⁴, M.T. A. Garcia-Zapata⁵

¹ Postgraduate Program in Health Science, Federal University of Goiás, Brazil

¹ Faculty of Medicine, Federal University of Goiás, Brazil

³ Biology Institute Post-Graduation Program, Federal University of Goiás, Brazil

⁴ Center for Human Genetics, Federal University of Goiás, Brazil

⁵ Institute of Tropical Pathology and Public Health, Federal University of Goiás,
Brazil

RESUMO

Os tripanosomatídeos protistas (Eukaryota, Excavata, Euglenozoa) pertencem à classe Zoomastigophora, que inclui a interessante Ordem dos Cinetoplastídeos, com importância médica e biológica. Este trabalho teve como objetivo reportar que os protozoários da Ordem Kinetoplastida (*Trypanosoma cruzi*, *Leishmania* sp, *T. brucei gambiense*, *T. evansi*, *T. congolense*, *T. equiperdum*, *T. vivax*) podem ser transmitidos sexualmente. A busca aconteceu nos bancos de dados PubMed, Lilacs, Global Health e Portal Capes, nos idiomas inglês, português e espanhol. Foram utilizadas as palavras-chave Tripanosomatidae, *Trypanosoma*, *Leishmania*, transmissão sexual, esperma, secreção vaginal, órgãos sexuais, masculino e feminino, com o indexador booleano AND e selecionados trabalhos publicados até o ano de 2020. Os relatos da literatura mostraram o achado dos protozoários em órgãos reprodutivos e fluídos sexuais, assim como a transmissão sexual dos parasitos aos parceiros sexuais e à progênie. Esta revisão conclui que há transmissão sexual destes tripanosomas aos parceiros sexuais. Essa revisão atualiza as informações contidas nos relatórios a cerca das doenças sexualmente transmissíveis provocada por protozoários

Palavras-chave : transmissão sexual, tripanosomatídeos ; parasitas sanguíneos.

INTRODUÇÃO

Infecções sexualmente transmissíveis (IST) são transmitidas por homens e mulheres aos seus parceiros sexuais assim como verticalmente, da mãe e do pai infectado ao filho. Achados científicos informam a cerca de várias espécies de bactérias, vírus, protozoários, possivelmente afetando mais de um milhão de pessoas^{1,2}.

Mundialmente, mais de 1 milhão de ISTs são adquiridas diariamente entre indivíduos com 15 a 49 anos ^{2,3} e essas infecções agravam a saúde e os hábitos sexuais dos infectados. As IST podem ser assintomáticas e esse silêncio impede a assistência à saúde; no entanto frequentemente essas infecções produzem sintomas e sinais iniciados com inflamação tecidual, infertilidade, aborto espontâneo, aborto, infecções no recém-nascido e problemas de saúde^{1,2}. Modificações no estado de saúde durante as ISTs podem gerar doenças somáticas e problemas psicológicos⁴. O papilomavírus humano (HPV) e o vírus infeccioso da imunodeficiência adquirida (HIV-AIDS), as bactérias *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum* causam, respectivamente, o HPV, AIDS, clamídia, gonorreia e sífilis. *Trichomonas vaginalis*, protozoário da Ordem Trichomonadidae, causador da tricomoníase, é a doença sexualmente transmissível mais frequente⁵. No Filo Apicomplexa, o *Toxoplasma gondii* é um protozoário que pode ser transmitido da mãe para o filho através de transplante de sangue e órgãos⁶.

Além disso, os protozoários da ordem Cinetoplastídeos são parasitos flagelados que causam doenças em animais vertebrados. Esses agentes possuem DNA mitocondrial simbiótico formado por maxicírculos, minicírculos e citocromo C associado ao ciclo respiratório oxidativo e à produção de energia. Os protozoários *Trypanosoma cruzi* ⁷⁻¹⁰, *T. vivax*, *T. brucei gambiense*, *T. congolense*, *T. equiperdum*, *T. evansi* e *Leishmania* sp possuem sua importância epidemiológica e geram preocupação para a saúde

pública. De grande prevalência endêmica, todos esses protozoários podem ser transmitidos para machos e fêmeas saudáveis¹¹⁻¹⁵.

Foi relatado que protozoários parasitos estão associados a lesões inflamatórias em órgãos reprodutivos¹⁶⁻²³ e alterações inespecíficas nos espermatozoides de humanos, naturalmente infectados e de vertebrados experimentalmente. Esses protozoários foram relatados nos órgãos reprodutivos de mamíferos e nos flagelados liberados nos espermatozoides, no sangue menstrual e nas secreções. Os fluidos sexuais podem liberar micróbios patogênicos e proliferar na linha germinativa e nas células somáticas do hospedeiro⁴. A presença desses protozoários colonizando essas estruturas favorece sua liberação nas secreções sexuais (sêmen e sangue menstrual) assim como sua colonização dos órgãos genitais externos, o que propicia sua contaminação pela via sexual, o que alerta para a importância de estudos que investiguem a transmissão sexual desses protozoários. Nesse sentido, objetivou-se, com este trabalho, selecionar trabalhos que evidenciassem a possibilidade de os Tripanosomatídeos serem transmitidos pela via sexual.

MATERIAIS E MÉTODOS

Recorte Experimental

Esta revisão de escopo foi conduzida seguindo o protocolo PRISMA-ScR, depositado no Registro Prospectivo Internacional de Revisões Sistemáticas PROSPERO CRD42021239112.

Crítérios de Elegibilidade

Os relatos da presença dos tripanosomatídeos em órgãos sexuais e secreções sexuais apontam para a possibilidade desses parasitos serem transmitidos para o parceiro através do sexo, independente da espécie analisada. Baseados nesses registros, foram estabelecidos os seguintes critérios de elegibilidade para os trabalhos que comporão as fontes de evidência: relato de casos, estudos pré-clínicos e/ou experimentais; estudos em que fossem encontrados os protozoários da família Trypanosomatidae

em órgãos e secreções sexuais de animais e humanos, publicados no período de 1990 a 2021 nos idiomas inglês, espanhol e português.

Estratégia de Pesquisa

Os bancos de dados PubMed, Lilacs, Global Health e Portal Capes foram escolhidos para busca dos trabalhos.

Visando selecionar trabalhos que contemplem o tema proposto, foram escolhidos os seguintes termos: Trypanosomatídeos, *Trypanosoma*, *Leishmania*, Transmissão sexual, Sêmen, Secreção vaginal, Aparelho reprodutor, Macho e Fêmea com o indexador booleano AND (Tabela 1) O mesmo arranjo de termos foi utilizado em todos os bancos de dados, sendo pesquisados nos três idiomas, de forma distinta.

A busca pelos trabalhos foi realizada em Junho de 2021 por dois pesquisadores independentes, de forma simultânea em cada um dos bancos selecionados. Os pesquisadores utilizaram o programa EXCEL® para compilar os dados dos artigos selecionados em cada banco, assim como o link da pesquisa e dos trabalhos encontrados. A equipe também foi composta por dois referees que auxiliaram na solução das divergências ocorridas entre o par de pesquisadores.

Banco de Dados	Estratégia de Pesquisa
PubMed	“Tripanosomatídeos” AND “Transmissão Sexual” AND “Sêmen”
Lilacs	“Tripanosomatídeos” AND “Transmissão Sexual” AND “Secreção Vaginal”
Global Health	“Tripanosomatídeos” AND “Transmissão Sexual” AND “Aparelho Reprodutor” AND “Feminino”
Portal Capes em inglês/espanhol/português	“Tripanosomatídeos” AND “Transmissão Sexual” AND “Aparelho Reprodutor” AND “Masculino”
	“Tripanosomatídeos” AND “Transmissão Sexual” AND “ <i>Trypanosoma</i> ”

“Tripanosomatídeos” AND “Transmissão Sexual” AND “*Leishmania*”

“Trypanosomatids” AND “Semen” AND “*Trypanosoma*”

“Trypanosomatids” AND “Semen” AND “*Leishmania*”

“Tripanosomatídeos” AND “Secreção Vaginal” AND “*Trypanosoma*”

“Tripanosomatídeos” AND “Secreção Vaginal” AND “*Leishmania*”

“*Trypanosoma*” AND “Semen”

““*Trypanosoma*” AND “Secreção Vaginal”

““*Trypanosoma*” AND “Transmissão Sexual”

“*Leishmania*” AND “Semen”

“*Leishmania*” AND “Secreção Vaginal”

“*Leishmania*” AND “Transmissão Sexual”

Todo o processo de seleção dos trabalhos, também realizado pelos dois pesquisadores, ocorreu seguindo os critérios de elegibilidade. Dessa forma, após a busca, foi realizada a seleção dos trabalhos pelo título, seguida da eliminação dos trabalhos que estavam em duplicidade. O próximo passo da triagem consistiu na leitura dos resumos e posteriormente do trabalho na íntegra.

A seleção de trabalhos publicados em revistas científicas garante que os mesmos foram criticamente avaliados quanto a originalidade, relevância, assim como obtenção e confirmação dos resultados.

Extração e Apresentação dos Dados

Os resultados foram categorizados de acordo com a espécie de tripanosomatídeo avaliada, assim como a espécie de hospedeiro, qual órgão e secreção sexual esses parasitos foram encontrados, o tipo de método de análise das amostras biológicas, e se houve ou não a transmissão dos parasitos pelo acasalamento.

Para a obtenção de tais informações foi criada, pela equipe envolvida, uma tabela de extração de dados, contendo também os resultados obtidos em cada estudo.

RESULTADOS

Foram identificados na pesquisa 2.355 artigos, publicados no período de 1990 a 2020. Destes 279 foram excluídos por duplicação e 1.995 foram eliminados por não se tratar de tripanosomatídeos e/ou por não avaliarem a presença destes nos órgãos e secreções sexuais, assim como a transmissão sexual; 81 trabalhos tiveram seus resumos lidos, mas 54 foram excluídos por se tratar de trabalhos que avaliaram a qualidade dos fluídos sexuais dos animais contaminados assim como dos efeitos histopatológicos provocados pelos protozoários nos órgãos sexuais. Nesse sentido foram selecionados para esta análise 27 artigos (Figura 1).

Os resultados são apresentados nas tabelas 1, 2 e 3. Os critérios utilizados foram observados nos artigos selecionados a seguir: 1) Demonstração direta do protozoário causador da infecção nos tecidos corporais; 2) Presença das formas parasitárias em órgãos reprodutivos: ovário, trompas de falópio, endométrio, secreções vaginais, sêmen, testículos, epidídimo, vesícula seminal e canal deferente; 3) Demonstração dos protozoários no sêmen por microscopia e teste nuclear de DNA-PCR; 4) Transferência vertical das infecções através de cruzamentos de parceiros sanguíneos infectados por protozoários para receptores saudáveis

A tabela 1 mostra relatos de tripanosomas africanos de doenças sexualmente transmissíveis¹⁸⁻²³. Estas infecções são transmitidas por mostas tsé-tse e são conhecidas por serem transmitidas sexualmente a animais vertebrados e humanos. As descobertas sugerem que os tripanosomas africanos podem se dispersar pelo mundo.

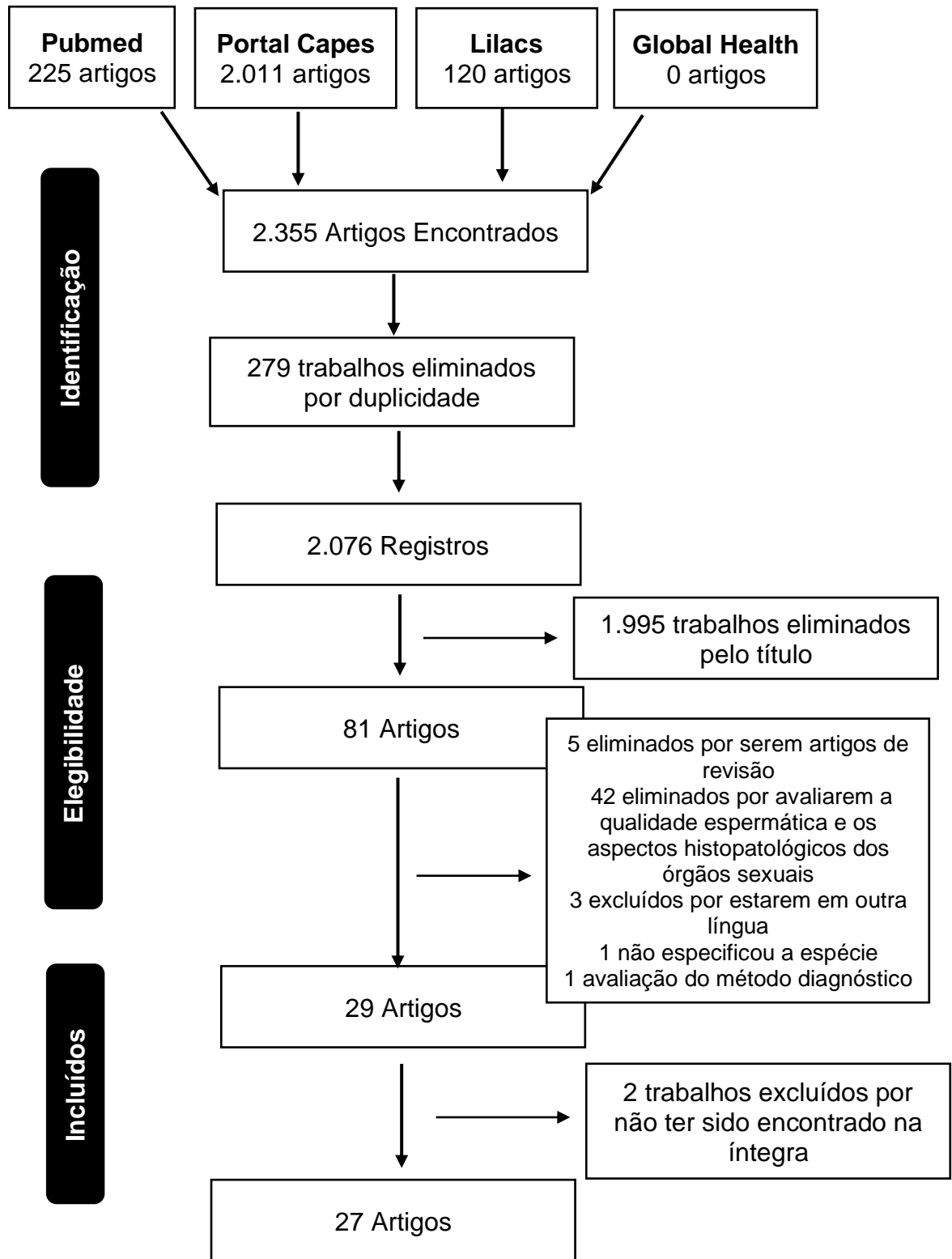


Figura 1: Diagrama de Fluxo PRISMA

Tabela 1. Evidência de transmissão sexual de tripanosomas africanos para animais vertebrados

Autor/Ano	Tripanosomatídeo	Hospedeiro	Demonstração de Parasito*	nDNA-PCR Indireta**
Omeke & Onuora/1992 ¹⁸	<i>T. brucei/congolense</i>	<i>Sus scrofa</i>	Gônada	NR
Biteau <i>et al.</i> /2015 ¹⁹	<i>T. brucei gambiense</i>	<i>Mus musculus</i>	Gônada	Sim
Da Silva <i>et al.</i> /2016 ²⁰	<i>T. evansi</i>	<i>Ovis aries</i>	Sêmen	NR
Bezerra <i>et al.</i> /2018 ²¹	<i>T. vivax</i>	<i>Ovis aries</i>	Sêmen	Sim
Yasine <i>et al.</i> /2019a ²²	<i>T. equiperdum</i>	<i>Equus ferus</i>	Vesicula Seminal	Sim
Yasine <i>et al.</i> /2019b ²³	<i>T. equiperdum</i>	<i>Equus ferus</i>	Gônada	Sim

*. Trypanosomatídeos no tecido do hospedeiro demonstrado por microscopia.

** Demonstração do parasito por DNA-PCR nuclear.

NR, não realizado

Os enzoóticos *T. brucei* e *T. equiperdum*, na África, provocam, respectivamente a doença do sono e durina em cavalos (*Equus syphilis*). O *T. evansi*, por sua vez, causa durina em ovelhas (*Ovis aries*) em países orientais, como a América do Sul. A vigilância epidemiológica e a pesquisa criativa devem antecipar a sua possível propagação no Hemisfério Norte^{18-20,22-23}. O *Trypanosoma vivax* produz doenças em ruminantes, cavalos, roedores através da mosca *Glossina* sp²¹. As infecções estão associadas à anemia e estado febril persistente e causam aborto espontâneo, aborto e morte perinatal.

As espécies de *Leishmania* são transmitidas pelo *Phlebotomus papatasi*, vetor da leishmaniose cutânea e visceral (Calazar), para humanos e cães. A Tabela 2 mostra as evidências de transmissão sexual de *Leishmania infantum* e *Leishmania chagasi* em cães e roedores. Quatorze relatórios documentaram os protozoários parasitas nos testículos e ovários, confirmando assim a possível transmissão sexual das infecções^{7, 15-26}. Um relato demonstrou *L. chagasi* nos órgãos de reprodução consistentes com transmissão sexual em hamsters (*Rodentia muridae*).

Infecções por *Trypanosoma cruzi* são adquiridas por diversas vias⁴. Desde sua descoberta, é de conhecimento atual que a tripanossomíase americana é transmitida por insetos da família Triatominae: *Triatoma infestans*, *Panstrongylus megistus* e *Rhodnius prolixus* e mais de 40 espécies ocasionalmente associadas à doença de Chagas. O parasito *T. cruzi* completa seu ciclo de vida no trato intestinal dos triatomíneos, e os tripomastigotas infectantes morrem nas excretas. Após refeição completa, o inseto geralmente foge rapidamente da presa. Os tripomastigotas podem contaminar hospedeiros humanos através da pele; ainda assim, é necessário que o inseto permaneça próximo à ferida para que a pele lesada seja contaminada: o *T. cruzi* na excreta invade o local da picada ou causa contaminação acidental da conjuntiva ocular. No entanto, mamíferos onívoros que devoram triatomíneos infectados pelo protozoário adquirem infecções e espalham a doença zoonótica de Chagas. Cães e gatos podem pegar *T. cruzi* limpando o pelo⁴.

Tabela 2. Evidência de transmissão sexual de Leishmaniose em vertebrados

Autor/ano	Tripanosomatideo	Hospedeiro	Demonstração do Parasito	nDNA-PCR **
Diniz et al./2005 ¹⁷	<i>Leishmania</i> sp.	<i>Canis familiaris</i>	Sêmen	Sim
Silva et al./2009 ²⁴	<i>L. infantum</i>	<i>Canis familiaris</i>	Sêmen	Sim
Teichman et al. 2011 ²⁵	<i>Leishmania chagasi</i>	<i>Canis familiaris</i>	Testículos	Sim
Naucke & Lorentz. 2012 ²⁶	<i>Leishmanai</i> sp.	<i>Canis familiaris</i>	Cruzamento	NR
Manna et al. /2012 ²⁷	<i>L. infantum</i>	<i>Canis familiaris</i>	Testículos	NR
Silva et al /2014 ²⁸	<i>L. infantum</i>	<i>Canis familiaris</i>	Sêmen	Sim
Karkamano et al. /2014 ²⁹	<i>Leishmannia</i> sp	<i>Canis familiaris</i>	Cruzamento	Sim
Boechat et al. /2016 ³⁰	<i>L. infantum</i>	<i>Canis familiaris</i>	Testículo	Sim
De Oliveira et al. /2016a ³¹	<i>L. infantum</i>	<i>Canis familiaris</i>	Testiculo	NR
De Oliveira et al. /2016b ³²	<i>L. infantum</i>	<i>Canis familiaris</i>	Ovário	NR
Quintal et al. /2016 ³³	<i>L. chagasi</i>	<i>Rodentia muridae</i>	Testículo	Sim

Magro et al. /2017 ³⁴	<i>L. infantum</i>	<i>Canis familiaris</i>	Secreção vaginal	Sim
Carvalho et al. /2017 ³⁵	<i>Leishmania</i> sp.	<i>Canis familiaris</i>	Testículo	Sim
Boechat et al. /2020 ³⁶	<i>L. infantum</i>	<i>Canis familiaris</i>	Testículos e vagina	Sim

*Demonstração direta do parasito nas amostras teciduais

** Diagnóstico realizado por DNA-PCR nuclear

*** NR, não realizado

A doença de Chagas congênita é denominação misógina porque isenta o pai da fecundação da mãe e, portanto, a transmissão sexual da infecção pelo *T. cruzi* poderia ser considerada a principal via de aquisição da doença, que poderá se tornar uma pandemia nas próximas décadas⁴. Os relatos que sugerem transmissão sexual da doença de Chagas estão na Tabela 3.

Tabela 3. Evidências da transmissão sexual do *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas em mamíferos, incluindo humanos.

Autor/ano	Hospedeiro	Demonstração do Parasito *	nDNA-PCR
Herrera & Urdaneta-Morales /2001 ³⁷	<i>Mus musculus</i>	Testículos e ovários	NR
Cabrine-Santos et al. /2003 ³⁸	<i>Mus musculus</i>	Testículos	Sim
Carvalho et al. /2009 ³⁹	<i>Mus musculus</i>	Testículos	Sim
Alarcon et al. /2011 ⁴⁰	<i>Mus musculus</i>	Sêmen	Sim
Araujo et al. /2012 ⁴¹	<i>Human sapiens</i>	Sêmen e sangue	Sim
Ribeiro et. al. 2016 ⁴²	<i>Mus musculus</i>	Testículos	NR
Araujo et al. /2017 ⁴³	<i>Homo sapiens</i>	Sêmen	Sim
Rios et al. /2019 ⁴⁴	<i>Mus musculus</i>	Cruzamento	Sim
Almeida et al. /2019 ⁴⁵	<i>Homo sapiens</i>	Sêmen e sangue	Sim
Gomes et al. /2019 ⁴⁶	<i>Homo sapiens</i>	Sêmen e sangue	Sim

*Demonstração do *T. cruzi* em tecidos e secreções por hemocultura e microscopia

** *T. cruzi* foi documentado em sangue e sêmen através da PCR nuclear (nDNA-PCR)

NR: Não Realizado

De 1991 a 1999, houve escassez de estudos sobre a transmissão sexual de infecções provocadas por *T. cruzi* e o assunto está relatado em um estudo publicado na Argentina³⁷, em 2001 (Tabela 3). Estudos em humanos foram iniciados durante surtos agudos da Doença de Chagas na Amazônia. Avaliação clínica, epidemiológica e sorológica de 109 membros de quatro famílias com 21 casos da doença aguda e o parasito no sangue. Observou-se uma clara diferença entre os resultados dos ensaios de anticorpos ELISA e IFI, 28,4% (31/109), e os da PCR de DNA nuclear, 71,6% (83/109)⁴¹. Neste mesmo estudo foi identificada a presença do protozoário em 19 amostras de sêmen em indivíduos na fase crônica da doença. A infusão de uma dessas amostras de sêmen positivo para PCR-nDNA na vagina de camundongos resultou na aquisição de infecção sistêmica pelo parasito sanguíneo. Os cruzamentos de fêmeas de Chagas com camundongos machos saudáveis geraram 52% de progênie com *T. cruzi* transmitido verticalmente no sangue⁴²⁻⁴⁵ (38-43). A técnica altamente sensível e específica de nDNA-PCR utilizando *primers* TcZ1/TcZ2⁴¹⁻⁴² que se ligam à região dos telômeros do genoma pode detectar apenas 1/24 fentogramas do DNA diploide do *T. cruzi*, totalizando 240fg. A alta sensibilidade do nDNA-PCR significa que o único parasita pode ser detectado por esse método⁴¹⁻⁴².

DISCUSSÃO

Os protozoários da família Trypanosomatidae, Ordem Kinetoplastidae, são agentes de doenças infecciosas antroponóticas endêmicas de importância médica e veterinária. Várias rotas dessas infecções foram descritas: transmissão por insetos vetores, alimentos crus, contaminados, transfusão de sangue, infecções adquiridas em hospitais e laboratórios de pesquisa. Esta revisão apresenta o conceito de que a maioria das infecções por protozoários sanguíneos são transmitidas de pais infectados para parceiros saudáveis através do sexo. A transmissão vertical da infecção por protozoários sanguíneos por via sexual não deve ser entendida como transmissão congênita (no útero) porque a aquisição de uma mãe saudável poderia ter ocorrido de um parceiro, via sexual. A misoginia é um mal-entendido. Tripanosomíaseas

Americanas e Africanas assim como a toxoplasmose foram indentificadas, através da PCR do DNA nuclear, bioluminescência, histopatologia e confirmados por imuno-histoquímica de testículos de camundongos e órgãos genitais femininos, porquinhos-da-Índia e javalis (Tabelas 1, 2 e 3).

Tripanosomas Africanos

Análises de bioluminescência de PCR-DNA detectaram a presença do *T. brucei* em órgãos e tecidos reprodutivos de camundongos machos e fêmeas assim como de porquinhos-da-Índia. Curiosamente, testículos, ovários e tubas uterinas geralmente não apresentam reações inflamatórias devido ao fenômeno do privilégio imunológico que evita a perda da função de fertilização⁴⁷⁻⁴⁸. Essas técnicas detectam *T. brucei gambiense* e *T. brucei congolense*, nos testículos e órgãos genitais de porquinhos-da-Índia e javalis¹⁸⁻¹⁹. Por outro lado, cavalos infectados com *T. equiperdum* apresentam Dourina, doença semelhante à sífilis nos humanos²²⁻²³. Esta doença venérea pode ser transmitida tanto por coito quanto por inseminação artificial. Tanto *T. evansi* quanto *T. vivax* tem sido associado à lesões inflamatórias de órgãos sexuais em ovelhas e cabritos, respectivamente²⁰⁻²¹.

Leishmanioses

Quatorze relatos tratam da transmissão sexual de *Leishmania* sp., sugerido pela histopatologia e imuno-histoquímica (Tabela 2). As amastigotas do ciclo de vida intracelular de *Leishmania*, com pequenos cinetoplastos, foram encontrados nos órgãos reprodutivos masculinos e femininos de cães. Esta elevada parasitemia sugere que *Canis familiaris* são reservatórios desses protozoários flagelados, que adquirem a infecção do inseto *Lutzomia longipalpis*, vetor da leishmaniose visceral e tegumentar. O parasitismo persiste ao longo dos estágios agudo e crônico da doença, o que explica a aquisição das infecções através de cruzamentos com parceiros saudáveis. O intenso parasitismo dos testículos, epidídimo, tuba uterina e útero explica a dinâmica de aquisição da leishmaniose^{17,24-25,27-28,30-36}. O diagnóstico laboratorial da leishmaniose é feito por testes de ELISA e IFI, PCR-DNA e análises imunohistoquímicas. O conhecimento das fontes de transmissão da leishmaniose é essencial para erradicação da doença, pois a doença pode ser adquirida sem inseto vetor. A alta parasitemia alcançada nos testículos foi reconhecida por análise patológica^{27,30-31} Este achado tem

sido associado ao fenômeno do privilégio imunológico⁴⁷⁻⁴⁸ embora sejam descritas lesões inflamatórias nos testículos durante infecções por *Leishmania infantum*²⁷.

Trypanosoma cruzi

Investigações preliminares consideram os testículos infectados pelo *T. cruzi* e fluidos seminais impulsionados pelas células mióides dos tubos seminíferos³⁹. Cruzamentos tardios de camundongos machos e fêmeas infectados por *T. cruzi* com parceiros sadios resultaram em transmissão e a infecção chagásica vertical foi identificada na progênie. Homem ou mulher com a infecção chagásica transmitem a infecção pelo *T. cruzi* para a progênie. No nosso estudo, este achado confirma a transmissão vertical de infecções por *T. cruzi* em famílias de humanos que exibem a infecção chagásica aguda em descendentes com tripanossomas no sangue⁴¹. A presença do parasito nos descendentes dessas famílias foi evidenciada pelos exames de anticorpos específicos (ELISA e IFI, 38,2%) e DNA-PCR nuclear (71,6%) positivos. A discrepância é explicada pelo fenômeno de tolerância imunitária observada sempre que o parasito cresce precocemente nas células embrionárias, antes do sistema imune amadurecer⁴¹⁻⁴³. A tolerância imune é fenômeno sistêmico que se encontra associada ao privilégio imune e impede a destruição de órgãos tais como cérebro, olhos, testículos e ovários pela inflamação. A destruição dos órgãos da reprodução pelo processo inflamatório intenso impediria a produção de gametas e a reprodução. Nesse sentido, a análise do DNA nuclear pela técnica de PCR deve ser utilizada nos estudos sobre a transmissão sexual do *T. cruzi* em mamíferos, incluindo humanos. Os estudos realizados nos municípios amazônicos de Breves e Barcarena são semelhantes aos obtidos em famílias dos municípios de São Felipe, Bahia, BR^{41,49} Mais estudos são necessários para determinar a biodiversidade da transmissão de doenças nos países sul-americanos. Nesses estudos, imunohistoquímica, exames anatomopatológicos e nDNA-PCR evidenciaram nichos de *T. cruzi* em órgãos de reprodução e tecidos corporais.

CONCLUSÃO

Esta revisão de relatórios científicos mostra protozoários tripanossomatídeos em fluídos sexuais masculinos e femininos de humanos e de animais de laboratório. A

prevenção e o controle das doenças sexualmente transmissíveis não devem ser excluídos.

Os achados estudo e de investigações prévias mostram que cerca de 38.6% dos chagásicos têm testes de IF e ELISA positivos. Os demais 58.2 dos chagásicos não tem os anticorpos específicos no sangue. Porém, todos os chagásicos (com ou sem anticorpos no sangue) tem o teste nDNA-PCR positivo. Este achado fundamental da investigação mostram que a verdadeira prevalência é a base de ações de saúde para controle da doença de Chagas e, por isso, deve ser observada no combate à pandemia chagásica.

Programas robustos de Educação, Informação e Comunicação (PEICs) devem ser implementados na grande mídia e nas redes sociais com participação da sociedade civil organizada, igrejas, clubes sociais e, principalmente, nas escolas de todo sistema educacional.

As informações contidas nesse relatório são de grande relevância para prevenir a endemicidade de infecções sexualmente transmissíveis. Existem sólidas informações sobre a transmissão sexual dos parasitas sanguíneos aos seus hospedeiros. A escassez de estudos atualizados sobre as ISTs provocadas por protozoários consiste em uma das principais contribuições desta revisão.

REFERÊNCIAS

1. Wihlfahrt K, Gunther V et al. Sexually Transmitted Disease – An Update and Overview of Current Research. *Diagnosis*. 2023;13: e1656.
2. World Health Organization. Global health sector strategies on HIV, viral hepatitis, and sexually transmitted infections for the period 2022-2030. [cited 2024 Mar 10]. Available from: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)).
3. Pan American Health Organization. Sexually Transmitted Infections. [cited 2024 Mar 10] 2024. Available from: <https://www.paho.org/en/topics/sexually-transmitted-infections> .
4. Ribeiro S, Pimental AP, Fernandes VR, Deslandes AC, Amarante P. It is time for more holistic practices in mental health. *PLoS Mental Health*. 2024;1: e0000028.
5. Aral SO, Over M, Manhart L, Homes KK. Sexually Transmitted Infections. Jamison DT, Breman JG et al. *Disease Control Priorities in Developing Countries*. New York: Oxford University Press. 2006.p.311-30.

6. Martinez VO, dos Santos NR et al. Impacto f Chronic Toxoplasmosis in Pregnancy: association between maternam seropositivity for *Toxoplasma gondii* IgG antibodies and fetal growth restriction. *Parasitology Research*. 2024;123.
7. Teixeira ARL, Gomes C et al. Prevention and Control of Chagas Disease – An Overview. *International Sexually Transmitted Disease & Research*.2018; 7:1-15.
8. Teixeira ARL, Roters F, Mott KE. Acute Chagas disease. *Gazeta Médica da Bahia*. 1970; 70:176-186.
9. Ferreira AL, Rossi MA. Pathology of the testis and epididymis in the late phase of experimental Chagas's disease. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*.1973; 22:699-704.
10. Lenzi HL, Castelo-Branco ML et al. *Trypanosoma cruzi*: compromise of the reproductive system in acute murine infection. *Acta Tropica*.1998;71:117-129.
9. Ikede B, Elhassan E, Akpavie S. Reproductive disorders in African trypanosomiasis: a review. *Acta Tropica*. 1998; 45:5-10.
- 10 Teixeira WFP, Tozato MEG et al. Investigation of *Toxoplasma gondii* in semen, testicle, and epididymis tissues of primo-infected cats (*Felis catus*). *Veterinary Parasitology*. 2017; 238:90-93.
11. Singer R, Segeureich E et al. Decreased semen quality in a male infected with malaria. *International Journal of Andrology*. 1987; 10:685-689.
12. Gonzalez J, Gallego E et al. Testicular amyloidosis in hamsters experimentally infected with *Leishmania donovani*. *British Journal of Experimental Pathology*. 1983; 64:518-523.
13. Ikede, B., Elhassan, E. Akpavie, S. Reproductive disorders in African trypanosomiasis: a review. *Acta Tropica*. 1988; 45:5-10.
14. Jensen AM, Xavier SCC, Roque ALR. Chapter 11:*Trypanosoma* (Genus). In: Gardner & S.A. Gardner, *Concepts in Animal Parasitology*. Nebraska: Zea Books; 2024, p.156-181.
15. Orish VN. Chapter 29 - Trypanosomiasis. In: Amponsah, SK, Shegokar, R, Pathak, YV, *Rising Contagious Diseases: Basics, Management and Treatment*. New Jersey: Jonh Wiley & Sons, Inc; 2024, p. 411-37.
16. Visnyaiová K, Varga I et al. Morphology of the immune cells in the wall of the human uterine tube and their possible impact on reproduction—uterine tube as a possible immune-privileged organ. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2024; 12:1-9.

17. Diniz SA, Melo MS et al. Genital lesions associated with visceral leishmaniasis and shedding of *Leishmania* sp. In the semen of naturally infected dogs. *Veterinary Pathology*. 2005; 42:650-658.
18. Omeke BCO, Onuora GI. Comparative effects of *Trypanosoma brucei brucei* and *Trypanosoma congolense* on the reproductive capacity of boars in tsetse-endemic zone. *Animal Reproduction Science*. 1992; 27:225-237.
19. Biteau N, Asencio C et al. *Trypanosoma brucei gambiense* infections in mice lead to tropism to the reproductive organs and horizontal and vertical transmission. *PLoS Neglected Tropical Disease*. 2015; 10:1-15.
20. Da Silva AS, Campigotto G et al. Experimental infections with *Trypanosoma evansi* in rams: presence of parasite in semen, investigation of sexual transmission, hematological, and biochemical alterations. *Comparative Clinical Pathology*. 2016;25, 841-846.
21. Bezerra NM, Moura GHF et al. Detection of *Trypanosoma vivax* DNA in sêmen from experimentally infected goats. *Veterinary Research Communications*. 2018; 42: 131-135.
22. Yasmine A, Ashnafi H et al. Histological lesions in reproductive organs, distal spinal cord, and peripheral nerves of horses naturally infected with *Trypanosoma equiperdum*. *BMC Veterinary Research*. 2019a; 15:1-10.
23. Yasmine A, Daba M et al. Tissue (re)distribution of *Trypanosoma equiperdum* in venereal infected and blood transfused horses. *Veterinary Parasitology*. 2019b; 268:87-97.
24. Silva FL, Oliveira RG et al. Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*. 2009; 160:55-59.
25. Teichmann CE, Da Silva AS et al. Evidence of Venereal and Transplacental Transmission of Canine Visceral Leishmaniasis in Southern Brazil. *Acta Scientiae Veterinarie*. 2011; 39:1-4.
26. Naucke TJ, Lorentz S. First report of venereal and vertical transmission of canine leishmaniosis from naturally infected dogs in Germany. *Parasites Vectors*. 2012; 5:1-5. 2012.
27. Manna L, Paciello O et al. Detection of *Leishmania* parasites in the testis of a dog affected by orchitis: a case report. *Parasites and Vectors*. 2012; 5:1-4.

- 28.** Silva LC, Assis VP et al. Detection of *Leishmania infantum* in the smegma of infected dogs. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2014; 66:731-736.
- 28.** Karkamo V, Kai SA et al. The first report of autochthonous non-vector-borne transmission of canine leishmaniasis in the Nordic countries. Acta Veterinaria Scandinavica. 2014; 56:1-7.
- 30.** Boechat VC, Mendes-Júnior AAV et al. Occurrence of *Leishmania infantum* and associated histological alterations in the genital tract and mammary glands of naturally infected dogs. Parasitology Research. 2016;115:2371-9.
- 31.** De Oliveira VVG, Macedo S et al. Histopathological evaluation and parasite quantification (qPCR) in the male dog's genital system after natural infection with *Leishmania infantum*. Ciência Rural. 2016a; 46:641-47.
- 32.** De Oliveira VVG, De Macedo SRB et al. Correlation between chronic inflammation, immunostaining, and parasite load in the genital system of female dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. Ciência Rural. 2016b; 46:2029-35.
- 33.** Quintal APN, Borges BC et al. Revealing the kinetics of *Leishmania chagasi* infection in the male genital system of hamsters. Infectious Disease of Poverty. 2016; 5:1-5.
- 34.** Magro AG, Assis VP et al. *Leishmania infantum* is present in vaginal secretions of naturally infected bitches at lower levels in estrogenic bitches than in non-nitrogenized bitches. Acta Parasitology. 2017;623:625-29.
- 35.** Carvalho-Jr CG, Teixeira Neto RG et al. Parasitism and inflammation in ear skin and genital tissues of symptomatic and asymptomatic male dogs with visceral leishmaniasis. Parasitology Research. 2017; 116:987-95.
- 36.** Boechat VC, Pereira SA et al. Frequency, active infection, and load of *Leishmania infantum* and associated histological alterations in the genital tract of male and female dogs. PLoS One. 2020; 15:1-18.
- 37.** Herrera, L., Urdaneta-Morales, S. Experimental transmission of *Trypanosoma cruzi* through the genitalia of albino mice. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2001; 96:713-717.
- 38.** Cabrine-Santos M, Santos VM et al. Genitourinary Changes in Hamsters Infected and Reinfected with *Trypanosoma cruzi*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2003; 98: 523-28.

- 39.** Carvalho LOP, Abreu-Silva AL et al. *Trypanosoma cruzi* and myoid cells from seminiferous tubules: interaction and relation with fibrous components of extracellular matrix in experimental Chagas's disease. *International Journal of Experimental Pathology*. 2009; 90:52-57.
- 40.** Alcarón M, Moreno E et al. Presencia de epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* em el plasma seminal de ratones com infección aguda. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*. 2011: 237-40.
- 41.** Araujo PF, Almeida AJB et al. Congenitally Transmitted Immune-Tolerized Cases Account for a Majority of *Trypanosoma cruzi* infections in Pará, Brazil. *Annals Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Rio de Janeiro, 2012.
- 42.** Ribeiro, M, Nitz N et al. Sexual Transmission of *Trypanosoma cruzi* in murine model. *Experimental Parasitology*. 2016; 162:1-6.
- 43.** Araujo PF, Almeida AB et al. Sexual transmission of American Trypanosomiasis in humans: a new potential route for Chagas parasites. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2017; 112:437-46.
- 44.** Rios, A., Ribeiro, M et al. Can sexual transmission support the enzootic cycle of *Trypanosoma cruzi*? *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2018;113:3-8.
- 45.** Almeida AB, Araújo PF et al. Sexual Transmission of American Trypanosomes from Males and Females to Naïve Mates. *Journal of Visualized Experimental*. 2019; 143: 1-12.
- 46.** Gomes C, Almeida AB et al. American Trypanosomiasis and Chagas disease: Sexual transmission. *International Journal of Infectious Disease*. 2019; 81:81-4.
- 47.** Zhao S, Zhu W et al. Testicular defense systems: immune privilege and innate immunity. *Cellular & Molecular Immunology*. 2014; 11:428-37.
- 48.** Turchetti AP, Souza TD et al. Sexual and vertical transmission of visceral leishmaniasis. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2014; 8:403-7.
- 49.** Gomes C, Santos, EJ et al. Blood Transfusion and Diagnostic Accuracy of Chagas Disease. *J Bacteriol Mycol Open Access*. 2019; 7:112-14.

4.2 Relato de Transmissão Sexual do *Trypanosoma cruzi* em Famílias do Recôncavo Baiano, Brasil

Costa ML¹, Santos EJ¹, Araújo PF², Almeida AB³, Teixeira ARL⁴,
Silveira-Lacerda EP⁵, Zapata, MTAG⁶

¹ Postgraduate Program in Health Science, Federal University of Goiás, Brazil

²mm

³mm

⁴Chagas Disease Multidisciplinary Research Laboratory, Center for Advanced Multidisciplinary Studies, University of Brasilia, Brazil

⁵ Biology Institute Post-Graduation Program, Federal University of Goiás, Brazil

⁶ Institute of Tropical Pathology and Public Health, Federal University of Goiás, Brazil

RESUMO

A Doença de Chagas, infecção causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, acomete cerca de 6 milhões de indivíduos mundialmente. A suspeita de que o protozoário pudesse ser transmitido sexualmente teve início logo após a descoberta da doença e mesmo diante da comprovada presença do *T. cruzi* nos órgãos reprodutivos de animais de laboratório, poucos trabalhos avaliaram o risco dessa forma de transmissão na espécie humana. Por essa razão este estudo teve como objetivo investigar casos de transmissão sexual em uma população de indivíduos residentes em área endêmica e com diagnóstico prévio de Doença de Chagas. Trata-se de um estudo observacional e retrospectivo, com análise de 171 indivíduos, naturais e/ou residentes do perímetro rural e urbano do município de São Felipe, Bahia, distribuídos em 10 famílias. Para avaliar a infecção pela via sexual, foram analisados 19 casais e seus respectivos filhos. Amostras de sangue foram analisadas pelos métodos de ELISA, IFI e PCR, e sêmen pela técnica de PCR e sequenciamento sendo os resultados obtidos associados a informações sociodemográficas e epidemiológicas fornecidas pelos participantes, mediante formulário de pesquisa. A confirmação da infecção, mediante técnica de PCR, ocorreu em 24,56% dos indivíduos avaliados.. A análise dos ejaculados dos casais permitiu encontrar o protozoário em apenas uma

amostra de sêmen, confirmada pela técnica de sequenciamento. A associação dos achados moleculares da análise sanguínea, seminal e das informações extraídas do formulário aplicado permitiu identificar ao menos três casos de mulheres que adquiriram a infecção pela via sexual. Primeiro estudo que avaliou a transmissão sexual entre casais humanos, os achados desta pesquisa nos permitem concluir que o *T. cruzi* pode ser transmitido sexualmente e que essa forma de disseminação está presente e constante na espécie humana.

Palavras-chave: Transmissão sexual; *Trypanosoma cruzi*; Doença de Chagas

INTRODUÇÃO

A Doença de Chagas (DC) é uma infecção causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Negligenciada a mais de um século, a DC se tornou uma infecção de distribuição mundial, sendo uma enfermidade de grande impacto global, com prevalência estimada de 6 a 8 milhões de infectados e 25 milhões em risco de contaminação pelas diferentes formas de infecção¹.

Os primeiros achados da transmissão sexual do *T. cruzi* foram realizados por Vianna², ao identificar a presença do protozoário nos testículos, epidídimo e sêmen de camundongos infectados. Semelhante descoberta foi realizada pelo próprio Carlos Chagas³, ao analisar testículos e ovários durante a autópsia de pacientes que vieram a óbito durante a fase aguda da doença.

A discussão sobre a presença do *T. cruzi* em estruturas reprodutivas foi retomada por Teixeira e colaboradores⁴, que encontraram amastigotas nos túbulos seminíferos e em células ovarianas de um jovem e de uma criança, respectivamente, que tiveram como causa de óbito a doença de Chagas aguda. Mesquita & Mesquita⁵ encontraram ninhos de amastigotas no endométrio de camundongos fêmeas experimentalmente contaminados com o protozoário. O protozoário também foi identificado pelos seus colaboradores⁶ nos órgãos reprodutivos de camundongos machos e fêmeas. Esses autores consideraram a infecção pelo *T. cruzi* mais intensa no

organismo masculino do que no feminino. Do Santos⁷, evidenciou sinais de bioluminescência representativos da presença do *T. cruzi* nos órgãos sexuais masculinos de camundongos infectados oralmente, sendo a região genital um dos principais focos do protozoário naqueles animais.

As primeiras investigações da transmissão deste parasito pelo acasalamento foram realizadas por Nathan-Larrier⁸ que afirmou que o *T. cruzi* poderia atravessar a mucosa vaginal íntegra, enquanto Carvalho e colaboradores⁹ confirmaram que esse parasito também possui capacidade de penetrar a mucosa escarificada. O achado foi confirmado por Alencar e seus colaboradores¹⁰, que também comprovaram a infectividade do sêmen de camundongos na fase aguda da doença.

Estudos realizados com modelo murino, demonstraram a transmissão do parasito por meio do coito, sendo a infecção mais frequente de machos para fêmeas¹¹⁻¹². Seguindo o mesmo protocolo, Rios e colaboradores¹³ (2018) comprovaram que não houve diferença estatística significativa entre os títulos de anticorpos entre os camundongos que se infectaram pela via sexual com aqueles cujo contágio foi induzido. Nesse mesmo estudo 54% da prole, de fêmeas infectadas pela transmissão sexual, apresentava títulos anti-*T. cruzi* apontando para o risco da transmissão sexual do parasito na fase aguda da doença resultar no contágio da prole pela via sexual ou congênita.

A presença do material genético nuclear (nDNA) do *T. cruzi* foi evidenciada, por Araújo e colaboradores¹⁴, em uma amostra de sêmen proveniente de um paciente em fase crônica da doença e por Almeida e seus colaboradores¹⁵ que encontrou a presença do protozoário no sêmen de 19 indivíduos.

A avaliação da infectividade da amostra de sêmen foi avaliada por Araújo e colaboradores¹⁴ ao inocular o *T. cruzi*, pelas vias subcutânea e vaginal, em camundongos. Após a inoculação, os animais infectados copularam com outros saudáveis. A análise biomolecular comprovou a infecção tanto nos animais nos quais as amostras de sêmen foram inoculadas quanto naqueles que com eles copularam. A infecção também estava presente na prole desses casais. Esses achados comprovam não somente o potencial infectante deste fluido como também a possibilidade deste parasito ser transmitido sexualmente.

Com base nas evidências da transmissão sexual do *T. cruzi* em animais experimentais, torna-se imprescindível a investigação acerca desse mecanismo de transmissão entre casais humanos e no papel que essa fonte de infecção possui na manutenção da doença na população humana.

MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo populacional, observacional, retrospectivo, que avaliou a possibilidade da transmissão sexual do *T. cruzi* em 19 casais pertencentes a um grupo de 171 indivíduos, distribuídos em 10 famílias cujos integrantes são naturais e residentes na zona rural e urbana do município de São Felipe, Estado da Bahia, Brasil, avaliadas no ano de 2013. Para a investigação da transmissão sexual foram incluídos também os filhos desses casais.

Os voluntários que consentiram em participar da pesquisa forneceram amostras sanguíneas para diagnóstico da infecção, fluidos seminais para investigação da presença do *T. cruzi*, além de responderem a um formulário de pesquisa com questões referentes aos seus aspectos socioepidemiológicos, seu histórico e parâmetros clínicos, além de perguntas relacionadas aos diversos mecanismos de transmissão da doença, a fim de excluir os demais meios de infecção.

Análises Sorológicas das Amostras Sanguíneas

Foram coletados, de cada participante, de 15 a 20 mL de sangue venoso em tubos VACUTAINER® com e sem anticoagulante EDTA. Destes, 5 mL foram destinados para a detecção de anticorpos IgG anti *T. cruzi* pelas técnicas de ELISA e IFI, de acordo com o protocolo padronizado por Vexenat¹⁶ e Lauria-Pires¹⁷.

A infecção crônica foi diagnosticada pelos testes imunológicos utilizando o critério estabelecido pelo Consenso Brasileiro de Doença de Chagas¹⁸ que define que para um paciente ser infectado pelo parasito ele precisa ter dois ou mais testes positivos. Foram considerados indivíduos soro-

reagentes ao parasito aqueles que apresentaram para ELISA o resultado iguais ou maiores que 1,2 e resultados de IFI iguais ou maiores que 1/60 em conjunto. Aqueles indivíduos que apresentaram para ELISA 0,9 - 1,1 e/ou 1/20 - 1/40 no IFI foram considerados inconclusivos e títulos até 1/10 para IFI e/ou ELISA 0,1 - 0,8 foram considerados não reagentes para *T. cruzi*.

Análises biomoleculares para *Trypanossoma cruzi*

Extração do DNA em amostras biológicas e Reação de PCR

Para a análise biomolecular das amostras sanguíneas foram necessários 15 mL de sangue venoso de cada individuo, coletados em tubos VACUTAINER® com anticoagulante EDTA. O DNA das amostras foi extraído com o auxílio do kit Promega Wizard Genomic DNA Purification. O procedimento consistiu na adição de 10mL de sangue venoso a tubos Falcon contendo 30mL de Cell Lysis Solution e o procedimento de extração de acordo com o fabricante. O DNA foi suspenso com 800 µL de DNA Rehydration Solution e armazenado a 4°C para a reidratação, e o DNA foi guardado em microtubos estéreis de 1,5mL a -20°C. As amostras de DNA foram quantificadas no NanoDrop2000® e alíquotas de 20 µL foram diluídas para concentração final de 100 µg/ µL de DNA usada na PCR.

As amostras de sêmen foram obtidas de doadores das famílias do estudo, em preservativo anticoncepcional de látex ou pela masturbação e colheita em frasco estéril de colheita de material biológico, em suas próprias residências. A extração do DNA nas amostras de sêmen foi realizada de acordo com o método de Carter e colaboradores¹⁹.

A identificação do material nuclear do *T. cruzi* (nDNA) nas amostras de sêmen e de sangue foi utilizada com os *primers* TCZ1 e TCZ2, com 200 ng de DNA, 2,5 µL de Tampão TE 10X, 1,25 µL de magnésio a 50mM, 0,5 µL de dNTPs a 10 mM e 2 U de Platinum Taq polymerase INVITROGEN®, 0,25 µL de cada primer na concentração de 10 mM e água ultrapura até o volume final de 25 µL. O termociclador BioRad foi programado para ciclos de 95°C durante 5 min, 40 ciclos de 95°C durante 30 segs, 68°C durante 1 min, 72°C por mais 1 minuto e, por fim, 72°C por 5 min, e refrigeração a 4°C. Aquelas amostras com baixa concentração de DNA, os produtos da PCR convencional foram

novamente amplificados, com os mesmos *primers*, nas mesmas condições de ciclagem que a PCR. As reações das amostras de sêmen foram realizadas em triplicata e os fragmentos visualizados sob gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio em tampão TBE 1X.

A confirmação da presença no material genético do *T. cruzi* nas amostras de sêmen foi realizada pela técnica de sequenciamento de Sanger. O preparo das amostras foi realizado de acordo com as recomendações do fabricante e o sequenciamento por meio de eletroforese capilar utilizando os TcZ1 e TcZ2. Os eletroferogramas foram analisados utilizando os programas ChromasPRO DNA Sequencing Software® e BioEdit 7.2®. Para o controle positivo foi utilizada uma amostra do material genético do *T. cruzi* e o controle negativo um tubo sem amostra e uma amostra de sêmen nDNA negativa. As sequências encontradas foram analisadas na plataforma *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) tendo como base as sequências encontradas no banco de dados do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), a fim de comparar as sequências homólogas ao DNA humano e do *T. cruzi*.

Identificação da Transmissão Sexual

A triagem de casos suspeitos de transmissão sexual teve início com o diagnóstico da infecção, realizado por meio da técnica de PCR em amostras sanguíneas.

A partir do diagnóstico de infecção para *T. cruzi* obtido, os casais foram classificados em 4 grupos: 1. Casais Homem - / Mulher - (H-/M-); 2. Casais Homem + / Mulher - (H+/M-); 3. Casais Homem - / Mulher + (H-/M+) e 4. Casais Homem + / Mulher + (H+/M+).

A identificação da infecção pela via sexual foi realizada mediante associação entre os achados moleculares das análises de sêmen e as informações obtidas pelo formulário que excluíssem outras formas de contaminação.

Uma vez que só foram avaliadas amostras de sêmen, considerou-se a transmissão pelo *T. cruzi* foi induzida via coito naqueles casais cujos ambos os parceiros haviam sido positivos, pela técnica de PCR e cuja parceira sexual não havia sido exposta a infecção por nenhuma outra via vetorial, transfusional e/ou gestacional.

Ética em Pesquisa

Esta pesquisa foi aprovada pelo Conselho de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília e do Comissão de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde, sob o número de registro do Processo no CONEP: 11163 E Registro no: Doc 25000.167567/2004-28.

RESULTADOS

Dos 171 indivíduos avaliados, 18,13% apresentaram anticorpos IgG anti-*T. cruzi*. Quando foi investigada a presença do material genético do *T. cruzi* nas amostras, o percentual de infecção encontrado foi de 24,56%, sendo distintos os indivíduos diagnosticados com os testes sorológicos dos testes moleculares, visto que 80,95% dos positivos para o protozoário eram soronegativos. (Tabela 1).

Tabela 1: Frequência de infecção identificada pela Análise Sorológica e Molecular de familiares residentes no Município de São Felipe, BA, no ano de 2013.

Resultados Sorológicos e Moleculares	
Análise Sorológica	
Não reagente	134 (78,36%)
Reagente	31 (18,12%)
Não realizado	6 (3,50%)
Análise Molecular	
Negativo	129 (75,43%)
Positivo	42 (24,56%)

Investigação da Transmissão Sexual de *T. cruzi*

Dos 19 casais, selecionados para a investigação da transmissão sexual, foi possível identificar a presença da infecção em pelo menos 12 casais (Tabela 2).

Tabela 2: Distribuição dos casais em grupos de positividade e negatividade de infecção pelo *T. cruzi* avaliados pela técnica de nDNA-PCR e identificação do protozoário nas amostras de sêmen dos casais.

Casais	N/%	Presença (N) e % de nDNA + nas amostras de sêmen
Grupo 1 (H-/M-)	7/36,84%	0/0%
Grupo 2 (H+/M-)	1/5,26%	0/0%
Grupo 3 (H-/M+)	5/26,31%	0/0%
Grupo 4 (H+/M+)	6/31,60%	1/16,66%
Total	19/100%	1/5,26%

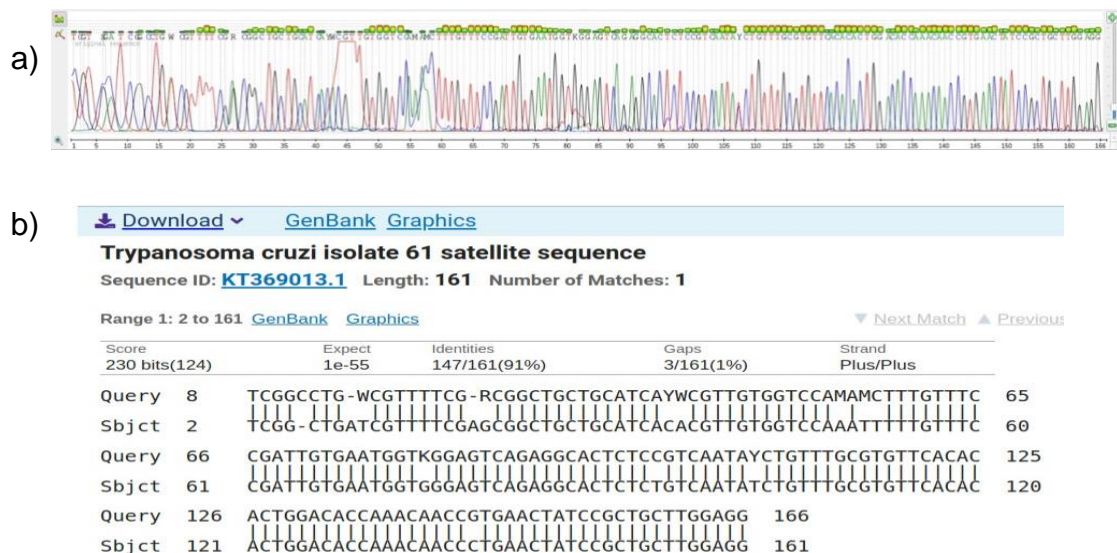
Os casais e seus descendentes compuseram um total de 63 indivíduos. Destes, apenas 11,11% foram sorologicamente reagentes para IgG anti-*T. cruzi* em ambos os testes realizados, IFI e ELISA. Quando investigada a presença do material genético nuclear do *T. cruzi* (nDNA) nas amostras sanguíneas, o percentual de infecção encontrado foi de 41,27%, sendo a maior infectividade encontrada nas mulheres (42,30%), seguida da presença do *T. cruzi* nas amostras de sangue dos filhos (30,77%) e dos homens (26,92%).

A presença do *T. cruzi* foi encontrada, pela técnica de PCR na amostra seminal de um indivíduo. A análise por sequenciamento atestou a presença do material genético do parasito, com score de 230 (Figura 1).

O sêmen infectante foi encontrado em um casal cuja infecção também foi encontrada na esposa nDNA+. A comprovada infectividade da amostra de sangue destes cônjuges foi associada às informações, por ela fornecidas, pelo

formulário de pesquisa. Através desse instrumento a participante negou ter sido picada e até mesmo visto o inseto vetor, assim como declarou não ter realizado nenhuma transfusão sanguínea e/ou ser filha de mãe portadora da Doença de Chagas. Essas informações, associadas à presença do protozoário na amostra de sêmen de seu parceiro excluem outras vias de contaminação do *T. cruzi* e permitem afirmar que se trata de um caso de infecção pela via sexual.

Figura 1: a) Análise de sequenciamento e análise *Blast* do fragmento de 188 pb do material genético nuclear do *T. cruzi* com os *primers* TcZ1 e TcZ2 na amostra de sêmen do paciente 77. b) Homologia da sequência do DNA nuclear de *T. cruzi*, de aproximadamente 188pb.



A análise apontou para outros dois possíveis casos da transmissão do parasito pela via sexual. A comprovada infecção ocorrida em duas mulheres, positivas para *T. cruzi* que relataram não terem sido picadas pelo barbeiro e nem o terem visto anteriormente, assim como negam ter realizado transfusão e pais eram portadores da doença, levantou a hipótese de que ambas poderiam ter sido contaminadas por outra via não convencional. O fato comum entre essas mulheres é que ambas se relacionaram com o mesmo indivíduo, cujos familiares e conhecidos o declararam, também através dos formulários, como portador da DC. Uma vez que esse paciente veio a óbito antes do desenvolvimento deste estudo, não foi possível a coleta e análise de seu

material biológico. No entanto, os achados apontam fortemente para possibilidade de que essas mulheres também adquiriram sexualmente a doença.

DISCUSSÃO

Entre 2007 e 2018, a Bahia foi classificada como o quinto estado brasileiro em número de casos da DC²⁰, com média de 0,48% de sororeagentes para o protozoário. O maior índice de soropositividade foi registrado em 2013, com 0,88%²¹, durante o mesmo período analisado nesta pesquisa. A frequência de chagásicos encontrada neste estudo foi superior à média nacional, de 4,2%²² e à encontrada no município de Cássia de Coqueiros, 16,6%, no estado de São Paulo²³ e no município de Limoeiro do Norte, Ceará, com 6,9%²⁴ semelhante à encontrada no município de Mulundu do Morro, também na Bahia, com taxa de infecção de 25,1%²⁵ e inferior à encontrada em uma população do estado do Pará, 76,1%²⁶. A Bahia é o único estado da Federação onde a declaração da doença de Chagas no atestado de óbito é obrigatória.

Foi encontrada, no grupo populacional do estudo, elevada prevalência de indivíduos infectados pelo *T. cruzi*. A presença do protozoário nessas pessoas deixa claro que mesmo diante de tantas medidas adotadas para combate e erradicação da Doença de Chagas no território brasileiro, a doença ainda persiste e esses indivíduos possuem íntimo contato com as fontes de infecção²⁷. É possível identificar a escassez de dados acerca de prevalência assim como inquéritos sorológicos que atestem a real prevalência da doença na população.

A discrepância observada entre resultados obtidos pelos métodos sorológicas e moleculares, identificada na população paraense por Araújo²⁶ e Santos²⁸ pode ser explicada pelo fenômeno de tolerância ao antígeno do *T. cruzi* nos casos de infecção do embrião antes da maturação do sistema imune. Em casos com sistema imune maturo, o sistema imune maduro não destrói os tecidos próprios, mas anticorpos heterófilos reconhecem antígenos de outros agentes patológicos, tais como *Mycobacterium leprae*, *M. tuberculosis*,

Treponema pallidum e principalmente *Leishmania* sp. Reações cruzadas antígeno-anticorpo ocorre em adultos. No fenômeno de tolerância imunológica o antígeno do parasito é tido como “*self tissue*” e, portanto não destrói seu próprio corpo. Isso acontece apenas quando o antígeno do micróbio infecta as células do embrião antes da maturação do sistema imune^{15,26}. A efetividade demonstrada neste e em outros estudos^{26,28} da análise molecular sobre a sorológica aponta para a importância do aperfeiçoamento dos métodos de diagnóstico.

Investigação da Transmissão Sexual de *T. cruzi*

A suspeita da colonização do *T. cruzi* em órgãos sexuais começou com Carlos Chagas³ ao descrever um caso de orquite em um indivíduo chagásico, também relatado por Hartz & Toledo²⁹. Teixeira e seus colaboradores^{4, 27}, por sua vez, demonstraram a presença de ninhos de amastigotas nos túbulos seminíferos de portadores do protozoário. A presença deste em tecidos dos órgãos sexuais masculinos também foi encontrada em cobaias, que identificaram o parasito nos testículos, assim como epidídimo e vesícula seminal^{26, 30-32}.

A existência do *T. cruzi* nos testículos pode se justificar tanto pela sua atração e afinidade pelas células musculares, como também pelo fato dos testículos constituírem órgãos imunologicamente privilegiados, resultado da combinação de sua tolerância imunológica e imunossupressão local, atribuída pela ação do hormônio testosterona, além de sua própria estrutura física³³⁻³⁴. O tropismo que o parasito possui pelas células mióides testiculares foi evidenciado por Carvalho e colaboradores³⁰, que sugerem que a contração desses tipos celulares, assim como sua ruptura sejam os fatores responsáveis pela presença das amastigotas no interior dos túbulos seminíferos. A incapacidade que a resposta imunológica possui de alcançar esses órgãos favorecem a multiplicação do parasito, independente da fase da doença que o hospedeiro se encontra.

A investigação de casos de contaminação pela via sexual entre os casais evidenciou a presença do *T. cruzi* em apenas uma amostra de sêmen,

em um indivíduo cronicamente infectado. A presença do *T. cruzi* nesses fluídos também foi evidenciada por Araújo²⁶, em humanos na fase aguda da doença e por Alcarón e seus colaboradores³⁵ ao analisarem, microscopicamente, o sêmen ejaculado de camundongo, também em fase aguda.

A avaliação da infectividade de amostra de sêmen foi realizada por Almeida e colaboradores¹⁵, que fizeram inoculação, intraperitoneal de alíquotas do sêmen de um doador chagásico em fase crônica em camundongos machos, assim como introduziu porções da mesma amostra na vagina de animais dessa mesma espécie. O estudo não somente demonstrou a infecção de ambos os grupos contaminados pelas amostras sexuais, como comprovou também a transmissão do *T. cruzi* pela via sexual após a cópula desses com animais não infectados. A presença do *T. cruzi* em ejaculados comprova a capacidade infectante deste protozoário em diferentes tipos de tecido no organismo do hospedeiro assim como demonstra a variedade de mecanismos que esse agente desenvolveu para se disseminar entre os hospedeiros.

A existência do *T. cruzi* na amostra de sêmen do indivíduo 77, juntamente com a comprovação da infecção de sua esposa evidencia, pela primeira vez, contaminação pela transmissão sexual entre casais humanos. A contaminação dos filhos deste casal pode, por sua vez, ter sido proveniente de um ou do outro parental. Uma vez que este protozoário possui capacidade de infectar qualquer célula de seu hospedeiro e até mesmo atravessar a placenta, a contaminação do feto pode ser proveniente tanto do sêmen contaminado do pai, quanto da mãe, que também o abriga^{15,35}. Esse fato é corroborado pela ausência de anticorpos apresentado pelos filhos, e, também, pela prole de outros casais, explicado pelo mecanismo de tolerância imunológica³³⁻³⁴.

O contágio sexual possivelmente também ocorreu entre as participantes 271 e 272 que tiveram como fator comum, relacionamento com o mesmo homem, com diagnóstico prévio confirmado para Doença de Chagas. Muito embora não tenha sido possível analisar as amostras de sêmen deste indivíduo, o fato de ambas as mulheres (271 e 272) terem negado contato prévio com inseto vetor, mesmo morando em área endêmica,

assim como ausência da doença nos familiares são fatores que corroboram para a suspeição de contaminação pela via sexual.

No único casal em que o homem possui comprovada infecção, diferente de sua mulher, não se pode excluir a possibilidade futura de transmissão sexual. Mesmo que não tenha sido encontrada a presença do *T. cruzi* nas amostras seminais deste indivíduo, não se pode eliminar a possibilidade de o protozoário colonizar os órgãos sexuais masculinos e ser liberado em outro ejaculado.

O considerado número de casais em que apenas a mulher foi contaminada pelo protozoário acende um alerta, visto que em vários estudos utilizando cobaias a frequência de transmissão nesse sentido é semelhante da que ocorre de machos infectados para fêmeas saudáveis^{12,14}. A transmissão da doença para a maioria dos filhos desses casais e a não transmissão para o cônjuge aponta para a necessária investigação das condições que favorecem e até mesmo dificultam a transmissão do *T. cruzi* de mulheres infectadas para homens saudáveis.

Os achados encontrados nesse estudo evidenciam que a transmissão sexual do *T. cruzi* não somente é um mecanismo verídico como também pode ocorrer em elevada frequência, tanto em regiões endêmicas quanto em regiões não endêmicas, uma vez que, sendo um mecanismo de contaminação subestimado, pode ser responsável pelo elevado número de casos da doença, assim como sua persistência entre as populações humanas.

A divulgação dos resultados obtidos neste estudo é de fundamental importância para conhecimento dos profissionais de saúde, diretamente relacionados com a assistência aos pacientes acometidos com essa enfermidade e seus familiares, especialmente de seus parceiros sexuais, que nesse contexto se encontram em situação de vulnerabilidade, assim como os profissionais responsáveis pelo planejamento, criação e adoção de medidas de saúde envolvidos no controle e na erradicação da doença. A aplicação de ações em educação de saúde, com o objetivo de informar e orientar os indivíduos contaminados e seus parceiros sexuais a adotarem métodos contraceptivos de barreira assim como monitorar frequentemente a infecção pelo *T. cruzi* também é essencial nessa situação.

Nesse sentido é essencial a necessidade de maior investigação desse mecanismo de transmissão do *T. cruzi* entre casais humanos, assim como no avanço de estudos que elucidem todas as lacunas de conhecimento ainda existentes a respeito dessa via de disseminação na doença, assim como quais são os fatores de risco e os protetores para a contaminação.

CONCLUSÃO

Diante do exposto é possível concluir que, dentre a população estudada e constatar também que a PCR foi o método com melhor eficácia diagnóstica.

Os achados deste estudo comprovaram a presença do *T. cruzi* na amostra de sêmen de um dos indivíduos analisados e, sendo esse fluido infectante, ele foi responsável pela contaminação de sua parceira sexual. A infectividade do sêmen pode ter sido a responsável pela infecção adquirida pelas três participantes identificadas neste estudo, demonstrando assim que essa via de disseminação do parasito está presente entre as populações, sendo responsável pela manutenção da doença em grupos, sejam eles endêmicos ou não. Neste estudo, a diferença da presença de apenas um parental PCR-positivo na população dos previamente identificados na literatura^{14,15} pode ser explicado pela longa estocagem das amostras de sêmen e de sangue. De fato, este material biológico foi examinado 9 anos depois de colhido e não há estudo comparativo de resultados entre amostras recentes e aquelas envelhecidas. Ademais, as metodologias empregadas nos estudos prévios tinham sensibilidade mais elevada em virtude do emprego de isótopos radioativos que evidenciam o DNA amplificado em pequeníssima quantidade. Atualmente, a pesquisa científica não tem sido conduzida com emprego de radioisótopos.

Os resultados obtidos demonstram que a DC continua sendo uma doença negligenciada e um importante problema de saúde pública. A proximidade com o inseto vetor juntamente com o alto número de mulheres em idade fértil e a doação de sangue por parte de indivíduos chagásicos indicam falhas nas ações de vigilância e monitoramento das vias de transmissão vetorial e materno-fetal assim como no rastreamento por parte dos órgãos competentes além de subnotificação de casos agudos da doença,

especialmente pelos métodos sorológicos de diagnósticos adotados no rastreamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 WHO. Chagas Disease (also known as American Trypanosomiasis). World Health Organization. 2024.

2 Vianna, G. 1911. Contribuição para o estudo da anatomia patológica da 'Moléstia de Chagas'. Mem Inst. Oswaldo Cruz, 3, 276-94.

3 CHAGAS, C. Tripanosomiase americana. Forma aguda da moléstia. **Mem Inst. Oswaldo Cruz**, v. 8, p. 5-35. 1916.

4 Teixeira, A.R.L., Roters, F., Mott, K.E. 1970. Acute Chagas disease. Gaz Méd Bahia, 70, 176-186.

5 Mesquita, R.P., Mesquita, G.S. 1982. *Trypanosoma cruzi* in the endometrium of infected mice. Acta Cytol, 26, 261-262.

6 Lenzi, H.L., Castelo-Branco, M.T.L., Pelajo-Machado, M., Oliveira D.N., Gattass, C.R. 1998. *Trypanosoma cruzi*: compromise of reproductive system in acute murine infection. Acta Trop, 71, 117-129.

7 Do Santos, D.S. 2016. Órgãos alvo do *Trypanosoma cruzi* em modelo experimental de fase aguda da doença de Chagas por transmissão oral. 77p – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

8 Nathan-Larrier L. 1921. La Schizotripaniose americaine, peut elle être transmise par contagion genitale. Compt Rend Soc Biol, 84, 73-775.

9 Carvalho, T.L., Ribeiro, R.D., Lopes, R.A. 1991. The male reproductive organs in experimental Chaga`s disease. I. Morphometric study of the vas deferens in the acute phase of the disease. Exp. Pathol, 41, 203-214.

10 Alencar, A.A., Brito, C.M.M., Azevedo, B.A. 1991 Estudos sobre a infectividade do sêmen de camundongos inoculados com *Trypanosoma cruzi*.

Comprometimento do aparelho genital masculino na doença de Chagas experimental. Alteração dos plexos nervosos com destruição neuronal. Rev Bras Neurol, 27, 51-56.

11 Martin, D.L., Lowe, K.R., McNeill, T., Thiele, E.A., Roelling, D.M., Zajdowicz, J., Hunter, S.A., Brubaker, S.A. 2015. Potential sexual transmission of *Trypanosoma cruzi* in mice. Acta Tropica, 149, 15-18.

12 Ribeiro, M., Nitz, N., Santana, C., Moraes, A., Hagstrom, L., Andrade, R., Rios, A., Ssouza, A., Dallago, B., Urgel-Gonçalves, R. Hecht, M. 2016. Sexual Transmission of *Trypanosoma cruzi* in murine model. Exp Parasitol, 162, 1-6.

13 Rios, A., Ribeiro, M., Souza, A., Pimentel, F., Hangstrom, L., Andrade, R., Alves, R.M., Rosa, A.C., Teixeira, A.R.L., Nitz, N., Hecht, M.M. 2018. Can sexual transmission support the enzootic cycle of *Trypanosoma cruzi*? Mem Inst Oswaldo Cruz, 113, 3-8.

14 Araújo, P.F., Almeida, A.B., Pimentel, C.F., Silva A.R., Souza, A., Valente, S.A., Valente, V.C.; Brito, M.M., Rosa, A.C., Alves, R.M., Hagstrom L., Teixeira A.R.L. 2017. Sexual transmission of American trypanomiasis in humans: a new potential pandemic route for Chagas parasites. Mem Inst Oswaldo Cruz, 11, 437-446.

15 Almeida, A.B.; Araújo, P.F.; Bernal, F.M.; Rose, A.D.C; Valente, S.A.; Teixeira, A.R.L. 2019. Sexual Transmission of American Trypanosomes from Males and Females to Naïve Mates. J Vis Exp, 143.

16 Vexenat, A.C. 1993. Diagnóstico sorológico diferencial de infecções causadas por *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania chagasi* e outras doenças crônicas. 1993. Universidade de Brasília – Brasília.

17 Lauria Pires, L., Braga, M.S., Vexenat, A.C., Nitz, N. Simões-Barbosa, A., Tinoco, D.L., Teixeira, A.R.L. 2000. Progressive chronic Chagas Heart disease

tem years after treatment with anti-trypanosoma nitroderivatives. *Am J Trop Med Hyg*, 63, 111-118.

18 Dias, J.C.P., Ramos Jr, A.N., Gontijo, E.D., *et al.* 2016. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. *Epidemiol Serv Saúde*, 25, 7-86.

19 Carter, K.L., Robertsob, B.C., Kempnaers, B. 2000. A differential DNA extraction method for sperm on the perivitelline membrane of avian eggs. *Reprod Bio Beh Group, MPG Res Center Orn, Postfach*. 2000.

20 Camargo, ME, da Silva, GR, de Castilho, EA, Silveira, AC. Serological survey of the prevalence of Chagas's infection in Brazil, 1975/1980. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1984: 26(4), 192-204.

21 MS. Boletim Epidemiológico: Doença de Chagas. Secretaria de Vigilância Epidemiológica. 2020.

22 Martins-Melo, FR, Ramos Jr AN, Alencar, CH, Heukelbach, J. Prevalence of Chagas disease in Brazil: a systematic review and meta-analysis. *Act Trop*. 2014:130, 167-174.

23 Passos, ADC, Nogueira, JL, Figueiredo, JFC, Gomes, UA, Dal-Fabbro, AL. Evolução da Positividade sorológica para a doença de Chagas numa comunidade rural brasileira. *Rev Panam Salud Publica*. 2001:2, 247-252.

24 Lima, LN. Sorologia para a doença de Chagas na população das zonas urbana e rural do município de Limoeiro do Norte-CE: uma análise de uma região endêmica. 2018. Universidade do Ceará, Fortaleza. 2018.

25 Aras, R, Veiga, M, Gomes, I, Mota, G, Rodrigues, B., Rabelo, R. Prevalence of Chagas' Disease in Mulungu do Morro northeastern Brazil. *Arq Bras Cardiol*. 2002: 78, 441-443.

26 Araújo, P.F. 2012. Estudo genético, imunológico e parasitológico das infecções pelo *Trypanosoma cruzi* em famílias do estado do Pará, Brasil. 2012. 135p – Universidade de Brasília, Brasília.

27 Teixeira, A.R.L., Gomes, C., Rosa, A.C., Araújo, P.F., Anunciação, C.E., Silveira-Lacerda, E.P. Prevention and Control of Chagas Disease – An Overview. *Int STD Res & Ver.* 2018: 7, 1-15.

28 Gomes, C.; Santos, E.J.; Silveira-Lacerda, E.; Baliza, M.; Teixeira, A.R. Blood Transfusion and Diagnostic Accuracy of Chagas Disease. *J Bact Mycol.* 2019:7, 112-114.

29 Teixeira, A.R.L.; Nascimento, R.J.; Sturm, N.R. 2006. Evolution and Pathology in Chagas disease – A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 101, 463-491.

30 Carvalho, L.O.P., Abreu-Silva, A.L., Haridoim, D.J., Tedesco, R.C., Mendes, V.G., Da Costa, S.C.G., Calabrese, K.S. 2009. *Trypanosoma cruzi* and myoid cells from seminiferous tubules: interaction and relation with fibrous components of extracellular matrix in experimental Chagas's disease. *Int J Exp Pat*, 90, 52-57.

31 Herrera, L., Urdaneta-Morales, S. 2001. Experimental transmission of *Trypanosoma cruzi* through the genitalia of albino mice. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 96, 713-717.

32 Cabrine-Santos, M., Dos Santos, V.M., De Lima, M.A., De Abreu, M.E.A., Lages-Silva, E., Ramirez, L.E. 2003. Genitourinary changes in hamsters infected and reinfected with *Trypanosoma cruzi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 98.

33 Abbas, A.K.; Lichtman, A.H.; Pillai, S. *Imunologia Celular e Molecular*. 7ª Edição. Rio de Janeiro, Elsevier, 2011.

34 Zhao, S.; Zhu, W., Xue S., HAN, D. 2014. Testicular defense systems: immune privilege and innate immunity. *Cell Mol Immunol*, 11, 428-437.

35 Alarcón, M.; Moreno, E.; Colasante, C.; De Yarbuh, A.L.; Cáceres, K.; Araújo, S. 2011. Presencia de epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* em el plasma seminal de ratones com infección aguda. *Bol Malariol Salud Ambient*, LI, 237-240. ISSN 1690-4648.

6 CONCLUSÕES

Os resultados encontrados permitem afirmar que os tripanosomídeos podem ser transmitidos sexualmente em diferentes espécies de hospedeiros.

A investigação da infecção do *T. cruzi* pela via sexual entre casais naturais e/ou residentes no município de São Felipe confirmou um caso de contaminação venérea.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os achados obtidos neste estudo demonstraram que a via sexual constitui um importante mecanismo de transmissão para espécies do gênero *Leishmania* e *Trypanosoma*, sendo comprovada sua ocorrência entre animais e casais humanos

A utilização de sondas radioativas, método mais sensível e específico quando comparada à PCR, tornaria os resultados encontrados incontestáveis, constituindo o método diagnóstico empregado nesta análise uma de suas limitações. No entanto, análises científicas não tem sido realizadas com o emprego de radioisótipos. A análise do material biológico após longa estocagem do mesmo pode estar relacionada com a positividade encontrada nas amostras.

Mesmo nessas condições foi possível identificar um caso de transmissão do *T. cruzi* pela via sexual e evidências desse mecanismo de contaminação entre outros casais humanos. Este estudo serve também como subsídios para os subsequentes, sendo ainda necessário investigar os fatores de risco, assim como elucidar os mecanismos biológicos envolvidos nessa forma de infecção.

O desenvolvimento deste trabalho possui relevante impacto científico, visto que a transmissão sexual deste protozoário ainda é desconhecida e negligenciada pela comunidade científica e governamental. Dessa forma, a divulgação das evidências encontradas neste trabalho é de fundamental importância para a atualização do conhecimento até então existente sobre as vias de disseminação da Doença de Chagas, assim como para a adoção de estratégias que controlem também essa forma de contaminação, possivelmente responsável pela manutenção da doença na população humana.

Recomenda-se também o desenvolvimento de estudos que revelem a prevalência da Doença de Chagas na população, uma vez que há uma escassez de informações atuais. Essas informações são essenciais para identificar a real situação da doença nos brasileiros, visto que não é

preconizada e nem mesmo realizada pelo Ministério da Saúde a realização de diagnóstico para a doença.

Nesse sentido, sugere-se também o desenvolvimento de pesquisas que aprimorem os métodos sorológicos de identificação da doença, afim de que os diagnósticos sejam fidedignos.

ALENCAR, A.A.; BRITO, C.M.M.; AZEVEDO, B.A. Estudos sobre a infectividade do sêmen de camundongos inoculados com *Trypanosoma cruzi*. Comprometimento do aparelho genital masculino na doença de Chagas experimental. Alteração dos plexos nervosos com destruição neuronal. **Rev Bras Neurol**, v. 27, p. 51-56. 1991.

ALVES, M.J.M; COLLI, W. Agglutination of *Trypanosoma cruzi* by Concavalin A. **J Protoz**, v. 21, p. 575-578. 1974.

ARAL, S.O., OVER, M. MANHART, L.; HOMES, K.K. Sexually Transmitted Infections. **Dis Cont Prior Dev Contries**. 2 Edição. New York Oxford University Press. 2016.

ARAÚJO, P. F.; ALMEIDA, A. B.; PIMENTEL, C. F.; DA SILVA, A. R.; SOUZA, A.; VALENTE, S. A. et al Sexual Transmission of American Trypanosomiasis in Humans: a new potential pandemic route for Chagas parasites. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.112, p. 437– 446. 2017.

BEATTY, N.L.; KLOTZ, S.A. Autochthonous Chagas Disease in the United States: How Are People Getting Infected? **Am J Trop Hyg**, v. 103, p.967-969. 2020.

BERN, C.; MESSENGER, L.A.; WHITMAN, J.D.; MAGUIRE, J.H. Chagas disease in the United States: a public health approach. **Clin Microbiol Rev**, v. 33. 2019.

BORST, P.; HOEIJMAKERS, J.H.J. Kinetoplast DNA. **Plasmid**, v. 2, p. 20-40. 1979.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v. 72, p. 248-254. 1976.

CAMARGO, E. P. Growth and differentiation in *Trypanosoma cruzi*. Origin of metacyclic trypanosomes in liquid media. **Rev Inst Med Trop**, v. 6, p. 93-100. 1964.

CARDOSO, D. R. F.; REIS, L. M. S.; DE SOUZA, R. F. V.; NASCIMENTO, E. F.; DOS SANTOS, J. P.; CARVALHO-COSTA, F. A.; SANTOS-MALLET, J. R. Chagasic infection among blood donors in Brazil: an integrative review. **Hem Transf Cell Ther**, v.40, n.3, p.283-291, 2018.

CARVALHO, T.L.; RIBEIRO, R.D.; LOPES, R.A. The male reproductive organs in experimental Chaga`s disease. I. Morphometric study of the vas deferens in the acute phase of the disease. **Exp. Pathol**, v. 41, p. 203-214. 1991.

CARTER, K.L.; ROBERTSON, B.C.; KEMPENAERS, B. A differential DNA extraction method for sperm on the perivitelline membrane of avian eggs. **Mol Ecol**, v. 9, p. 2149-2154. 2000.

CHAGAS, C. Tripanosomiase americana. Forma aguda da moléstia. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 8, p. 5-35. 1916.

COURA, J.R. Contribuição do estudo da Doença de Chagas no Estado da Guanabara. PhD Thesis. **Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro**. 143p. 1965.

COURA, J.R. The mains sceneries of Chagas disease transmission: the vectors, blood and oral transmission – A comprehensive review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, p. 1-6. 2015.

COURA, J.R.; DIAS, J.C.P. Epidemiologia, controle e vigilância da Doença de Chagas – 100 anos após sua descoberta. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 31-40. 2009.

COURA, J.R.; VIÑAS, P.A. Chagas's Disease: a New Worldwide Challenge. **Nature**, v. 456, p: 6-7. 2010.

DEGRAVE, W.; FERNANDES, O.; CAMPBELL, D.; BOZZA, M.; LOPES, U. Use of molecular probes and PCR for detection and typing of *Leishmania* – a mini review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 89, p. 463-469. 1994.

DE SOUZA, W.; BARRIAS, E. Exosomes in the Pathogenic Protozoan *Trypanosoma cruzi*. **Int J Path Clin Res**, v. 3, p. 1-9. 2017.

DE SOUZA, W.; BARRIAS, E.S. May the epimastigote form of *Trypanosoma cruzi* be infective? **Act Trop**, v. 212, p. 1-5. 2020.

Dias, J.C.P.; MACHADO, E.M.M.; FERNANDES, A.L.; VINHAES, M.C. Esboço geral e perspectivas da doença de Chagas no Nordeste do Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 16, p. 13-34. 2000.

DIAS, J.C.P.; NETO, V.A. Prevenção referente às modalidades alternativas de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 44, p. 68-72. 2011.

DIAS, J.C.P.; RAMOS JR, A.N.; GONTIJO, E.D.; LUQUETTI, A.; SHIKANAI-YASUDA, M.A.; COURA, J.R. et al. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. **Epidemiol Serv Saúde**, v. 25, p. 7-86. 2016.

DO SANTOS, D.S. Órgãos alvo do *Trypanosoma cruzi* em modelo experimental de fase aguda da doença de Chagas por transmissão oral. 2016. 77p – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2016.

FRAGATA-FILHO, A.A.; CORREIA, E.B.; BORGES FILHO, R.; VASCONSELOS, M.O.; JANCZUK, D.; MARTINS, C.S.S. Sequência de transmissões não habituais da infecção chagásica em uma mesma família: transfusional para mãe e congênita para filho, de cepa de *Trypanosoma cruzi* resistente ao tratamento. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 41, p. 73-75. 2008.

FRANCO-PAREDES, C.; VON, A.; HIDRON, A.; RODRIGUEZ-MORALES, A.J.; TELLEZ, I.; BARRAGÁN, M. et al. Chagas disease: na impediment in achieving the millennium development goals in Latin America. **BMC Int Health Hum Rights**, v. 7, p.1-7. 2007.

GALVÃO, T.F.; PEREIRA, M.G. Revisões Sistemáticas da literatura: passos para a sua elaboração. **Epidemiol Serv Saude**, v. 23, p. 183-184. 2014.

HOWARD, E.J.; XIONG, X.; CARLIER, Y.; SOSA-ESTANI, S.; BUEKENS, P. Frequency of the consenital transmission of *Trypanosoma cruzi*: a systematic review and meta-analysis. **BJOG: Int J Obst Gyn**, v. 121, p. 22 – 33. 2014.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Brasil/Bahia/São Felipe**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ba/sao-felipe/panorama> . Acesso em Jul 2024.

JORG, M.E.; OLIVA, R. Presencia de tripomastigotes em sangue menstrual de mujeres com tripanosimiasis cruzi. **Rev Arg Parasitol**, v. 1, p. 28-30.666 1980.

LANA, M.; TAFURI, W.L. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. In: Parasitologia Humana, São Paulo: 10ª Ed. 2010. P: 85-104.

LAURIA PIRES, L.; BRAGA, M.S.; VEXENAT, A.C.; NITZ, N. SIMÕES-BARBOSA, A.; TINOCO, D.L.; TEIXEIRA, A.R.L. Progressive chronic Chagas Heart disease tem years after treatment with anti-trypanosoma nitroderivatives. **Am J Trop Med Hyg**, v. 63, p. 111-118. 2000.

LENZI, H.L.; CASTELO-BRANCO, M.T.L.; PELAJO-MACHADO, M.; OLIVEIRA, D.N.; GATTASS, C.R. *Trypanosoma cruzi*: compromise of reproductive system in acute murine infection. **Acta Trop**, v. 71, p. 117-129. 1998.

LUZ, Z. M.P.; COUTINHO, M.G.; CANÇADO, J.R.; KRETTLI, A.U. Hemocultura: técnica sensível na detecção do *Trypanosoma cruzi* em pacientes chagásicos na fase crônica da doença de Chagas. **Rev Soc Bras Med Trop**. v. 27, p. 143-148. 1994.

MARTIN, DL; LOWE KR; McNEILL, T; THIELE, EA; ROELLING, DM; ZAJDOWICZ, J. et al Potential Sexual Transmission of *Trypanosoma cruzi* in mice. **Acta Trop**, v. 149, p. 15-18, 2015.

MARTINS-MELO, F.R.; ALENCAR, C.H.; RASSI JR, A.N.; HEUKELBACH, J. Epidemiology of Mortality Related to Chagas's Disease in Brazil, 1999-2007. **PLoS Neg Trop Dis**, v 6, 2014.

MATOS, S.B.; JESUS, A.L.S.R; PEDROZA, C.M.C.; SODRE, H.R.S.; FERREIRA, T.L.H.; LIMA, W.M. Prevalence of serological markers and risk factors for bloodborne pathogens in Salvador, Bahia. **Epidemiol Infect**, v. 141, p. 181-187. 2013.

MESQUITA, R.P.; MESQUITA, G.S. *Trypanosoma cruzi* in the endometrium of infected mice. **Acta Cytol**, v. 26, p. 261-262. 1982.

MOSER, D.R.; KIRCHHOFF, L.V.; DONELSON, J.E. Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA amplification using the polymerase chain reaction. **J. Clin Micro**, v. 22, p. 1477-1482. 1989.

MS. Ministério da Saúde. Recomendações sobre o diagnóstico parasitológico, sorológico e molecular para confirmação da Doença de Chagas. **Rev Pat Trop**, v. 42, p. 475-478. 2013.

MS. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico: Doença de Chagas**. Secretaria de Vigilância Epidemiológica. 2020.

MS. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico: Doença de Chagas**. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2021.

MUNN, Z.; PETERS, M.D.J.; STERN, C.; TUFANARU, C.; McARTUR, A.; AROMATARIS, E. Systematic review or scoping review? Guidance for authors when choosing between a systematic or scoping review approach. **BMC Med Res Methol**, v. 18, p.1-7. 2018.

NATHAN-LARRIER, L. La Schizotripaniose americaine, peut elle être transmise par contagiou genitale. **Compt. Rend. Soc. Biol**, v. 84, p. 773-775. 1921.

OPAS. Chagas Disease. Organização Pan Americana de Saúde. 2024. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/node/4898>. Acessado em Abr 2024.

OSTERMAYER, A.L.; DE CASTRO, A.M. **Diagnóstico Sorológico da Doença de Chagas**. Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral [online]. Editora Fiocruz. 1997.

OSTERMAYER, A.L.; PASSOS, A.D.C.; SILVEIRA, A.C.; FERREIRA, A.W.; MACEDO, V.; PRATA, A.R. O Inquérito Nacional de Soroprevalência de Avaliação do Controle da Doença de Chagas no Brasil (2001-2008). **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**, v.44, p.108-121. 2011

PAGE, M.J.; McKENZIE, J.E.; BOSSUYT, P.M.; BOURTRON, I.; HOFFMANN, T.C.; MULROW, C.D.; SHAMSEER, L. et al. A declaração PRISMA 2020: diretriz atualizada para relatar revisões sistemáticas. **Rev. Panam Salud Publica**, v. 48, p. 1-12. 2022.

PITTELLA, J.E.H. O Processo de Avaliação em Ciência e a Indicação de Carlos Chagas ao Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**, v. 42, p.67-72. 2009.

PAULIN, J.J. The chondriome of selected trypanosomatids. A three-dimensional study based on serial thick sections and high voltage electron microscopy. **J Cell Bio**, v. 66, p. 404-413. 1975.

RAMOS JR, A.N.; HEUKELBACK, J. Chagas's Disease (BMJ Poitof Care – Monograph). London: British Medical Journal Group. 2010.

REY, L. Doença de Chagas. Bases da Parasitologia Médica. 2ª Ed. Guanabara Koogan. P. 102-112. 2008.

RIBEIRO-JR, G.; DE ARAÚJO, R.F.; CARVALHO, C.M.M; CUNHA, G.M.; LANZA, F.C.; MIRANDA, D.L.P. et al. Triatomine fauna in the state of Bahia, Brazil: what changed after 40 years of the vector-control program? **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 55, p. 1-9. 2022.

RIBEIRO, M.; NITZ, N.; SANTANA, C.; MORAES, A.; HAGSTROM, L.; ANDRADE, R.; RIOS, A.; SOUZA, A.; DALLAGO, B.; GURGEL-GONÇALVES, R. HECHT, M. Sexual Transmission of *Trypanosoma cruzi* in murine model. **Exp Parasitol**, v. 162, p. 1-6. 2016.

RIOS, A.; RIBEIRO, M.; SOUZA, A.; PIMENTEL, F.; HANGSTROM, L.; ANDRADE, R.; ALVES, R.M.; ROSA, A.C.; TEIXEIRA, A.R.L; NITZ, N.; HECHT, M.M. Can sexual transmission support the enzootic cycle of *Trypanosoma cruzi*? **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 113, p.3-8. 2018.

SAMBROOK, J.; FRITSH, E.F.; MANIATIS, T. Molecular cloning – A Laboratory Manual. New York: Cold Spring Harbor, Laboratory, 2 Ed, 1989.

SHAPIRO, T.A.; ENGLUND, P.T. The Structure and Replication of Kinetoplast DNA. **Annu Rev Microbiol**, v. 1995, p. 117-143. 1995.

SCHMUNIS, G.A. Epidemiology of Chagas Disease in non-endemic countries: the role of international migration. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 102, p. 75-85, 2007.

SES. Boletim Epidemiológico: Boletim Epidemiológico de Doença de Chagas no Estado da Bahia. Secretaria da Saúde. 2019.

TEIXEIRA, A.R.L.; ROTERS, F.; MOTT, K.E. Acute Chagas disease. **Gaz Méd Bahia**, v. 70, p. 176-186. 1970.

TEIXEIRA, A.R.L.; NASCIMENTO, R.J.; STURM, N.R. Evolution and Pathology in Chagas disease – A Review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 463-491. 2006.

TRICCO, A.C.; LILLIE, E.; ZARIN, W. O'BRIEN, K.K.; COLQUHOUN, H.; LEVAC, D. et al. PRISMA Extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR): Checklist and Explanation. **Ann Intern Med**, v. 169, p. 1-19. 2018.

VEXENAT, A.C. Diagnóstico sorológico diferencial de infecções causadas por *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania chagasi* e outras doenças crônicas. 1993. Universidade de Brasília – Brasília. 1993.

VIANNA, G. Contribuição para o estudo da anatomia patológica da 'Moléstia de Chagas'. **Mem Inst. Oswaldo Cruz**, v.3, p. 276-294. 1911.

ZANIELO, B.A; KESSLER, D.A.; VINE, K.M. GRIMA, K.M. WEISENBERG, S.A. Seroprevalence of Chagas Infection in the Donos Population. **PLoS Neg Trop Dis**, v. 6. 2012.

WHO. Chagas Disease (also know as American Trypanosomiasis). World Health Organization. 2024. Disponível em: <https://www.who.int/news->

[room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\).](#)

Acessado em: Abr. 2024.

Anexo 1 – Registro do Protocolo de Revisão Sistemática da Literatura no Registro Internacional Prospectivo de Revisões Sistemáticas

PROSPERO
International prospective register of systematic reviews

NHS
National Institute for
Health Research



Animal review

A list of fields that can be edited in an update can be found [here](#)

1. * Review title.

Give the working title of the review. This must be in English. The title should have the interventions or exposures being reviewed and the associated health or social problems.

Sexual transmission of Trypanosomatidae family protozoan

2. Original language title.

For reviews in languages other than English, this field should be used to enter the title in the language of the review. This will be displayed together with the English language title.

Transmissão Sexual de Protozoários da Família Trypanosomatidae

3. Anticipated or actual start date.

Give the date when the systematic review commenced, or is expected to commence.

01/07/2023

4. Anticipated completion date.

Give the date by which the review is expected to be completed.

31/08/2023

5. Stage of review at time of this submission.

Indicate the stage of progress of the review by ticking the relevant Started and Completed boxes. Additional information may be added in the free text box provided.

Please note: Reviews that have progressed beyond the point of completing data extraction at the time of initial registration are not eligible for inclusion in PROSPERO. Should evidence of incorrect status and/or completion date being supplied at the time of submission come to light, the content of the PROSPERO record will be removed leaving only the title and named contact details and a statement that inaccuracies in the stage of the review date had been identified.

This field should be updated when any amendments are made to a published record and on completion and publication of the review.

The review has not yet started: No

Review stage	Started	Completed
Preliminary searches	Yes	Yes
Piloting of the study selection process	Yes	Yes
Formal screening of search results against eligibility criteria	Yes	Yes
Data extraction	Yes	Yes
Risk of bias (quality) assessment	Yes	Yes
Data analysis	Yes	Yes

Provide any other relevant information about the stage of the review here.

This Review was concluded.

This Review was concluded.

6. * Named contact.

The named contact acts as the guarantor for the accuracy of the information presented in the register record.

Marillia Lima Costa

Email salutation (e.g. "Dr Smith" or "Joanne") for correspondence:

Ms Lima Costa

7. * Named contact email.

Enter the electronic mail address of the named contact.

marillia.limacosta@gmail.com

8. * Named contact address.

Enter the full postal address for the named contact.

Rua Caiaponia, N. 410. VI. Progresso. \nJatã-Goiã-s-Brasil

9. Named contact phone number

Enter the telephone number for the named contact, including international dialling code.

64996113169

10. * Organisational affiliation of the review.

Full title of the organisational affiliations for this review and website address if available. This field may be completed as 'none' if the review is not affiliated to any organisation.

Universidade Federal de Goias

Organisation web address:

marillia.limacosta@gmail.com

11. * Review team members and their organisational affiliations.

Give the personal details and the organisational affiliations of each member of the review team. Affiliation refers to groups or organisations to which review team members belong. **NOTE: email and country are now mandatory fields for each person.**

Ms Marillia Lima Costa. Universidade Federal de Goiás
Mr Eduardo José Santos. Universidade Federal de Goiás
Mrs Renata Macedo de Oliveira. Universidade Federal de Goiás
Dr Marco Tulio Zapata. Universidade Federal de Goiás

12. * Funding sources/sponsors.

Give details of the individuals, organisations, groups or other legal entities who take responsibility for initiating, managing, sponsoring and/or financing the review. Any unique identification numbers assigned to the review by the individuals or bodies listed should be included.

This review is funded by own researchers resurces that are conduncing.

Grant number(s)

13. * Conflicts of interest.

List any conditions that could lead to actual or perceived undue influence on judgements concerning the main topic investigated in the review.

None

14. Collaborators.

Give the name, affiliation and role of any individuals or organisations who are working on the review but who are not listed as review team members.

15. * Review question.

Give details of the question to be addressed by the review, clearly and precisely.

Is there any risk of sexual transmission by Trypanosomatidae family protozoan? There is no population of interest; any research that analyze the sexual or urinary system of animals and human infected by any protozoan of Trypanosomatidae family will be included in this review.

Context and rationale

Provide a brief description of the context and rationale of the review, including information on the relevance of your review for human health (max 250 words).

Trypanosomatids is a protozoan family responsible for some important health public diseases: Chagas disease, Leishmaniasis and African Tripanosomiasis. They affects mainly poor people and are considered as neglected diseases.

Protozoan of Trypanosomatidae family are responsible for some infections that are considered an important problem in public health and some recently research have demonstrated that some protozoan could be transmitted by sexual route. As many research begin with animals, the knowledge of the possibility of those protozoan sexual transmission will help to improve the research in human population and find the real risk of this kind of transmission.

16. * Searches.

Give details of the sources to be searched, and any restrictions (e.g. language or publication period). The full search strategy is not required, but may be supplied as a link or attachment.

This research will be conducted in databases such PubMed, Portal Capes, LILACS and Global Health with the follows terms: "Trypanosomatidae", "Trypanosoma cruzi", "Transmissão sexual", "Sêmen", "Secreção vaginal", "Kinetoplastidae" in English, Spanish and Portuguese by three researchers in an independent way between 10/08 and 30/08/2021

17. URL to search strategy.

Give a link to the search strategy or an example of a search strategy for a specific database if available (including the keywords that will be used in the search strategies).

https://www.crd.york.ac.uk/PROSPEROFILES/239112_STRATEGY_20210706.pdf

Alternatively, upload your search strategy to CRD in pdf format. Please note that by doing so you are consenting to the file being made publicly accessible.

Do not make this file publicly available until the review is complete

PROSPERO
International prospective register of systematic reviews

18. * Human disease modelled.

Give a short description of the disease, condition or healthcare domain being modelled.

Infectious disease, Chagas disease, Leishmaniasis, African Tripanosomiasis

19. * Animals/population.

Give summary criteria for the animals being studied by the review, e.g. species, sex, details of disease model. Please include details of both inclusion and exclusion criteria.

Inclusion criteria:

Any animal (including humans) who had been sexually infected by any Trypanosomatidae family protozoan or had the parasite in his sexual or urinary system.

Exclusion criteria:

Animals (including human) infected that had never been sexually infected by any Trypanosomatidae family protozoan or don't presented the parasite in his sexual or urinary system.

20. * Intervention(s), exposure(s).

Give full and clear descriptions of the nature of the interventions or the exposures to be reviewed (e.g. dosage, timing, frequency). Please include details of both inclusion and exclusion criteria.

Inclusion criteria:

Sexual trasmission of any Trypanosomatidae family protozoan or his presence in sexual and/or urinary system that suggest or prove the sexual transmission.

Exclusion criteria:

Will be excluded every work who hadn't the presence of any Trypanosomatiae family protozoan in sexual and/or urinary system and/or secretion and papers that are not related to trypanosomatids sexual transmission.

21. * Comparator(s)/control.

Where relevant, give details of the type(s) of control interventions against which the experimental condition(s) will be compared (e.g. another intervention or a non-exposed control group). Please include details of both inclusion and exclusion criteria.

Inclusion criteria:

The experimental conditions will not be compared. So, there are not any inclusion criteria.

Exclusion criteria:

The experimental conditions will not be compared. So, there are not any exclusion criteria.

22. * Study designs to be included.

Give details of the study designs eligible for inclusion in the review. If there are no restrictions on the types of

PROSPERO
International prospective register of systematic reviews

study design eligible for inclusion, or certain study types are excluded, this should be stated. Please include details of both inclusion and exclusion criteria.

Inclusion criteria:

Will be included controlled studies with separate infected and non infected groups.

Exclusion criteria:

Will be excluded studies that not analyze the infection or the protozoan presence in sexual and urinary systems.

23. Other selection criteria or limitations applied.

Give details of any other inclusion and exclusion criteria, e.g. publication types (reviews, conference abstracts), publication date, or language restrictions.

There is no restriction related to publication date. Will be included studies published in English, Spanish and Portuguese.

24. Outcome measure(s).

Give detail of the outcome measures to be considered for inclusion in the review. Please include details of both inclusion and exclusion criteria.

Inclusion criteria:

Will be included in this review only original and experimental studies in which the presence of any Trypanosomatidae family protozoan evolutionary forms is found in sexual and/or urinary system and/or secretion. Will be included also studies that suggests or prove those protozoan sexual transmission, published in English, Portuguese and Spanish any period of time.

Exclusion criteria:

Will be excluded reviews and other types of publications and studies that demonstrate the infection by Trypanosomatidae family protozoan in the population but do not demonstrate his presence in sexual and/or urinary system and/or secretion or prove the sexual transmission in the analyzed population. Will be excluded studies published in other languages than English, Portuguese and Spanish.

25. N/A.

This question does not apply to systematic reviews of animal studies for human health submissions.

26. Study selection and data extraction.

Procedure for study selection

Give the procedure for selecting studies for the review, including the screening phases (title and/or title-abstract and/or full-text), the number of researchers involved, and how discrepancies will be resolved.

Three researches will work in this review and the discrepancies will be resolved with a discussion between them. After the research in the database, the studies will be selected first by the title, after by abstract and then by the full text.

Prioritise the exclusion criteria

Multiple exclusion criteria may apply to an abstract/paper, which can cause discrepancies between reviewers in the reason for exclusion recorded. To avoid this, it is helpful to prioritize the exclusion criteria (e.g. 1) not an animal study; 2) not a myocardial infarction model, etc.) and record the highest ranking applicable criterion as the reason for exclusion. Please sort the exclusion criteria defined in questions 19 to 24. If applicable, do so for each screening phase.

~~Studies related to others protozoan than Trypanosomatidae family protozoan.~~ - Studies that demonstrate infection by Trypanosomatidae family protozoan in others organs and/or systems than urinary and/or sexual.

Methods for data extraction

Describe methods for data extraction, including the number of reviewers performing data extraction, extraction of data from text and/or graphs, whether and how authors of eligible studies will be contacted to provide missing or additional data, etc.

The data extraction will be realized by the three researchers that will select the studies for the review. Data as protozoan specie, studies features, protozoan presence in organs and secretions, results and informations about sexual transmission will be collected from the studies selected and the authors will be contacted by e-mail. All discrepancies will be resolved by a conversation and a consensus between the researches.

Data to be extracted: study design

Specify the data to be extracted related to characteristics of the study design, e.g. controlled versus cross-over, number of experimental groups, etc.

Data as protozoan specie and animal specie evaluated, study aim, protozoan presence in sexual and/or urinary systems organs and/or secretion, the experiments results and if the study suggests the sexual transmission.

Data to be extracted: animal model

Specify the data to be extracted related to characteristics of the animal model, e.g. species, sex of the animals, etc.

Will be extracted from the selected studies information like animal specie evaluated and the protozoan presence in sexual and/or urinary systems organs and/or secretion.

Data to be extracted: intervention of interest

Specify the data to be extracted related to characteristics of the intervention of interest, e.g. dose, timing, etc.

Will be extracted data as the protozoan presence in sexual and/or urinary organs or secretion from the animals and if there was or not sexual transmission between the animals evaluated.

Data to be extracted: primary outcome(s)

Define the primary outcome measure(s). For each outcome measure, specify in which format data will be extracted, including the eligible units of measurement, and data type (continuous/dichotomous). A description of any other manipulation or transformation of the extracted data that is planned may be included.

About the primary outcome (the protozoan sexual transmission between the animals evaluated) will be extracted data regardless the species analyzed. Will be the same for animals and humans.

Data to be extracted: secondary outcome(s)

Define the secondary outcome measure(s). For each outcome measure, specify in which format data will be extracted, including the eligible units of measurement, and data type (continuous/dichotomous). A description of any other manipulation or transformation of the extracted data that is planned may be included.

The second outcome (the presence of any evolutionary form from Trypanosomatidae family protozoan in sexual and/or urinary system) will be extracted if the protozoan is present or not in those places and if the results will be extracted regardless the species analyzed. Will be the same for animals and humans.

Data to be extracted: other

Specify any other data or study characteristics to be extracted, e.g. bibliographical details, such as author, year and language.

Will be extracted the study aim and his result.

27. Risk of bias and/or quality assessment.

State whether and how risk of bias and/or study quality will be assessed. Assessment tools specific for pre-clinical animal studies include SYRCLE's risk of bias tool and the CAMARADES checklist for study quality

No risk of bias and/or quality assessment planned

Yes

By use of SYRCLE's risk of bias tool

No

By use of SYRCLE's risk of bias tool adapted as follows:

No

By use of the CAMARADES checklist for study quality

No

By use of the CAMARADES checklist for study quality, adapted as follows:

No

Other criteria, namely

No

Method for risk of bias and/or quality assessment

Give the procedure for the risk of bias and/or quality assessment, including the number of reviewers involved, their contribution, and how discrepancies will be resolved.

28. * Strategy for data synthesis.

Planned approach

For each outcome measure, specify whether a quantitative or narrative synthesis is planned and how this decision will be made.

A Narrative synthesis will be made for each outcome measure (the sexual transmission and the protozoan presence in sexual and/or urinary systems organs and/or secretion).

If a meta-analysis is planned, please specify the following:

Effect measure

For each outcome measure, specify the effect measure to be used (e.g. mean difference, odds ratio etc.).

The results will be measured by qualitative analysis if there is a sexual transmission possibility or not.

Effect models

For each outcome measure, specify the statistical model of analysis (e.g. random-effects or fixed-effect model).

PROSPERO
International prospective register of systematic reviews

Will not be performed any statistical analysis for the outcome measure.

Heterogeneity

Specify the statistical methods to assess heterogeneity (e.g. I^2 , Q). For further guidance please refer to the [introduction](#) and [practical guide](#) to pre-clinical meta-analysis.

Will not be performed any statistical analysis to assess heterogeneity.

Other

Specify other details of the meta-analysis methodology (e.g. correction for multiple testing, correction for multiple use of control group).

Since the selected studies are heterogeneous, meta-analysis will not be performed.

29. * Analysis of subgroups or subsets.

Subgroup analyses

Give any planned exploration of subgroups or subsets within the review. 'None planned' is a valid response if no subgroup analyses are planned.

None planned.

Sensitivity

For each outcome measure, specify any sensitivity analyses you propose to perform.

Will not be performed any sensitivity analyses for the outcome measure.

Publication bias

Specify whether an assessment of publication bias is planned. If applicable, specify the method for assessment of publication bias.

Will not be performed any assessment of publication bias.

30. * Review type.

Type of review

Animal model review

Yes

Experimental animal exposure review

No

Pre-clinical animal intervention review

No

31. Language.

Select each country individually to add it to the list below, use the bin icon to remove any added in error.

English

There is an English language summary.

32. * Country.

Select the country in which the review is being carried out from the drop down list. For multi-national collaborations select all the countries involved.

Brazil

33. Other registration details.

List other places where the systematic review protocol is registered. The name of the organisation and any unique identification number assigned to the review by that organisation should be included.

This systematic review hasn't been registered yet.

34. Reference and/or URL for published protocol.

Give the citation and link for the published protocol, if there is one.

There is no published protocol.

Add web link to the published protocol.

Or, upload your published protocol here in pdf format. Note that the upload will be publicly accessible.

No I do not make this file publicly available until the review is complete

Please note that the information required in the PROSPERO registration form must be completed in full even if access to a protocol is given.

35. Dissemination plans.

Give brief details of plans for communicating essential messages from the review to the appropriate audiences.

No

Give brief details of plans for communicating review findings.?

36. * Keywords.

Give words or phrases that best describe the review. Separate keywords with a semicolon or new line.

Sexual transmission; trypanosomatids; Trypanosoma; Leishmania.

37. Details of any existing review of the same topic by the same authors.

Give details of earlier versions of the systematic review if an update of an existing review is being registered, including full bibliographic reference if possible.

38. ~~Change~~ review status.

Review status should be updated when the review is completed and when it is published.

Please provide anticipated publication date

Review_Completed_not_published

39. ~~Any~~ additional information.

Provide any further information the review team consider relevant to the registration of the review.

This review look for all the information about Trypanosomatidae protozoan sexual transmission, regardless the species analyzed (animals and human). This research seeks the presence of those protozoans in sexual transmission in the tropic and subtropical regions. As determine system in the tropic and subtropical regions that analyze the species analyzed in humans. In this way we decided include the humans and animals in the same systematic review.

40. Details of final report/publication(s) or preprints if available.

This field should be left empty until details of the completed review are available OR you have a link to a preprint. Give the full citation for the preprint or final report or publication of the systematic review.

Give the link to the published review or preprint.

Anexo 2 - Formulário de Pesquisa

Formulário Para Captação de Dados Clínico-Epidemiológicos – UFRB/UNB

1. Identificação :

Grupo :

Nome : _____

Data de Nascimento : ___/___/___ Idade : _____ Sexo : F () M ()

Endereço : _____

Fone : residencial/celular (/)

E-mail : _____

Religião : _____

Onde nasceu ? (cidade/Estado) _____ rural (), urbana ()

Procedência (cidade onde mora atualmente) : _____

Quanto tempo você mora na sua cidade atual ? _____

Cidades onde morou : _____ UF _____ /tempo ?

Em quais cidades e Estados seus pais nasceram ? Durante quanto tempo ?

Pai : cidade : _____ UF _____ Tempo ? _____ área rural ? () ou área urbana ? ()

Mãe : cidade : _____ UF _____ Tempo ? _____ área rural ? () ou área urbana ? ()

Sua profissão ?

Seu local de trabalho :

Grau de escolaridade :

Estado civil : solteiro (), casado (), divorciado (), separado (), união estável (), viúvo (), outros () _____

Raça : parda () branca () negra () amarela () indígena () ignorada ()

Renda familiar : _____ salário(s) mínimo(s)

2. Condições de Moradia

Casa () ou apartamento () ?

Construção do imóvel : madeira () alvenaria () mista () taipa ()

Número de cômodos (incluindo banheiro(s)) : _____

Cobertura : telha () palha () madeira () mista ()
Com forro () sem forro () mista () laje ()
Com tela () sem tela ()
Banheiro : dentro de casa () fora de casa () dentro e fora da casa ()
Fossa : biológica seca () aberta () negra () encanada () outros ()
Terreno : alagado () seco () alagável ()
Área : rural () urbana () ribeirinho ()
Água para consumo : encanada () poço () rio () outros () _____
Preparo da água para beber : coada () filtrada () fervida () mineral ()
hipoclorito () da torneira ()
Energia : elétrica () gás () vela () outros () _____
Número de habitantes na residência : _____
Eletrodomésticos : nº _____
Meio de transporte : carro próprio (), bicicleta (), animais () t. urbano ()
a pés () barco ()

3. Peridomicílio e Domicílio

Animais : chiqueiro () galinheiro () cachorro () gato () ratos () Aves ()
animais silvestres () sem animais (), mais de um tipo de animal ().
Árvores : açazeiro (), injazeiro () buritizeiro () outras () sem árvores ()
Rios () lagos () mata () madeira () dematamento () asfalto () reserva
ambiental () outros ()
Empresas () lixo () invasão urbana ()

4. Vetor (Transmissor da Doença de Chagas : barbeiro, besouro, etc.)

Já viu o barbeiro ? Sim () não ()
Onde viu o inseto ? _____
Você já viu o barbeiro na sua residência ? Sim (), não () não lembra ()
Você já viu o barbeiro na residência de seus parentes ? Sim () não () não
lembra ()
Quando ? _____
O que fez com ele ? _____
Foi picado ? Sim () Não ()
Quando ? _____ Localidade onde foi picado ? _____

Conhece alguém que foi picado pelo barbeiro ? Sim () Não ()

Quem ? _____

5. Transfusão sanguínea :

Sim () Não ()

Quando ? _____

Onde ? _____

Por quê ? _____

Você já doou sangue ? Sim () Não ()

Há quanto tempo fez a última doação ? _____ Quantas vezes doou ? _____

6. Acidente de Trabalho (exposição de tecidos)

Sim () Não ()

Fez exames ? Sim () não () quais ? _____

Fez tratamento para a suspeita de infecção chagásica na época do diagnóstico ? Sim () Não ()

Qual foi o medicamento utilizado para o acidente ? _____ Quando ? _____ Quanto tempo ? _____

7. História Clínica

Tem doença de Chagas ? Sim () Não ()

Caso tenha doença de Chagas, foi diagnosticada por exame parasitológico (exame de sangue onde é visualizado o parasita causador da doença) ? Sim () Não ()

Caso tenha a doença de Chagas, foi diagnosticado por exame de sorologia ? Sim () Não ()

Tem boa saúde ? _____ Tem suor frio ? _____ Tem palpitação ? _____

Tem falta de ar ? _____ Cansa fácil ? _____ que tipo de esforço ? _____

Já desmaiou ? _____ quando ? _____ Perdeu a consciência ? _____

Teve derrame ? _____ Tem inchaço nas pernas ? _____ Tem câimbras ? _____

Tem fraqueza ? _____ Tem dores musculares ? _____ onde ? _____

Tem dificuldade para engolir ? _____ precisa tomar líquidos ou água para a comida *descer* ? _____ Desde quando sente dificuldade para

engolir ? _____ qual seu tipo de comida preferida, a sólida, pastosa ou líquida ? _____ tem dificuldade para evacuar fezes (obstipação) ? _____ quantos dias fica sem evacuar ? _____ precisa tomar remédios (laxante) para evacuar ? _____ qual ? _____ desde quando tem dificuldade para evacuar ? _____ já fez exames para avaliar o esôfago e os intestinos ? _____ o resultado foi normal ? _____ tem caroço na barriga ? _____

8. Marque com um (x) a doença que você tem ou faz tratamento, caso tenha outra doença, anote abaixo :

- a) Pressão alta ()
- b) Diabetes ()
- c) Colesterol alto ()
- d) Câncer () : _____
- e) Sequela de derrame cerebral () _____
- f) Doença na tireoide () _____
- g) Doença nos pulmões () _____
- h) Doença do fígado () : _____
- i) Varizes ()
- j) Doenças do Estômago e digestão () : _____
- k) Doenças nos rins () : _____
- l) Fumante ? ()
- m) Ex-fumante há _____ (tempo)
- n) Outra doença _____

9. Antecedentes Familiares

Pai vivo ? _____ mãe viva ? _____ seus pais são parentes ? _____ qual o grau de parentesco ? _____ seus pais moram em casa com barbeiro ? _____ durante quantos anos ? _____ seu pai já foi picado ? _____ sua mãe já foi picada ? _____ você tem irmãos ? _____ quantos ? _____ Abaixo liste o nome, idade de seus irmãos e se moram em casa com barbeiro e por quanto tempo :

Você tem parentes com problemas de saúde abaixo ? Escreva sim ou não e diga qual o grau de parentesco

- a) Sofre do coração :
- b) Falta de ar :
- c) Inchaço nas pernas :
- d) Você tem parente(s) aposentado(s) por doença ? Sim () Não () Qual(is) a(s) doenças (s) ? _____ e o grau de parentesco ? _____
- e) Você tem parentes que morreram subitamente por doença no coração ? Sim (), não () Quem ? _____
- f) Você tem parentes com doença de Chagas ? Sim (), não (), Quem ? _____

10. Tratamento Específico para Doença de Chagas

- Você já fez algum tratamento específico para doença de Chagas ? _____
Faz quantos anos ? _____
Qual(is) a(s) droga(s) utilizada(s) ? _____
Usou durante quantos dias ? _____
Onde foi realizado o tratamento ? _____

11. Exames Clínicos

- Já fez RX dos intestinos ? sim (), não () quando ? _____. O resultado foi normal () ou alterado ()
Já fez RX do esôfago ? sim (), não () quando ? _____. O resultado foi normal () ou alterado ()
Já fez eletrocardiograma ? sim (), não () quando ? _____. O resultado foi normal () ou alterado ()
Qual foi a alteração no eletrocardiograma ? _____

(Até aqui preenchido pelo Assistente do Médico Clínico)

12. Avaliação Clínica (parte do Formulário Preenchida pelo Médico que atender o paciente)

a) Geral

Peso : _____ Altura : _____ temperatura : _____ Pulso : regular ()
irregular () FC : _____ Pressão arterial MSD : _____ MSE : _____ MID :
_____ MIE : _____ Aparência geral : _____
Mucosas : _____, pele : _____ edema de mmii
_____ Fâneros : _____

b) Tórax :

Inspeção : _____

Palpação : _____

Ausculta pulmonar : _____

Ausculta cardíaca : _____

Ictus : _____

Frêmitos : _____

Bulhas, estalidos : _____

Atritos : _____ Sopros : _____

c) Vascular periférico :

Artérias (pulsos) : carótidas, braquial, radial, femoral, poplítea, tíbia,
pediosa : _____

Veias : jugular, membros superiores e membros inferiores :

d) Abdome :

Inspeção : _____

Ausculta : _____

e) Exame neurológico :

Assinatura do examinador : _____

Assinatura do voluntário : _____

Local/Data : _____, ____ de _____ de _____.

Anexo 3 - Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa



Universidade de Brasília

Faculdade de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos CEP-FM

ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Registro do projeto: CEP/FM 068/2012.

Título: "Frequência de mutações de KDNA de *Trypanosoma* *Cruzi* na população do Recôncavo Baiano".

Pesquisador responsável: Antônio Raimundo Lima Cruz Teixeira.

Documentos analisados: Folha de rosto, carta de encaminhamento assinada por todos os pesquisadores, projeto de pesquisa em português, Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, *curriculum vitae* do pesquisador principal e dos demais pesquisadores participantes, orçamento do projeto de pesquisa, cronograma, bibliografia pertinente.

Data de entrada: 10/08/2012.

Data da primeira avaliação: 20/10/2012.

Proposição do(a) Relator(a):

Aprovação

Reencaminhar ao pesquisador responsável para atendimento de pendências

Não aprovação

Data do parecer final do(a) Relator(a): 11/12/2012.

Aprovação

Não aprovação

Data da análise pelo CEP-FM/UnB: 12/12/2012.

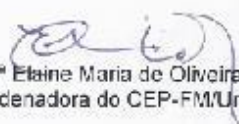
PARECER

Com base na Resolução CNS/MS n.º 196/96 e resoluções posteriores que regulamentam a matéria, o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, em sua Reunião Ordinária, realizada em 12/12/2012, decidiu aprovar, de acordo com o parecer do(a) Relator(a), o projeto de pesquisa acima especificado quanto aos seus aspectos éticos.

Observações:

1. Modificações no protocolo devem ser submetidas ao CEP-FM/UnB antes de serem implementadas.
2. Os pesquisadores devem apresentar relatórios periódicos do andamento da pesquisa ao CEP-FM, estando o primeiro previsto para 15/08/2013.

Brasília-DF, 13/12/2012


Prof.ª Dr.ª Elaine Maria de Oliveira Alves
Coordenadora do CEP-FM/UnB

Faculdade de Medicina, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, Brasília-DF CEP 70910-900.
Telefone: (61) 3107-1818. Endereço eletrônico: cepfm@unb.br

Anexo 4 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TÍTULO: Frequência de mutações de kDNA de Trypanosoma cruzi na população do Recôncavo Baiano

Estamos pedindo seu consentimento para participar voluntariamente em um estudo sobre a Doença de Chagas. Nós queremos saber como a pessoa que tem a infecção pode ter sua saúde alterada. Para isso precisamos estudar suas células, onde pode ocorrer a alteração. Talvez essas alterações estejam associadas com as queixas em algumas pessoas.

Se você decidir participar deste estudo, perguntaremos a você sobre seus familiares; onde você nasceu e sua exposição ao “barbeiro”, sobre seu trabalho e o número de pessoas que vivem em sua casa. Mediremos sua pressão e pulso, além do exame físico e faremos eletrocardiograma, teste ergométrico, ecodopplercardiograma e holter para analisar a função do seu coração. Precisaremos colher amostras de sangue de uma veia de seu braço. Isto pode causar um pequeno desconforto passageiro. Você poderá desistir e se retirar do estudo a qualquer momento, sem prejuízo dos cuidados médicos da equipe do estudo. Esta consulta não será paga por você e não está sujeita a cobrança de qualquer natureza. Nós não garantimos que haverá um benefício direto do estudo para você. Mas podemos garantir que o estudo é sigiloso e que nem mesmo a inicial do seu nome aparecerá em qualquer comunicação sobre esse assunto.

Decisão do paciente

Depois de ter lido e/ou ouvido a informação que me foi passado, sei o que significa o estudo proposto pelos Professores Antonio Teixeira, da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, e Dra. Adriana Almeida, médica cardiologista, e deixo registrado aqui que a minha decisão de participar neste estudo é voluntária e tem a importância de colaborar com a pesquisa para conhecer a doença de Chagas. Eu sei também que minha participação pode ser interrompida por mim a qualquer momento após o início do estudo, sem prejuízo para meu atendimento pela equipe médica da instituição.

Minha assinatura ou impressão digital testemunhada indica que fui eu que decidi participar dessa pesquisa e que li e/ou me foi dado conhecimento sobre o estudo, sendo que eu entendi tudo da forma explicada acima. Uma cópia deste documento ficará em meu poder.

_____, ____ de _____ de 20____. Hora:____:____.

Assinatura ou impressão digital do voluntário

Assinatura do pesquisador

Fones para contato e email
(paciente):_____.

Fones para contato dos pesquisadores:

Dra. Adriana: 61- 9811.9895

*Prof. Dr. Antonio
Teixeira: 61-3349.4987*

Anexo 5 – Normas para Publicação – Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene

Manuscript Preparation Instructions

Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene (TRSTMH), an official journal of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, publishes authoritative and impactful original, peer-reviewed articles and reviews on all aspects of tropical medicine including:

clinical tropical medicine
infectious diseases
parasitology and entomology
microbiology and virology
epidemiology
chemotherapy
immunology
public health, including social science

- Reviews should be up to 3500 words in length, with an unstructured abstract of up to 200 words and up to 60 references. Appropriate and relevant display items (text boxes, tables and figures) can also be included. Reviews give an authoritative account of an aspect of tropical medicine, but do not recapitulate material found in postgraduate textbooks. Highlighting these reviews provides readers with an insight into topics of current interest and widens the scope of the Journal bringing to the attention of readers emerging diseases and other developing aspects of global health.
- A Systematic Review, as defined by [The Cochrane Collaboration](#), is a review of a clearly formulated question that uses explicit, systematic methods to identify, select and critically appraise relevant research, and to collect and analyse data from the studies that are included in the review. These reviews differ substantially from narrative-based reviews or synthesis articles. Statistical methods (meta-analysis) may or may not be used to analyse and summarise the results of the included studies. A systematic review should include a Methods section stating clearly the sources (databases, journal or book reference lists, etc) of the material covered and the criteria used to include or exclude studies.
- Reviews of different lengths are sometimes commissioned by the editorial team. Please contact the Editorial Office journals@rstmh.org if you are considering writing a review.
- Commentaries should be up to 1000 words, with an unstructured abstract of up to 100 words and 10 references. These set in context and illustrate the significance of articles published in *TRSTMH* and are usually written as a result of a specific invitation. The Editor may invite commentaries on other topics that highlight developments in tropical medicine; for example commentaries can:
 - highlight and set in context a recent discovery
 - critically appraise established information and ideas
 - illustrate how established information and ideas can be relevant in a new context
 - show how established policy in tropical medicine may have unintended consequences.

Anexo 6 – Comprovante de Submissão do Artigo 1 à Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene

em Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene Marília Costa | Logout

Home Main Menu Submit a Manuscript About Help

← Submissions Waiting for Approval by Author

If no Actions appear for your submission, please wait a few minutes for your PDF to be built. The Actions appear automatically when your PDF is available.

The 'Edit Submission' link allows you to fix or alter your submission. Please use Edit Submission to make changes to the meta-data and to remove and upload new files that make up your submission.


The 'Remove Submission' link removes your submission from the system. Please use this ONLY if you would like to permanently remove this submission from the system.

Page: 1 of 1 (1 total submissions) Results per page 10

Action	Manuscript Number	Title	Date Submission Began	Status Date	Current Status	I have read the Instructions for Authors guidelines and the submissions checklist.
Action Links		SEXUAL TRANSMISSION OF ANTHROPNOTIC BLOOD PROTOZOA: A SCOPE REVIEW	Jul 22, 2024	Jul 22, 2024	Needs Approval	<input checked="" type="checkbox"/> I accept

Page: 1 of 1 (1 total submissions) Results per page 10

Anexo 7 – Normas para Publicação : Memórias do Instituto Oswaldo Cruz



MONDAY, 22 JULY 2024

JOURNAL OF MICROBES & THEIR VECTORS CAUSING HUMAN INFECTIONS

CONTENT INSTRUCTIONS TO AUTHORS EDITORIAL POLICY ONLINE SUBMISSION

HOME > INSTRUCTIONS TO AUTHORS

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

The Memórias' content is freely accessible to readers and no publication fees are charged to authors. The Memórias do Instituto Oswaldo Cruz has decided to simplify the requirements regarding the format of submitted manuscripts. From now on, all manuscripts may be submitted in any text format as long as the common subdivision of scientific articles are followed, e.g. introduction, materials and methods, results, discussion and references. For Reviews and Perspectives articles, authors may use the sections that best suit the structure and content of the proposed manuscript. All manuscripts should contain, besides the title and abstract, full details of authors and institutions, acknowledgements of any technical or financial assistance as well as state any conflicts of interest. This flexible text format will be used for the initial analysis and peer review. If the manuscript is accepted, authors will be requested to edit the text in accordance with the publication style of the Memórias."

Upon acceptance, the manuscript should be arranged in the following format:

The manuscript should be prepared using standard word processing software and should be printed (font size 12) double-spaced throughout the text, figure captions, and references, with margins of at least 3 cm. The figures should come in the extension tiff, with a minimum resolution of 300 dpi. Tables and legends to figures must be submitted all together in a single file. Figures must be uploaded separately as supplementary file.

Title: with up to 250 characters

Author's names: without titles or graduations

Institutional affiliations: full address of the all authors

Abstracts: Provide an abstract up to 200 words. Abstracts of research articles should be structured into 5 sections as follows: BACKGROUND, OBJECTIVES, METHODS, FINDINGS and MAIN CONCLUSIONS, each section addressing respectively the problem, the aim of the study, the main methodological approach, the most important findings and the conclusions of the study.

Key words: 3-6 items must be provided. Terms from the Medical Subject Headings (Mesh) list of Index Medicus should be used.

Sponsorships: indicate the sources of financial support.

Introduction: should set the purpose of the study, give a brief summary (not a review) of previous relevant work, and state what new advance has been made in the investigation. It should not include data or conclusions from the work being reported.

Materials and Methods: should give full and clear information to permit the study to be repeated by others. Standard techniques need only be referenced. However if a modification has been done in a standard protocol, it must be clearly described.

Ethics: when reporting experiments on human subjects, indicate whether the procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional or regional) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 1983. When reporting experiments on animals, indicate whether the institution's or a national research council's guide for, or any national law on the care and use of laboratory animals was followed. In case the research work is making use of natural resources (plant, microorganisms, biodiversity samples) authors must provide a statement that the research work is compliant with the national regulations on this subject.

Results: should be a concise account of the new information discovered, with the least personal judgement. Do not repeat in the text data already described in tables and illustrations.

Discussion: should emphasize the relevance of the new information and relate the new findings to existing knowledge. Only unavoidable citations should be included.

Acknowledgements: should list and give full credit to all of those (apart from authors) who has helped the achievement of the research work (including the funding organizations).

Conflict of Interests: authors must disclose any conflict of interest related to their research work.

Author's contribution: state each author's contribution to the research work.

Anexo 8 – Extrato de Submissão do Artigo 2 à Revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz



Sexual transmission of *Trypanosoma cruzi* in families from the Reconcavo Baiano region, Brazil

Journal:	<i>Memórias do Instituto Oswaldo Cruz</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Research Articles
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Costa, Marillia; Federal University of Goias, ; Santos, Eduardo; Federal University of Goias Araujo, Perla; Universidade de Brasilia Silveira-Lacerdaa, Elisângela; Universidade Federal de Goias Garcia-Zapata, Marco Tulio; Universidade Federal de Goias, IPTSP Guimaraes, Adriana ; Universidade de Brasilia, Pathology
Keyword:	sexual transmission, <i>Trypanosoma cruzi</i> , Chagas Disease
Theme:	Chagas Disease, Epidemiology, Genetics, Parasitology

SCHOLARONE™
Manuscripts

Apêndice 1 - Equipe do Projeto de Pesquisa

Equipe do Projeto de Pesquisa

Integrante	Função no Projeto	Etapa Executada	Curriculo lattes
¹ Prof. Dr. Antônio R.L. Teixeira	Autor e Idealizador do Projeto de Pesquisa	Elaboração e Escrita do Projeto de Pesquisa, Seleção dos Participantes e Coleta das Informações sociodemográficas pelo formulário de pesquisa.	http://lattes.cnpq.br/1908652343736926
² Prof. Dr. Marcílio Delan Baliza Fernandes	Colaborador	Seleção dos Participantes e organização da logística de coleta das amostras biológicas e informações sociodemográficas.	http://lattes.cnpq.br/6597581608037009
³ Dra. Adriana Benevides de Almeida	Colaboradora	Coleta das Informações sociodemográficas através do formulário de pesquisa e análise sorológica das amostras biológicas.	http://lattes.cnpq.br/9224774388388029
⁴ Dra. Perla Fabíola de Araújo	Colaboradora	Coleta e análise sorológica das amostras biológicas.	http://lattes.cnpq.br/7172454975998681
⁴ Prof. Dr. Marco Túlio A. Garcia-Zapata	Orientador	Orientação do desenvolvimento do projeto de pesquisa.	http://lattes.cnpq.br/3672512339058369

⁵ Prof. Dr. Cléver Gomes Cardoso	Colaborador	Colaboração na orientação do desenvolvimento do projeto de pesquisa.	http://lattes.cnpq.br/9545455455623006
⁶ Profa. Dra. Elisângela de Paula Silveira Lacerda	Co-orientadora	Co-orientação do desenvolvimento do projeto de pesquisa, além de disponibilizar o laboratório e os materiais necessários para as análises moleculares das amostras de sangue e de sêmen.	http://lattes.cnpq.br/9390789693192751
⁷ Prof. Dr. Carlos Eduardo Anunciação	Colaborador	Colaboração na orientação do desenvolvimento do projeto de pesquisa.	http://lattes.cnpq.br/4354412874919580
⁸ MSc. Eduardo José dos Santos	Colaborador	Pesquisador II da revisão e colaborador das análise Molecular das Amostras de sangue e sêmen.	http://lattes.cnpq.br/2863457276816692
⁹ Renata Macedo Lopes	Colaboradora	Pesquisadora III da revisão.	-----
¹⁰ MSc. Marillia Lima Costa	Pesquisadora responsável	Pesquisadora I da revisão, análise Molecular das Amostras de sangue e sêmen e análise das informações sociodemográficas obtidas no formulário de pesquisa.	http://lattes.cnpq.br/8086940135787765

Apêndice 2 – Tabelas de Extração de Dados dos Artigos Seleccionados para a Revisão

Tabela 01 : Estudos encontrados na literatura que sugerem a transmissão sexual de Tripanosomatídeos publicados entre os anos de 1992 a 2019.

Autor / Ano	Tipo de Estudo	Espécie de Protozoário estudada	Espécie Infectada Analisada	Objetivo do estudo	Tipo de amostra analisada	Método de Análise utilizado	Resultados Obtidos	Sugere a Transmissão Sexual
Omeke & Onuora, 1992	Estudo pré-clínico - experimental	<i>Trypanosoma brucei</i> e <i>Trypanosoma congolense</i>	Javalis	Comparar a patogênese e a histopatogênese de cepas de <i>T. brucei</i> e <i>T. congolense</i> .	- Sangue; - Sêmen; - Fígado; - Baço; - Coração - Testículo; - Epididimo;	Análise histopatológica Análise microscópica do sêmen;	Identificada a presença dos parasitos nas gônadas, responsáveis pela degeneração testicular e pela baixa produção espermática.	Não
Cabrine-Santos et al. 2003	Estudo pré-clínico - experimental	<i>Trypanosoma cruzi</i>	Hâmsster machos	Investigar a presença de <i>T. cruzi</i> e avaliar as mudanças geniturinárias dos hâmsster machos	- Testículos; - Epididimo; - Vesícula seminal; - Bexiga	Análise histopatológica Análise imunohistoquímica	Foi observada a presença de ninhos de amastigotas nos órgãos genitourinários dos animais infectados Foi identificada a presença de formas infectantes nos tecidos analisados e a presença de material genético do parasito nas amostras de sêmen	Sim
Diniz et al, 2005	Estudo observacional	<i>Leishmania</i> sp	Cães machos	Identificar a presença de amastigotas de <i>Leishmania</i> sp em órgãos genitais e no sêmen de cachorros com leishmaniose visceral	- Glande do pênis; - Prepúcio; - Sêmen	Imunohistoquímica; PCR	Foi observada a presença de formas infectantes nos tecidos analisados e a presença de material genético do parasito nas amostras de sêmen	Sim
Carvalho, et al. 2009	Estudo pré-clínico - experimental	<i>Trypanosoma cruzi</i>	Camundongos Swiss Webster	Investigar as interações entre o parasito e os componentes teciduais dos testículos	- Testículos	Análise histopatológica Análise histoquímica	Identificada a presença do <i>T. cruzi</i> nos componentes teciduais do testículo	Sim
Alarcón et al, 2011	Estudo observacional	<i>Trypanosoma cruzi</i>	Rato macho	Análise do sêmen de um rato infectado com <i>T. cruzi</i>	- Sêmen; - Flúido Seminal.	Exame direto e corado do plasma seminal	Foi identificada a presença de formas infectantes do <i>T. cruzi</i> na amostra de sêmen Foi identificada a presença de amastigotas nos testículos, responsável pela oquite apresentada pelo animal	Sim
Manna et al, 2012	Relato de Caso	<i>Leishmania infantum</i>	Cão macho	Relato de caso de um cão com orquite ocasionada por <i>Leishmania infantum</i>	- Sangue; - Urina; - Testículos; - Nódulos linfáticos	Citologia de Aspiração IFAT qPCR	Foi identificada a presença de <i>L. infantum</i> nas das amostras de sêmen e esmegma coletadas	Não
Silva et al, 2014	Estudo pré-clínico - experimental	<i>Leishmania infantum</i>	Cães e Cadelas	Avaliar a presença de <i>L. infantum</i> no esmegma de cães naturalmente infectados.	Sêmen e Esmegma	PCR	Foi identificada a presença do parasito nos órgãos analisados, incluindo os reprodutivos, tanto e machos quanto de fêmeas.	Sim
Biteau et al, 2015	Estudo pré-clínico - experimental	<i>Trypanosoma brucei gambiense</i>	Camundongos BALBC/cJ	Monitorar o tropismo que o <i>T. b. gambiense</i> possui no organismo de animais infectados experimentalmente e após a cópula	- Ovário; - Útero; - Testículos; - Cérebro; - Rim; - Fígado; - Pulmão; - Baço	Bioiluminescência PCR LAMP	Foi identificada a presença do parasito nos órgãos analisados, incluindo os reprodutivos, tanto e machos quanto de fêmeas.	Sim

Continuação da Tabela 01: Estudos encontrados na literatura que sugerem a transmissão sexual de Tripanosomatídeos publicados entre os anos de 1992 a 2019.

Autor / Ano	Tipo de Estudo	Espécie de Protozoário estudada	Espécie Infectada Analisada	Objetivo do estudo	Tipo de amostra analisada	Método de Análise utilizado	Resultados Obtidos	Sugere a Transmissão Sexual
Boechat et al. 2016	Estudo Observacional	<i>Leishmania infantum</i>	Cães e Cadelas	Avaliar a presença de <i>Leishmania infantum</i> e as alterações histológicas associadas à diferentes órgãos do trato genitário e as glândulas mamárias	- Pele; - Fígado - Medula espinal; - Nódulo linfático; - Órgãos do Sistema Genital Feminino e Masculino - Glândulas mamárias	Análise histopatológica Imunohistoquímica Hibridização in situ Cultura parasitológica	Foi identificada a presença, em pelo menos uma das técnicas, a presença do <i>L. infantum</i> em pelo menos um órgão	Sim
Da Silva, et al. 2016	Estudo pré-clínico - experimental	<i>Trypanosoma evansi</i>	Ovelhas e Carneiros	Investigar a ocorrência de transmissão venérea de <i>T. evansi</i> entre ovelhas infectadas experimentalmente, assim como acessar a presença do parasito no sêmen de carneiros e as alterações hematológicas e bioquímicas.	- Sangue; - Sêmen	PCR Hemograma Análise microscópica Contagem celular Análise bioquímica Ensaio imunoenzimático Cartão de Aglutinação Coloração de Romanowsky	Identificada a presença do <i>T. evansi</i> no sêmen, porém não houve a transmissão do parasito após a cópula.	Não houve transmissão sexual
De Oliveira et al. 2016a	Estudo Observacional	<i>Leishmania infantum</i>	Cães machos	Avaliar a correlação entre as mudanças estruturais, detecção de amastigotas e níveis parasitários em órgãos genitais de machos infectados pelo <i>Leishmania infantum</i>	- Testículos; - Epidídimo; - Próstata; - Glândula peniana; - Prepúcio; - Escroto.	Análise histopatológica Imunohistoquímica qPCR	Foi identificada a presença, em pelo menos uma das técnicas, a presença do <i>L. infantum</i> em pelo menos um órgão, com aumento da parasitemia no testículo e epidídimo.	Não
De Oliveira et al. 2016b	Estudo observacional	<i>Leishmania infantum</i>	Cadelas	Correlacionar os níveis parasitários, os aspectos imunológicos e reação inflamatória crônica com lesões no sistema genitais das cadelas naturalmente infectadas	- Vulva; - Vagina; - Cérvix; - Corpo uterino; - Trompas uterinas; - Ovários	Imunohistoquímica Análise histopatológica qPCR	Foi identificada a presença do protozoário nos tecidos analisados, especialmente no útero	Não
Quintal et al. 2016	Estudo pré-clínico - experimental	<i>Leishmania chagasi</i>	Hamsters machos	Identificar o mecanismo de infecção de <i>Leishmania chagasi</i> nos órgãos genitais das cobaias	- Baço; - Fígado; - Testículos; - Epidídimo	Análise histopatológica qPCR ELISA	Foi encontrada elevada parasitemia nos testículos e epidídimo e o trajeto que as formas infectantes fazem até chegar nesses órgãos e serem liberados pelo sêmen	Sim
Ribeiro, M et al. 2016	Estudo pré-clínico - experimental	<i>Trypanosoma cruzi</i>	Camundongos BALB/c	Investigação da transmissão sexual do <i>T. cruzi</i> em um modelo murinho experimental	- Sangue periférico; - Coração; - Músculo esquelético; - Intestino; - Testículo; - Ovário	Análise microscópica ELISA IFI PCR Nestad qPCR Análise histopatológica Imunohistoquímica	Foi identificada a presença de <i>T. cruzi</i> nas amostras de testículo e no ovário coletadas	Sim

Continuação da Tabela 01: Estudos encontrados na literatura que sugerem a transmissão sexual de Tripanosomatídeos publicados entre os anos de 1992 a 2019.

Autor / Ano	Tipo de Estudo	Espécie de Protozoário estudada	Espécie Infectada Analisada	Objetivo do estudo	Tipo de amostra analisada	Método de Análise utilizado	Resultados Obtidos	Sugere a Transmissão Sexual
Carvalho Jr et al, 2017	Estudo Observacional	<i>Leishmania</i> sp	Cães machos	Avaliar os níveis de parasitemia e processos inflamatórios de tecidos genitais de cães machos	- Sangue; - Pele; - Prepúcio; - Glande do pênis; - Testículo; - Epidídimo; - Próstata; - Medula óssea	Imunohistoquímica PCR	Foi identificada a presença de formas infectantes de <i>Leishmania</i> nos tecidos avaliados. Foi encontrada maior parasitemia nos animais sintomáticos	Sim
Magro et al, 2017	Estudo observacional	<i>Leishmania infantum</i>	Cadelas	Identificar a presença de <i>Leishmania infantum</i> na secreção vaginal de cadelas com cio induzido hormonalmente	- Mucosa vaginal; - Útero; - Vulva; - Vagina.	Imunohistoquímica PCR	Foi encontrada a presença do material genético de <i>L. infantum</i> na secreção vaginal e a presença de formas infectantes na vulva e mucosa vaginal, com maior incidência em cadelas que não tiveram o cio induzido hormonalmente	Sim
Bezerra et al, 2018	Estudo pré-clínico - experimental	<i>Trypanosoma vivax</i>	Cabritos	Investigar a presença do DNA do <i>T. vivax</i> no sêmen dos cabritos	- Sangue; - Sêmen - Sangue; - Fígado; - Coração; - Pâncreas; - Rim - Pênis; - Testículo; - Epidídimo; - Próstata;	PCR	Identificada a presença do <i>T. vivax</i> no sêmen	Sim
Yasine et al, 2019a	Estudo Observacional	<i>Trypanosoma equiperdum</i>	Cavalos e Éguas	Descrever as lesões histopatológicas de cavalos com infecção crônica	- Vesícula seminal; - Gl. Bulbouretral; - Ampola - Uretra; - Urina da Bexiga - Vagina; - Vestíbulo; - Cérvix; - Útero; - Gl. Mamária	Análise histopatológica PCR Análise sorológica	Presença do <i>T. equiperdum</i> nas amostras dos órgãos analisados, especialmente dos órgãos sexuais.	Sim
Boechat et al, 2020	Estudo Observacional	<i>Leishmania infantum</i>	Cães e Cadelas	Determinar a frequência, presença de infecção ativa, os níveis de parasitemia e as alterações histológicas causadas pelo <i>Leishmania infantum</i>	- Epidídimo; - Testículo; - Próstata; - Vulva; - Canal vaginal; - Corpo uterino.	Análise histopatológica Imunohistoquímica Cultura parasitológica qPCR	Foi identificada, em pelo menos uma das técnicas, a presença do <i>L. infantum</i> , em todas as amostras teciduais, sendo mais frequente em animais sintomáticos.	Não

Tabela 02: Estudos, encontrados na literatura, publicados entre 1992 e 2020 que comprovam a transmissão sexual dos Tripanosomatídeos.

Autor / Ano	Tipo de Estudo	Espécie de Protozoário estudada	Espécie Infectada Analisada	Objetivo do estudo	Tipo de amostra analisada	Método de Análise utilizado	Resultados Obtidos	Houve Transmissão Sexual
Herrera & Urdaneta - Morales, 2001	Estudo pré-clínico - experimental	<i>Trypanosoma cruzi</i>	Ratos NMRI	Investigar a possibilidade de transmissão através da mucosa da genitália	- Sangue; - Pele; - Músculo; - Esqueleto - Todos os órgãos, incluindo os do sistema reprodutor masculino e o ovário	Análise Histopatológica	Comprovada a infecção de ratos pela inoculação de sangue com formas infectantes na vagina e no pênis, identificada a presença das formas infectantes nos tecidos analisados, mas não houve contaminação dos ratos após cópula com animais infectados	Não
Silva et al, 2009	Estudo observacional	<i>Leishmania</i> sp	Cães e Cadelas	Investigar a possibilidade de transmissão sexual da leishmaniose em cães de região não endêmica e com ausência de vetor.	- Sêmen; - Trato genitourinário feminino;	Análise Histopatológica Imunohistoquímica e PCR	Fêmeas se infectaram com <i>Leishmania</i> após copularem com machos infectados. Sugere-se a infecção da fêmea através da cópula e posterior contaminação da prole pela via vertical	Sim
Teichmann et al, 2011	Relato de Caso	<i>Leishmania chagasi</i>	Cães machos	Investigar a forma de contaminação de uma cadela com infecção não autóctone	- Lesões de Pele; - Sangue; - Testículos; - Sêmen	Análise Histopatológica Sorologia	A comprovação da infecção pela cadela sugere sua contaminação após cópula com macho infectado	Sim
Naucke & Lorentz, 2012	Relato de Caso	<i>Leishmania</i> spp	Cadela e sua prole	Investigar a forma de transmissão da <i>Leishmania</i> spp em uma cadela de área não endêmica e com a ausência de inseto vetor	- Sangue; - Lesões cutâneas	Imunohistoquímica ELISA IFAI Eletroforese proteica	Foi comprovada a infecção em cães que tiveram contato sexual e físico com cão infectado	Sim
Karkamo et al, 2014	Relato de Caso	<i>Leishmania</i> sp	Cães e cadelas	Relato de caso de cães que se infectaram em um canil região não endêmica e com ausência de vetor.	- Pele; - Nódulos linfáticos; - Fígado; - Sangue	Sorologia Imunohistoquímica; Análise Histopatológica PCR	Foi identificada a presença do parasito nos órgãos analisados, incluindo os reprodutivos, tanto e machos quanto de fêmeas após a cópula com animais infectados	Sim
Biteau et al, 2015	Estudo pré-clínico - experimental	<i>Trypanosoma brucei gambiense</i>	Camundongos BALBC/cJ	Monitorar o tropismo que o <i>T. b. gambiense</i> possui no organismo de animais infectados experimentalmente e após a cópula	- Ovário; - Útero; - Testículos; - Cérebro; - Rim; - Fígado; - Pulmão; - Baço	Bio luminescência PCR LAMP		Sim

Continuação da Tabela 02: Estudos, encontrados na literatura, publicados entre 1992 e 2020 que comprovam a transmissão sexual dos Tripanosomatídeos.

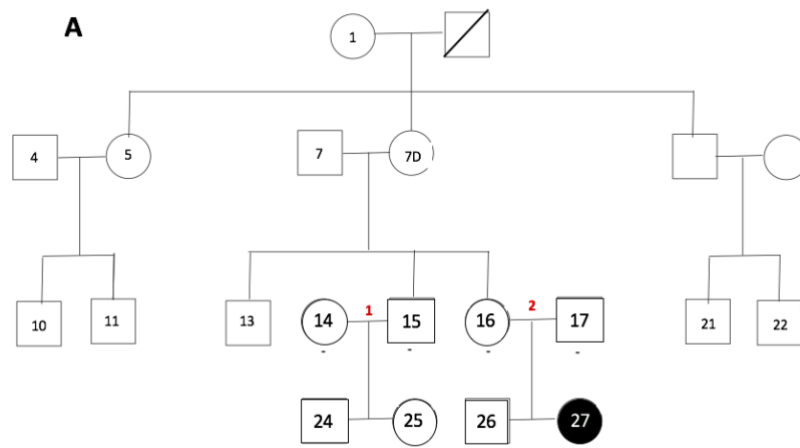
Autor / Ano	Tipo de Estudo	Espécie de Protozoário estudada	Espécie Infectada Analisada	Objetivo do estudo	Tipo de amostra analisada	Método de Análise utilizado	Resultados Obtidos	Houve Transmissão Sexual
Da Silva, et al. 2016	Estudo pré-clínico - experimental	<i>Trypanosoma evansi</i>	Ovelhas e Carneiros	Investigar a ocorrência de transmissão venérea de <i>T. evansi</i> entre ovelhas infectadas experimentalmente, assim como acessar a presença do parasito no sêmen de carneiros e as alterações hematológicas e bioquímicas.	- Sangue; - Sêmen	PCR Hemograma Análise microscópica Contagem celular Análise bioquímica Ensaio imunoenzimático Cartão de Aglutinação Coloração de Romanowsky	Identificada a presença do <i>T. evansi</i> no sêmen, porém não houve a transmissão do parasito após a cópula.	Não
Ribeiro, M et al. 2016	Estudo pré-clínico - experimental	<i>Trypanosoma cruzi</i>	Camundongos BALB/c	Investigação da transmissão sexual do <i>T. cruzi</i> em um modelo murinho experimental	- Sangue periférico; - Coração; - Músculo esquelético; - Intestino; - Testículo; - Ovário	Análise microscópica ELISA IFI PCR Nested qPCR Análise histopatológica Imunohistoquímica	Foi comprovada a infecção por <i>T. cruzi</i> após a cópula, assim como a infecção da progênie obtida após esse cruzamento, assim como a presença do parasito nos testículos e ovário	Sim
Almeida, AB et al. 2018	Estudo pré-clínico - experimental e estudo descritivo.	<i>Trypanosoma cruzi</i>	Humanos Camundongos BALB/c	Avaliar a hipótese de que a transmissão sexual do <i>T. cruzi</i> contribui para a disseminação da Doença de Chagas	- Sangue humano; - Sêmen humano; - Amostras teciduais das cobaias: Coração, músculo esquelético, ductos deferentes e tuba uterina	Imunohistoquímica Análise microscópica ELISA IFI tpTAIL-PCR	Foi comprovada a infecção de cobaias com amostras de sêmen de um doador chagásico.	Sim
Rios, A et al. 2018	Estudo pré-clínico - experimental	<i>Trypanosoma cruzi</i>	Camundongos BALB/c	Avaliar a transmissão sexual do <i>T. cruzi</i> no modelo murinho através do cruzamento de camundongos cronicamente infectados com parceiros saudáveis.	- Sangue	Hemocultura Análise sorológica (ELISA e IFI) PCR Imunohistoquímica	Foi comprovada a infecção por <i>T. cruzi</i> após a cópula, assim como a infecção da progênie obtida após esse cruzamento.	Sim
Yasine et al, 2019b	Estudo pré-clínico - experimental	<i>Trypanosoma equiperdum</i>	Cavalos e Éguas	Examinar a infectividade do sêmen em condições de inseminação artificial, após tratamento do animal, descrever a infecção após contaminação induzida e analisar a distribuição do parasito após infecção artificial	- Sangue; - Sêmen; - Testículos; - Ductos deferentes.	PCR qPCR Inoculação do sêmen no camundongo Exame de Esfregaço úmido Exame parasitológico	Foi comprovada a contaminação das fêmeas por inseminação artificial, além da presença do parasito nos órgãos avaliados e a presença do <i>T. equiperdum</i> no sêmen	Sim

Apêndice 3 - Check-list PRISMA-ScR (Adaptado de TRICCO et al, 2018)

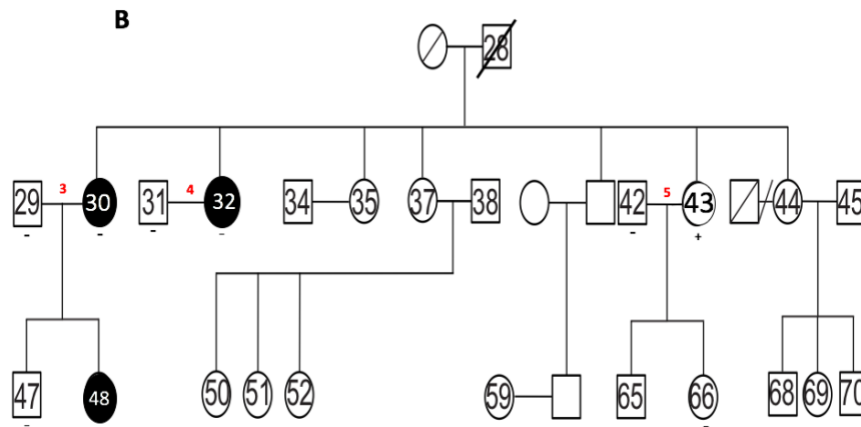
Table. PRISMA-ScR Checklist

Section	Item	PRISMA-ScR Checklist Item
Title	1	Identify the report as a scoping review.
Abstract		
Structured summary	2	Provide a structured summary that includes (as applicable) background, objectives, eligibility criteria, sources of evidence, charting methods, results, and conclusions that relate to the review questions and objectives.
Introduction		
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known. Explain why the review questions/objectives lend themselves to a scoping review approach.
Objectives	4	Provide an explicit statement of the questions and objectives being addressed with reference to their key elements (e.g., population or participants, concepts, and context) or other relevant key elements used to conceptualize the review questions and/or objectives.
Methods		
Protocol and registration	5	Indicate whether a review protocol exists; state if and where it can be accessed (e.g., a Web address); and if available, provide registration information, including the registration number.
Eligibility criteria	6	Specify characteristics of the sources of evidence used as eligibility criteria (e.g., years considered, language, and publication status), and provide a rationale.
Information sources*	7	Describe all information sources in the search (e.g., databases with dates of coverage and contact with authors to identify additional sources), as well as the date the most recent search was executed.
Search	8	Present the full electronic search strategy for at least 1 database, including any limits used, such that it could be repeated.
Selection of sources of evidence†	9	State the process for selecting sources of evidence (i.e., screening and eligibility) included in the scoping review.
Data charting process‡	10	Describe the methods of charting data from the included sources of evidence (e.g., calibrated forms or forms that have been tested by the team before their use, and whether data charting was done independently or in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.
Data items	11	List and define all variables for which data were sought and any assumptions and simplifications made.
Critical appraisal of individual sources of evidence§	12	If done, provide a rationale for conducting a critical appraisal of included sources of evidence; describe the methods used and how this information was used in any data synthesis (if appropriate).
Summary measures	13	Not applicable for scoping reviews.
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling and summarizing the data that were charted.
Risk of bias across studies	15	Not applicable for scoping reviews.
Additional analyses	16	Not applicable for scoping reviews.
Results		
Selection of sources of evidence	17	Give numbers of sources of evidence screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally using a flow diagram.
Characteristics of sources of evidence	18	For each source of evidence, present characteristics for which data were charted and provide the citations.
Critical appraisal within sources of evidence	19	If done, present data on critical appraisal of included sources of evidence (see item 12).
Results of individual sources of evidence	20	For each included source of evidence, present the relevant data that were charted that relate to the review questions and objectives.
Synthesis of results	21	Summarize and/or present the charting results as they relate to the review questions and objectives.
Risk of bias across studies	22	Not applicable for scoping reviews.
Additional analyses	23	Not applicable for scoping reviews.
Discussion		
Summary of evidence	24	Summarize the main results (including an overview of concepts, themes, and types of evidence available), link to the review questions and objectives, and consider the relevance to key groups.
Limitations	25	Discuss the limitations of the scoping review process.
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results with respect to the review questions and objectives, as well as potential implications and/or next steps.
Funding	27	Describe sources of funding for the included sources of evidence, as well as sources of funding for the scoping review. Describe the role of the funders of the scoping review.

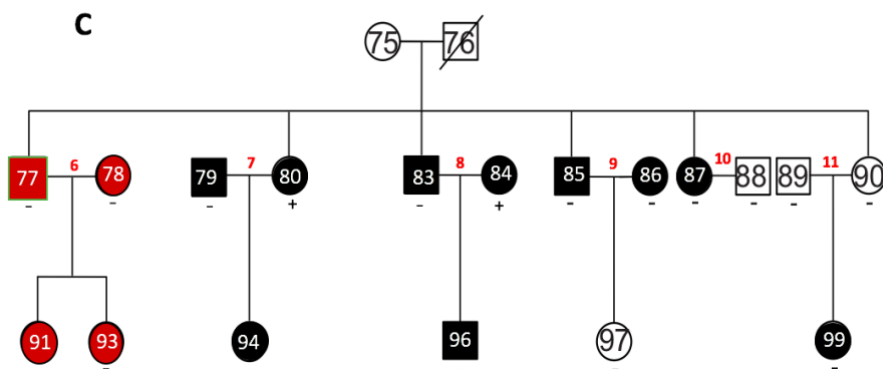
Apêndice 4 – Heredogramas com resultados dos testes sorológicos e moleculares dos participantes do estudo distribuídos em famílias



Heredograma da Família A com resultados de testes sorológicos e de PCR com *primer* específico para nDNA de *Trypanosoma cruzi*. Círculos evidenciam mulheres e quadrados homens. Abaixo das formas estão os resultados dos testes sorológicos sendo o sinal de + soropositividade enquanto o – soronegatividade. A coloração preta representa o indivíduo nDNA+. Os números representam os casais avaliados no estudo. Sem numeração são as formas que não entraram no estudo e a com linha diagonal aqueles que foram excluídos.

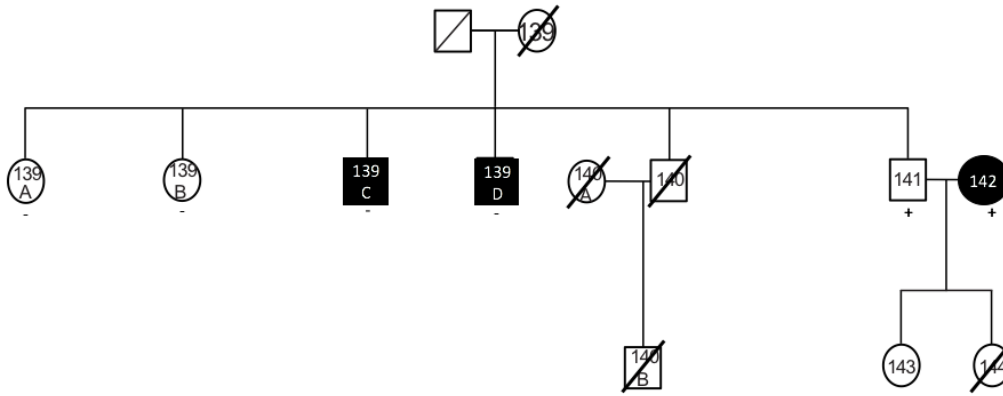


Heredograma da Família B com resultados de testes sorológicos e de PCR com *primer* específico para nDNA de *Trypanosoma cruzi*. Círculos evidenciam mulheres e quadrados homens. Abaixo das formas estão os resultados dos testes sorológicos sendo o sinal de + soropositividade enquanto o – soronegatividade. A coloração preta representa o indivíduo nDNA+. Os números representam os casais avaliados no estudo. Sem numeração são as formas que não entraram no estudo e a com linha diagonal aqueles que foram excluídos.

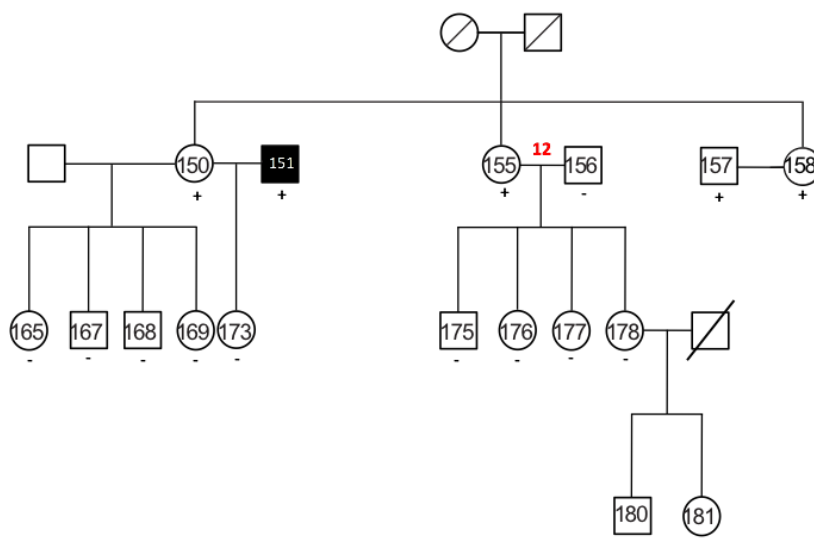


Heredograma da Família C com resultados de testes sorológicos e de PCR com *primer* específico para nDNA de *Trypanosoma cruzi*. Círculos evidenciam mulheres e quadrados homens. Abaixo das formas estão os resultados dos testes sorológicos sendo o sinal de + soropositividade enquanto o – soronegatividade. A coloração preta representa o indivíduo nDNA+. Os números

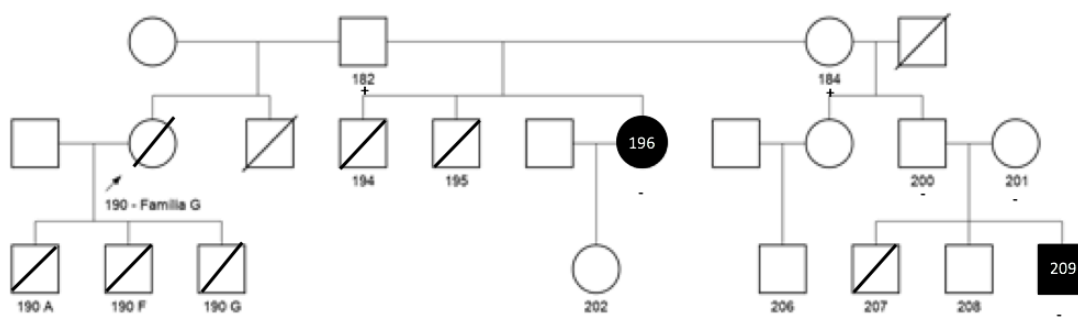
representam os casais avaliados no estudo. A coloração vermelha representa os casos de transmissão sexual de *T. cruzi*, sendo a amostra seminal do indivíduo 77, delimitado pela cor verde, aquele identificada contendo o protozoário. Sem numeração são as formas que não entraram no estudo e a com linha diagonal aqueles que foram excluídos.



Heredograma da Família E com resultados de testes sorológicos e de PCR com *primer* específico para nDNA de *Trypanosoma cruzi*. Círculos evidenciam mulheres e quadrados homens. Abaixo das formas estão os resultados dos testes sorológicos sendo o sinal de + soropositividade enquanto o – soronegatividade. A coloração preta representa o indivíduo nDNA+. Os números representam os casais avaliados no estudo. Sem numeração são as formas que não entraram no estudo e a com linha diagonal aqueles que foram excluídos.

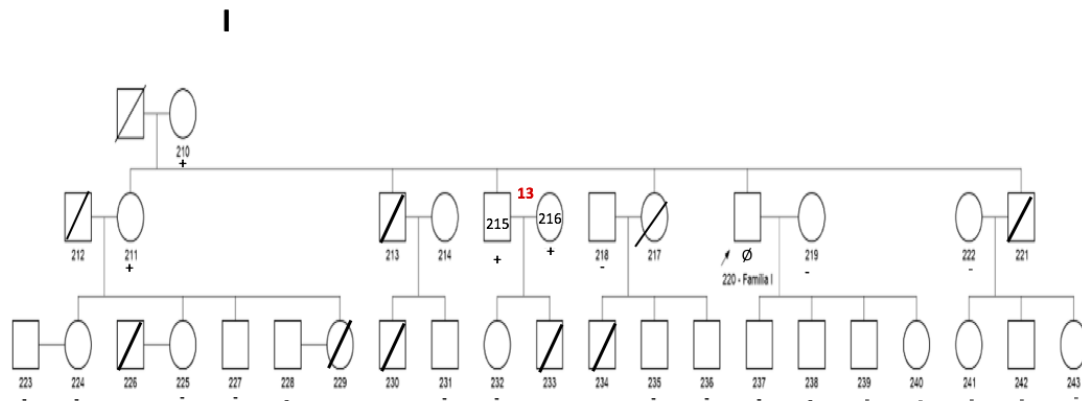


Heredograma da Família F com resultados de testes sorológicos e de PCR com *primer* específico para nDNA de *Trypanosoma cruzi*. Círculos evidenciam mulheres e quadrados homens. Abaixo das formas estão os resultados dos testes sorológicos sendo o sinal de + soropositividade enquanto o – soronegatividade. A coloração preta representa o indivíduo nDNA+. Os números representam os casais avaliados no estudo. Sem numeração são as formas que não entraram no estudo e a com linha diagonal aqueles que foram excluídos.

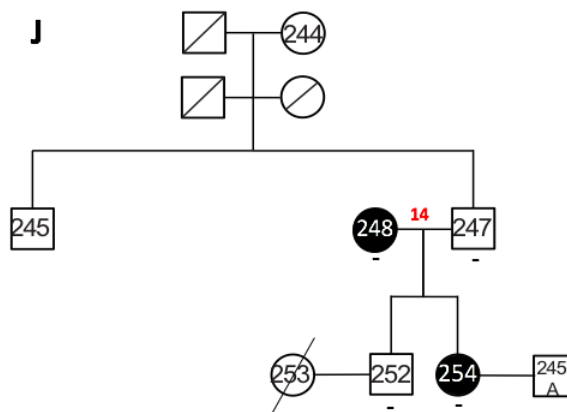


Heredograma das Famílias G e H com resultados de testes sorológicos e de PCR com *primer* específico para nDNA de *Trypanosoma cruzi*. Círculos evidenciam mulheres e quadrados homens. Abaixo das formas estão os resultados dos testes sorológicos sendo o sinal de + soropositividade enquanto

o – soronegatividade. A coloração vermelha representa o indivíduo nDNA+. Sem numeração são as formas que não entraram no estudo e a com linha diagonal aqueles que foram excluídos.

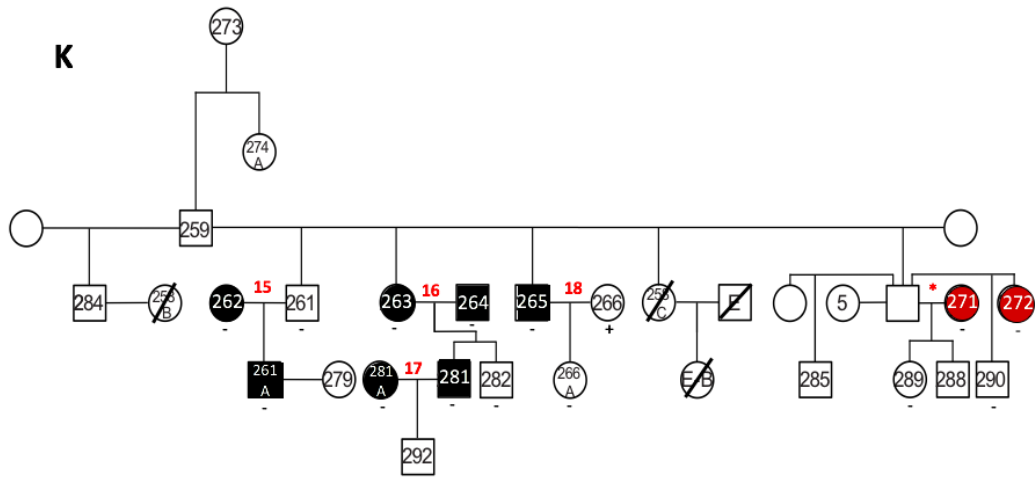


Heredograma da Família I com resultados de testes sorológicos e de PCR com *primer* específico para nDNA de *Trypanosoma cruzi*. Círculos evidenciam mulheres e quadrados homens. Abaixo das formas estão os resultados dos testes sorológicos sendo o sinal de + soropositividade enquanto o – soronegatividade. A coloração preta representa o indivíduo nDNA+. Os números representam os casais avaliados no estudo. Sem numeração são as formas que não entraram no estudo e a com linha diagonal aqueles que foram excluídos.

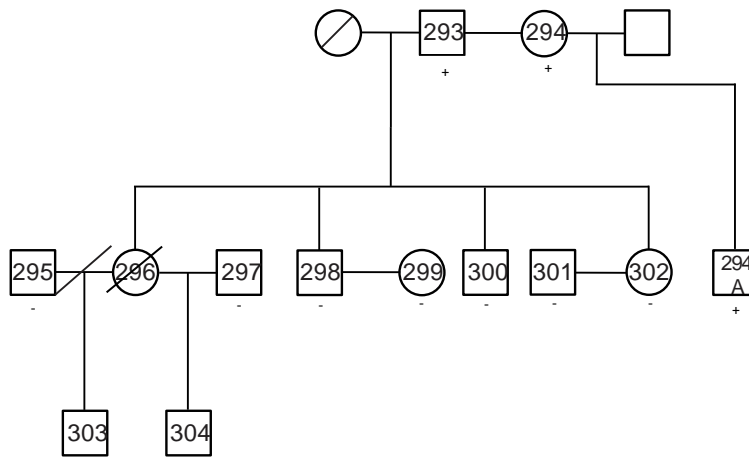


Heredograma da Família J com resultados de testes sorológicos e de PCR com *primer* específico para nDNA de *Trypanosoma cruzi*. Círculos evidenciam

mulheres e quadrados homens. Abaixo das formas estão os resultados dos testes sorológicos sendo o sinal de + soropositividade enquanto o – soronegatividade. A coloração preta representa o indivíduo nDNA+. Os números representam os casais avaliados no estudo. Sem numeração são as formas que não entraram no estudo e a com linha diagonal aqueles que foram excluídos.



Heredograma da Família K com resultados de testes sorológicos e de PCR com *primer* específico para nDNA de *Trypanosoma cruzi*. Círculos evidenciam mulheres e quadrados homens. Abaixo das formas estão os resultados dos testes sorológicos sendo o sinal de + soropositividade enquanto o – soronegatividade. A coloração preta representa o indivíduo nDNA+ e a coloração vermelha representa os casos de transmissão sexual de *T. cruzi*. Os números representam os casais avaliados no estudo. Sem numeração são as formas que não entraram no estudo e a com linha diagonal aqueles que foram excluídos.



Heredograma da Família L com resultados de testes sorológicos e de PCR com *primer* específico para nDNA de *Trypanosoma cruzi*. Círculos evidenciam mulheres e quadrados homens. Abaixo das formas estão os resultados dos testes sorológicos sendo o sinal de + soropositividade enquanto o – soronegatividade. Sem numeração são as formas que não entraram no estudo e a com linha diagonal aqueles que foram excluídos.

Apêndice 5 – Eletroforese de nDNA das amostras de sêmen dos indivíduos selecionados para análise de transmissão sexual, São Felipe, BA.

