

A DIVERSIDADE GENÉTICA POPULACIONAL DO *TRYPANOSOMA CRUZI* E A VARIABILIDADE CLÍNICA NA DOENÇA DE CHAGAS

EMILLY DAIANY OLIVEIRA ROCHA¹,
VICTOR H. FERRANTE M. ATHAYDE¹,
RAYANE PEREIRA VOGADO¹,
LARYSSA MARIA RIBEIRO ARAÚJO¹,
MÁRDEN E. MATTOS JÚNIOR²

RESUMO

A Doença de Chagas quando não tratada corretamente, torna-se crônica e pode evoluir para diferentes apresentações clínicas, que parecem estar associadas à diversidade genotípica encontrada no agente etiológico e o *background* genético do hospedeiro. O *T. cruzi* apresenta ampla variabilidade genética e foi subdividido em seis linhagens. A doença de Chagas, por sua vez, apresenta duas formas clínicas: cardíaca e digestiva sendo demonstrado que a presença de determinadas populações do parasito em cada tecido depende do comportamento do mesmo. Certamente a doença apresenta uma fisiopatologia complexa que se deve a diversidade genética do parasito e o comportamento dos diferentes hospedeiros e o ambiente onde ocorrem as infecções. Sendo assim, a necessidade de realizar estudos com objetivo de determinar aspectos de virulência e patogenicidade do *T. cruzi* associados às formas clínicas e adequar linhas específicas de tratamento, se faz necessário para a manutenção do controle da doença em áreas endêmicas.

Palavras-chave: Doença de Chagas, Variabilidade Genética, *Trypanosoma cruzi*.

ABSTRACT

Chagas disease, when not treated correctly, becomes chronic and can evolve to different clinical presentations, which seem to be associated with the genotypic diversity found in the etiological agent and the genetic background of the host. *T. cruzi* presents wide genetic variability and has been subdivided into six lineages. Chagas disease, in turn, has two clinical forms: cardiac and digestive, demonstrating that the presence of certain populations of the parasite in each tissue depends on its behavior. Certainly, the disease has a complex pathophysiology that is due to the genetic diversity of the parasite and the behavior of different hosts and the environment where infections occur. Therefore, the need to carry out studies with the objective of determining aspects of virulence and pathogenicity of *T. cruzi* associated with clinical forms and adapting specific lines of treatment is necessary to maintain control of the disease in endemic areas.

Keywords: Chagas Disease, Genetic Variability, *Trypanosoma cruzi*.

¹ Acadêmico do curso de medicina do Centro Universitário Atenas – UniAtenas

² Docente do Centro Universitário Atenas – UniAtenas / E-mail: marden.professor@uniatenas.edu.br

INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DC) ou tripanossomíase americana caracteriza-se como uma antropozoonose, e a partir de estudos geológicos, estima-se que há aproximadamente 15 mil anos iniciaram-se os primeiros focos endêmicos da doença pela colonização humana no continente americano, apesar da pré-existência do agente etiológico *Trypanosoma cruzi* (*Kinetoplastida, Trypanosomatidae*) a 150 milhões de anos (BRIONES et al, 1999). Atualmente existem entre 6 e 8 milhões de indivíduos infectados em áreas endêmicas estendendo-se desde o sul da Argentina até ao sul dos Estados Unidos, causando 12 mil óbitos anuais (WHO, 2015).

Os aspectos epidemiológicos atuais demonstram claramente o declínio da transmissão vetorial, atribuído aos programas de combate ao vetor e à urbanização. A certificação da Organização Pan-Americana de Saúde (Opas), em 2006, incluiu o Brasil como livre da transmissão pelo *Triatoma infestans*, assim como o Chile e Uruguai (WHO, 2007). Contudo, existem cerca de 130 espécies de triatomíneos com potencial para dar continuidade ao ciclo evolutivo da doença, das quais 52 descritas no Brasil (COURA E DIAS, 2009), além de 100 espécies de reservatórios silvestres (marsupiais, morcegos, roedores, xenartros, lagomorphos, carnívoros, primatas) e domésticos (cães, gatos, ratos domésticos, camundongos, caprinos, suínos) susceptíveis à infecção natural pelo *T. cruzi* (DEVERA et al, 2003; COURA E DIAS, 2009). Apesar do declínio da transmissão vetorial, a forma de contágio via oral tem se tornado um problema em algumas regiões, principalmente na Amazônia brasileira. Mais de 50% dos casos agudos da doença de Chagas na região Amazônica entre 1968 e 2000, são atribuídos a microepidemias devido a esse tipo de transmissão (COURA & de CASTRO, 2002).

Em humanos, além do contágio através do contato com as fezes do triatomíneo contaminadas, pode haver infecções por transfusões sanguíneas, transplantes de órgãos, transmissão congênita e, mais raramente, por ingestão de alimentos contaminados e acidentes laboratoriais (DIAS, 2000; NUNES et al, 2018). Após a infecção, o protozoário na sua forma flagelada tripomastigota permanece no sangue até a fase de infecção tecidual, quando perde o flagelo e se transforma na forma amastigota intracelular.

Quando não tratada a infecção deixa seu estágio agudo e pode dar início a um quadro crônico, que pode ser clinicamente silenciosa ao longo de décadas de infecção (NUNES, 2018). Um terço dos indivíduos evolui para doença crônica sintomática, apresentando as formas

clínicas, cardíaca, digestiva ou cardio-digestiva, evidenciando alterações como megacólon e megaesôfago (LIU; VONBARGEN; MCCALL, 2021; NUNES et al, 2018). Enquanto na fase aguda, a infecção progride por via hematogênica e linfática, evidenciada por reação inflamatória generalizada com fase febril e manifestações como linfadenopatia, hepatomegalia e esplenomegalia, por outro lado, na fase crônica, é demonstrado um amplo espectro de afinidade por diferentes tecidos musculares cardíacos, esofágicos ou intestinais, e este comportamento pode estar associado à diversidade genotípica encontrada nas diferentes populações de *T. cruzi* que circulam em diferentes regiões geográficas (LIU; VONBARGEN; MCCALL, 2021).

A mortalidade por DC apresentou queda consistente nos últimos anos, no entanto ainda continua sendo uma causa importante de morte no país, sobretudo em pessoas acima de 50 anos (LIMONGI et al, 2021). No Brasil especialmente, onde há uma prevalência importante de paciente na fase crônica da doença, o Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde do Brasil (DATASUS), registrou, entre 2000 e 2019 no Brasil, 94.788 óbitos por DC. Com a região sudeste apresentando a maior mortalidade com 47.285 óbitos, sendo Minas Gerais o estado com maior número de óbitos (23,825) (LIMONGI et al, 2021).

Neste contexto, se fazem necessários estudos que possam facilitar o entendimento entre o comportamento epidemiológico de populações de *T. cruzi*, de seus reservatórios e de indivíduos infectados nas diferentes regiões geográficas pelos países americanos, determinando as possíveis complicações dentro de um espectro clínico favorável ou não favorável.

MÉTODOS

O presente estudo é uma Revisão Sistemática da Literatura a partir de buscas com ênfase no estudo da Doença de Chagas, sua diversidade clínica e epidemiológica. A pesquisa foi realizada no banco de dados do Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (PubMed/Medline) e Google Acadêmico através dos seguintes Descritores em Ciências da saúde: “Doença de Chagas”, “Variabilidade Genética” e “*Trypanosoma cruzi*”. Tais descritores foram utilizados através do Operador Booleano AND. Foram encontrados 1.030 artigos, dos quais após filtragem dos artigos para artigos de Revisão Sistemática, Metanálise, Ensaio Clínico e Ensaio Clínico Randomizado, na Língua Inglesa e Portuguesa, publicados nos últimos 10 anos, foram encontrados 130 artigos cujo 37 artigos foram utilizados para a construção deste estudo. Por fim, buscou-se compreender e sintetizar os principais aspectos da Doença de Chagas e as principais características da doença.

A DIVERSIDADE POPULACIONAL DO *TRYPANOSOMA CRUZI*

O *Trypanosoma cruzi* é composto por populações heterogêneas que circulam entre humanos, animais domésticos e reservatórios silvestres. A alta variabilidade genética do *T. cruzi* foi confirmada por diferentes abordagens e recentemente, Zingales et al. (2012) estabeleceram uma nova nomenclatura referente à classificação do *T. cruzi*, recomendando-se a divisão das populações do *T. cruzi* em 6 DTU (*Dyscrete Types Units*) denominadas *T. cruzi* I, II, III, IV, V e VI, sendo as duas primeiras linhagens puras e as demais, híbridas.

No Brasil, o TcI é amplamente distribuído entre os hospedeiros mamíferos do ciclo silvestre, mas também pode ser encontrado em infecções agudas humanas e, mais raramente, em pacientes crônicos. Já as cepas TcII e TcVI são principalmente restritos a hospedeiros dentro dos habitats domiciliares, incluindo humanos. Entretanto, o TcII é o agente mais importante de cardiopatias graves, incluindo cardiomegalia, e síndromes digestivas, como megaesôfago e megacólon, principalmente nas regiões central e leste do Brasil. O genótipo TcVI é prevalente no Sul do Brasil (Rio Grande do Sul) e também tem sido associado às formas cardíaca e digestiva. Já na região Amazônica (Norte do Brasil), a TcI é a DTU predominantemente encontrada em humanos como agente de infecções agudas (HOSSAIN et al, 2015; OLIVEIRA et al, 2017).

O TcI é considerado o principal DTU causador da doença de Chagas em países do norte da América do Sul, relacionado a transmissão silvestre (AÑES et al, 2004; LLEWELLY et al, 2009) e peridoméstico em países latino americanos (GUHL E RAMÍREZ, 2011; ZINGALES, 2018; RAMIREZ E HERNÁNDES, 2018). A presença do TcI em infecções crônicas assintomáticas na bacia Amazônica reforça a ideia de área emergente para doença de Chagas (SANTANA et al., 2014).

Já o TcII é encontrado em pacientes em estágio crônico sintomático na maioria dos países endêmicos, causando formas clínicas cardíacas, digestiva ou cardio-digestiva, circulando nas proximidades de centros urbanos e periurbanos devido ao crescimento populacional das grandes cidades. Já as populações de TcIII e TcIV estão predominantemente associadas ao ciclo silvestre e não se apresentam como causadoras da doença de Chagas em humanos, entretanto, assim como as populações de TcI e TcII, as populações de TcV e TcVI estão associadas à infecção em humanos (ZINGALES, 2018).

Além da variabilidade genética, as populações de *T. cruzi* também apresentam distribuições geográficas distintas, TcI apresenta-se em abundância no norte do Chile e na Amazônia Brasileira, a TcII apresenta-se no Chile e no Centro-oeste do Brasil, já as cepas TcV

e TcVI apresentam-se predominantemente no Paraguai. As cepas TcIII e TcIV apresentaram-se em casos isolados da Doença de Chagas (ZINGALES, 2018).

Sendo assim, os estudos para caracterizar fenotipicamente as populações de *T. cruzi* em amostras de pacientes com doença de Chagas são de grande importância para uma melhor compreensão das relações entre o parasito, o comportamento imunológico e o *background* genético do hospedeiro oferecendo melhores condições diagnósticas e prognósticas em diferentes regiões endêmicas.

DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS NA DOENÇA DE CHAGAS

O mecanismo específico associado com o estabelecimento e a manutenção de diferentes formas clínicas na doença de Chagas é multifatorial, envolvendo ambos, parasito e hospedeiro (DUTRA et al, 2005). A razão pela qual a doença se desenvolve de forma grave em alguns indivíduos ou de maneira indeterminada, ainda não foi revelada.

Trabalhos recentes demonstraram que o próprio metabolismo do parasito associado às interações com o meio em que se encontra, controla o tropismo, a localização da doença de Chagas, e se, a apresentação será leve ou grave (MACCALL et al, 2017). Observou-se que no estágio agudo, o tropismo do *T. cruzi* é amplo, no entanto, complicações cardíacas poderão ser mais observadas pela tendência de uma maior carga parasitaria na região da base do coração (MACCALL et al, 2017). Complicações neurológicas fatais e cardíacas na forma aguda, são observadas em apenas 5% dos casos (MACEDO et al, 2004), normalmente em crianças menores de dois anos de idade (COURA & de CASTRO, 2002).

A infecção evolui para uma fase crônica com escassa parasitemia e um curso clínico imprevisível, permanecendo entre 60% e 70% dos pacientes na forma indeterminada e com excelente prognóstico por toda vida, ou desenvolverem a forma sintomática com envolvimento cardiovascular e gastrointestinal em 25% a 30% dos casos (PRATA, 2001), evoluindo para uma forma irreversível da doença com manifestações no miocárdio e no trato digestivo. A patologia cardíaca é caracterizada por uma miocardite crônica, iniciando-se por uma miocardite fibrosante focal e/ou difusa causada por ação direta do parasito, seus antígenos e a resposta inflamatória que frequentemente leva à cardiomegalia, falha cardíaca congestiva e arritmias podendo levar à insuficiência cardíaca e morte súbita (TANOWITZ, 1992).

A forma digestiva está presente em 6% a 10% dos casos nos quais ocorre dilatação do esôfago e do cólon (megaesôfago e megacólon respectivamente), decorrente de uma inflamação crônica e destruição progressiva principalmente dos neurônios parassimpáticos em sua maioria.

A sintomatologia é caracterizada por disfagia e constipação severa, entretanto, 3% dos chagásicos poderão apresentar comprometimento do sistema nervoso periférico (DIAS & MACEDO, 2005).

A causa desse aspecto clínico variável da doença não está bem esclarecida, porém, tem sido observada uma distribuição geográfica distinta entre populações de *T. cruzi*, sugerindo uma possível causa para esta ampla heterogeneidade de populações, juntamente com a resposta imune e o *background* genético do hospedeiro (MACEDO et al, 2002).

FORMA CLÍNICA CARDÍACA

A patogênese da doença de Chagas (DC) ainda não é totalmente compreendida. No entanto, estudos recentes demonstram a necessidade da presença persistente do parasita, aliada a uma elevada liberação de citocinas pró-inflamatórias, citotoxicidade mediada por células TCD8+ e mecanismos imunológicos reduzidos. Populações do *T. cruzi* de diferentes regiões e reservatórios, a sua via de infecção, o estado imunológico e o *background genético* do hospedeiro podem modular ainda mais o desfecho da infecção (MCCALL et al, 2017).

Dados na literatura revelam que no infiltrado inflamatório de pacientes com forma cardíaca existe predomínio de células TCD8+ e reduzido número de células TCD4+ (HIGUCHI et al, 1993a; TOSTES et al, 1994), esse dado associado com a diminuição do TCD4+ no sangue periférico de pacientes com formas avançadas de megaesôfago (REIS et al, 1996) sugere que algum tipo de imunossupressão deve estar associada aos parasitismos sanguíneo e tecidual participando também na evolução das formas sintomáticas da doença de Chagas. O tropismo tecidual parece ser determinado pelas subpopulações de linfócitos T presentes nos órgãos ou tecidos que possivelmente são organizados e ativados de maneira regional (DE MEIS et al, 2009).

Demonstrou-se através de estudos que os DTUs I, II, IV, V e VI já foram identificados em pacientes com a DC na fase crônica com forma cardíaca (NIELEBOCK et al, 2020).

A constatação de que parasitos geneticamente distintos foram isolados em indivíduos que possuem a mesma forma clínica da doença, sugere que a resposta imune do hospedeiro pode representar um importante fator na determinação do destino da infecção (VAGO et al, 2000; MACEDO et al, 2004).

A cardiomiopatia crônica na doença de chagas (CCDC) é essencialmente uma cardiomiopatia arritmogênica, com peculiaridades fisiopatológicas neste contexto que a fazem singularmente distinta de outras cardiopatias. É causada pela fibrose do miocárdio que ocorre

focalmente, com baixa intensidade, constantemente gerada pela presença contínua do protozoário auxiliado por mecanismos imunes. A CCDC pode apresentar um espectro variado de manifestações clínicas, destes podemos observar: eventos tromboembólicos, anginas, arritmias, insuficiência cardíaca e até mesmo a morte súbita do portador (SIMÕES et al, 2018). Estima-se que 2 a 5% dos pacientes sem cardiopatia aparente desenvolvam novas alterações de eletrocardiograma - ECG e evidências de cardiopatia a cada ano (SIMÕES et al, 2018).

Por meio de um estudo que avaliou a interação parasito-hospedeiro, identificou que as diferentes regiões do tecido cardíaco quando parasitadas, podem estar correlacionadas à evolução da doença, o que sugere que os diferentes padrões de comportamento nas diferentes populações de *T. cruzi*, possa facilitar a permanência do mesmo em diferentes regiões do coração. Assim, a localização do parasita ao longo do tecido cardíaco pode se relacionar a sobrevivência do hospedeiro e o desfecho da infecção (MCCALL et al, 2017).

Embolias pulmonares e sistêmicas são manifestações comuns de pacientes com CCDC, originadas de tromboembolismos murais em câmaras cardíacas e em veias sistêmicas, sendo importante causa de acidente vascular cerebral embólico e outras morbidades. Acidentes tromboembólicos são, muitas vezes, a primeira manifestação da doença e podem ocorrer nos estágios ainda sem disfunção ventricular (SIMÕES et al, 2018).

Estudos de revisão sistemática e meta-análise demonstram que os níveis de protrombina, inibidor de ativador de plasminogênio-1 (PAI-1), e P-selectina foram observados significativamente aumentados no grupo de pacientes com doença de Chagas quando comparado aos voluntários saudáveis. Esses resultados sugerem que pacientes portadores de DC crônica, podem apresentar um estado de hipercoagulabilidade, independente se desenvolvem ou não doença cardíaca ou digestiva. Além disso, a carga parasitária pode sugerir papel significativo no processo desses distúrbios de coagulação. O que leva a população chagásica a uma maior incidência de fenômenos tromboembólicos, como o acidente vascular cerebral (ECHEVERRÍA et al, 2021).

FORMA CLÍNICA DIGESTIVA

A forma digestiva da DC apresenta o megaesôfago e o megacólon como principais manifestações clínicas. Estudos em áreas endêmicas do Brasil demonstram que 6-10% de pacientes com DC crônica possuem manifestações digestivas da doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). No entanto, a mortalidade por DC digestiva é consideravelmente menor que pela forma cardíaca, porém, doentes com megaesôfago e/ou megacólon convivem com

sintomas que afetam sobremaneira a qualidade de vida, causando transtornos como a disfagia, regurgitação, medo de comer, desnutrição, prisão de ventre severa e presença de fecaloma (LIMONGI et al, 2021).

O DTU II representa populações de *T. cruzi* que estão circulando em ciclo doméstico/peri-doméstico e está presente na maioria dos pacientes com DC na fase crônica. Estudos realizados na Argentina têm proposto que DTUs V e VI têm sido encontrados em paciente na fase crônica da DC digestiva quando analisados grupos de pacientes infectados com forma digestiva e não digestiva (MONJE-RUMI et al, 2020).

Em parte dos pacientes infectados, 38.64% (34/88) das infecções foram causadas por uma única linhagem de *T. cruzi*, em infecções mistas, a ocorrência foi de 35.23% (31/88) dos infectados e em infecções híbridas, 26.14% (23/88) dos infectados, sendo demonstrada uma alta ocorrência do DTU V em 60.3% (53/88) das amostras analisadas (MONJE-RUMI et al, 2020).

O processo fisiopatológico da forma digestiva da DC dá-se principalmente pelo envolvimento do Sistema nervoso Entérico (SNE), no qual observamos o surgimento de anormalidades em vários dos seus componentes, como a degeneração de neurônios mioentéricos, hipertrofia da musculatura e hiperplasia da mucosa (GULLO et al, 2012).

A fisiopatologia do mecanismo de destruição das células nervosas mioentéricas não é totalmente conhecida e permanece discutível. Porém se discute a participação de processos autoimunes e de hipersensibilidade gerados pela presença crônica do parasita. Observa-se então que após esse processo de perda neuronal a musculatura lisa desses órgãos irá apresentar agora contrações irregulares e de variadas intensidades. Assim, os pacientes acometidos pela forma digestiva da DC podem apresentar: disfagia, perda ponderal, refluxo e constipação crônica (GULLO et al, 2012).

Neste contexto, estudos envolvendo o comportamento metabólico de indivíduos de diferentes regiões geográficas infectados por diferentes populações contendo diferentes linhagens de *T. cruzi*, se fazem necessários para ajudar a elucidar as possíveis variações clínicas, tendo o *background* genético do hospedeiro como um arsenal para novos estudos. Tais descobertas podem levar à próxima geração de tratamentos e a novas maneiras de monitorar a progressão da DC (LIU et al, 2021).

CONCLUSÃO

De fato, é importante reconhecer que a doença de Chagas apresente uma fisiopatologia complexa e multifatorial. Esta complexidade provavelmente deve-se à diversidade genética do parasito, demonstrada pela recente classificação populacional do *T. cruzi* em seis DTUs e evidências de um comportamento diversificado com ampla variabilidade clínica que afeta a população nas áreas de transmissão ativa, em diferentes regiões geográficas, associado ao comportamento imunológico do hospedeiro ligado ao *background* genético do mesmo. Desse modo, o exposto propõe que a relação parasito-hospedeiro pode realmente determinar o desfecho da doença e as condições de manejo clínico, sendo assim, a possibilidade do estudo populacional de isolados do *T. cruzi* em áreas endêmicas se faz necessário para a implementação de políticas baseadas em vigilância epidemiológica, para determinar o potencial de agravamento da doença nas diferentes regiões endêmicas, impedindo a progressão da doença.

REFERÊNCIAS

- 1- AÑES, N. *et al.* **Predominance of lineage I among Trypanosoma cruzi isolates from Venezuela patients with different clinical profiles of acute Chagas disease.** Trop Med: Health, v. 9, p. 1319-1326, 2004.
- 2- BRIONES, M. *et al.* **The evolution of two Trypanosoma cruzi subgroups inferred from rRNA genes can be correlated with the interchange of American mammalian faunas in the Cenozoic and has implications to pathogenicity and host specificity.** Molecular and biochemical parasitology, v. 104, n. 2, p. 219-232, 1999.
- 3- Pan American Health Organization - PAHO. **Chagas disease.** Disponível em: <<https://www.paho.org/en/topics/chagas-disease>>. Acesso em: 25 out. 2022.
- 4- COURA, J. R.; de CASTRO, S. L. A. **Critical review on Chagas disease chemotherapy.** Mem. Inst. Oswaldo. Cruz. v. 97, p. 3-24, 2002.
- 5- COURA, J. R.; DIAS, J. C. P. **Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease – 100 years after its discovery.** Mem. Inst. Oswaldo. Cruz. v. 104, p.31-40, 2009.
- 6- DE MEIS, JULIANA *et al.* **Differential regional immune response in Chagas disease.** PLoS neglected tropical diseases, v. 3, n. 7, p. e417, 2009.
- 7- DEVERA, R.; FERNANDES, O.; COURA, J. R. **Should Trypanosoma cruzi be called “cruzi” complex a review of the parasite diversity and the potential of selecting population after in vitro culturing and mice infection.** Mem. Inst. Oswaldo. Cruz, v.98, p.1-12, 2003.

- 8- DIAS, João Carlos Pinto. **Epidemiologia In: *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas.** Rio de Janeiro: 2 ed.; Guanabara Koogan, p. 379-388, 2000.
- 9- DIAS, J. C. P.; MACEDO, V. O. Doença de Chagas. In: ____COURA, J. R. **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias.** Rio de Janeiro: 2 ed.; Guanabara Koogan Editora, p.557-93, 2005.
- 10- DUTRA, W. O.; ROCHA, M. O.; TEIXEIRA, M. M. **The clinical immunology of human Chagas disease.** Trends Parasitol, v. 21, p. 581-587, 2005.
- 11- ECHEVERRÍA, LUIS E.; ROJAS, LYDA Z.; GÓMEZ-OCHOA, SERGIO ALEJANDRO. **Coagulation disorders in Chagas disease: A pathophysiological systematic review and meta-analysis.** Thrombosis Research, v. 201, p. 73-83, 2021.
- 12- GUHL, F.; RAMÍREZ, J. D. ***Trypanosoma cruzi* I diversity: towards the need of genetic subdivision?** Acta tropica, v. 119, n. 1, p. 1-4, 2011.
- 13- GULLO, Caio Eduardo *et al.* **Formas digestivas da doença de Chagas e carcinogênese: um estudo de associação.** Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, v. 39, n. 2, p. 146–150, 2012.
- 14- HIGUCHI, M. L.; De BRITO, T.; REIS, M. M.; BARBOSA, A.; BELLOTTI, G.; PEREIRA-BARRETO, A. C.; MEGGI, F. **Correlation between *Trypanosoma cruzi* parasitism and myocardial inflammatory infiltrate in human chronic chagasi myocarditis: light microscopy and immunohistochemical findings.** Cardiovasc. Pathol., v. 2, p. 101-105, 1993a.
- 15- HOSSAIN, EKRAM *et al.* **Mapping of host-parasite-microbiome interactions reveals metabolic determinants of tropism and tolerance in Chagas disease.** Science advances, v. 6, n. 30, p. 2015.
- 16- LIU, Z.; VONBARGEN, R. U.; MCCALL, L. **Central role of metabolism in *Trypanosoma cruzi* tropism and Chagas disease pathogenesis.** Current Opinion in Microbiology, v. 63, p. 204-209, 2021.
- 17- LLEWELLYN, M. *et al.* ***Trypanosoma cruzi* IIc: phylogenetic and phylogeographic insights from sequence and microsatellite analysis and potential impact on emergent Chagas disease.** PLoS neglected tropical diseases, v. 3, n. 9, p. e510, 2009.
- 18- MACEDO, A. M.; OLIVEIRA, R. P.; PENA, S. D. J. **Chagas disease role of parasite genetic variation in pathogenesis.** Expert reviews in molecular medicine, v. 4, p. 1-16, 2002.
- 19- MACEDO, ANDRÉA MARA. *et al.* ***Trypanosoma cruzi*: genetic Structure of populations and Relevance of genetic Variability to the Pathogenesis of Chagas disease.** Mem. Inst. Oswaldo. Cruz, v. 99, p. 1-12, 2004.
- 20- MCCALL, LAURA-ISOBEL *et al.* **Mass spectrometry-based chemical cartography of a cardiac parasitic infection.** Analytical chemistry, v. 89, n. 19, p. 10414-10421, 2017.

- 21-MINISTÉRIO DA SAÚDE (BRASIL). **Guia de Vigilância em Saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, 2019.
- 22-MONJE-RUMI MM, FLORIDIA-YAPUR N, ZAGO MP, RAGONE PG, PÉREZ BRANDÁN CM, NUÑEZ S, BARRIENTOS N, TOMASINI N, DIOSQUE P. **Potential association of *Trypanosoma cruzi* DTUs TcV and TcVI with the digestive form of Chagas disease**. Infect Genet Evol. 2020.
- 23-NIELEBOCK MAP, MOREIRA OC, XAVIER SCDC, MIRANDA LFC, LIMA ACB, PEREIRA TOJS, HASSLOCHER-MORENO AM, BRITTO C, SANGENIS LHC, SARAIVA RM. **Association between *Trypanosoma cruzi* DTU TcII and chronic Chagas disease clinical presentation and outcome in an urban cohort in Brazil**. PLoS One. 2020.
- 24-NUNES, MARIA CARMO PEREIRA et al. **Chagas cardiomyopathy: an update of current clinical knowledge and management: a scientific statement from the American Heart Association**. Circulation, v. 138, n. 12, p. e169-e209, 2018.
- 25-OLIVEIRA, TATIANA DA SILVA FONSECA de et al. ***Trypanosoma cruzi* I genotype among isolates from patients with chronic Chagas disease followed at the Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (FIOCRUZ, Brazil)**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 50, p. 35-43, 2017.
- 26-PRATA, Aluizio. **Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease**. Lancet infec Dis. v. 1, p. 92-100, 2001.
- 27-RAMÍREZ, JUAN DAVID; HERNÁNDEZ, CAROLINA. ***Trypanosoma cruzi* I: Towards the need of genetic subdivision?**, Part II. Acta tropica, v. 184, p. 53-58, 2018.
- 28-REIS, D. A.; GUERRA, L. B.; CAMARGOS, E. R. S.; MACHADO, R. S. **Lymphocyte subsets in peripheral blood and esophagus of chronic chagasic patients bearing different stages of digestive disease**. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, v. 91, p. 44, 1996.
- 29-SANTANA, ROSA AMÉLIA GONÇALVES et al. ***Trypanosoma cruzi* strain TcI is associated with chronic Chagas disease in the Brazilian Amazon**. Parasites & vectors, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2014.
- 30-SIMÕES, MARCUS VINICIUS et al. **Chagas disease cardiomyopathy**. International Journal of Cardiovascular Sciences, v. 31, p. 173-189, 2018.
- 31-TANOWITZ, H. B. et al. **Chagas disease**. Clin Microbiol. v. 5, p. 400-419, 1992.
- 32-TOSTES, S. J.; LOPES, E. R.; PEREIRA, F. E. L.; CHAPADEIRO, E. **Miocardite chagásica crônica humana: Estudo quantitativo dos linfócitos CD4+ e dos CD8+ no exsudato inflamatório**. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. v. 27, p. 127-134, 1994.
- 33-VAGO, AR.; ANDRADE, LO.; LEITE, AA.; et al. **Genetic characterization of *Trypanosoma cruzi* from tissues of patients with chronic Chagas disease**. Am J Pathol. v. 156, p. 1805-1809, 2000.

- 34- ZINGALES, BIANCA *et al.* **The revised Trypanosoma cruzi subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications.** Infection, genetics and evolution, v. 12, n. 2, p. 240-253, 2012.
- 35- ZINGALES, BIANCA. **Trypanosoma cruzi genetic diversity: Something new for something known about Chagas disease manifestations, serodiagnosis and drug sensitivity.** Acta tropica, v. 184, p. 38-52, 2018.
- 36- WORLD HEALTH ORGANIZATION: **Report sobre la enfermedad de Chagas.** Buenos Aires, Pan American Health Organization/World Health Organization, 2007; www.who.int/tdr; acesso em 26 de outubro, 2022.
- 37- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates.** Wkly Epidemiol Rec, 2015 <https://www.who.int/wer/2015/wer9006/en/>; acesso em 25 de outubro de 2022.