

Origem, determinantes e morbidade da Doença de Chagas.

José Rodrigues Coura.

RESUMO

A doença de Chagas iniciou-se faz milhões de anos como uma enzootia de animais silvestres, que passou a se transmitir ao homem acidentalmente sob a forma de antrozoose quando o homem invadia os ecótopos silvestres. A endemia chagásica se instalou como zoonose nos últimos 200-300 anos com os desmatamentos para agricultura e pecuária, adaptação dos triatomíneos ao domicílio e ao homem e animais domésticos como fonte alimentar. Os determinantes da doença de Chagas são decorrentes da quantidade de parasitos na infecção inicial, do número de formas infectantes, da linhagem do *T. cruzi* inoculado (I, II, Z3 ou híbridos), das reinfecções, do tipo das cepas e clones infectantes, dos receptores específicos histotropoclonais do hospedeiro e da resposta imune inicial e tardia do paciente. Os tripomastigotas circulantes englobados por macrófagos são levados ao fígado, baço, gânglios linfáticos, músculos esqueléticos e cardíacos, formando pseudocistos de amastigotas; com a ruptura dos pseudocistos no miocárdio ou nos plexos mioentéricos ocorre uma miocardite aguda ou crônica mediadas por células TCD4⁺, TCD8⁺, e interleucinas IL2, IL4, e IFN γ . A morbidade da doença de Chagas se caracteriza por uma fase aguda inaparente ou sintomática, com sinais de porta de entrada (chagoma de inoculação ou sinal de Romaña), febre, adenomegalia, hepatoesplenomegalia, com parasitemia patente e uma fase crônica com as formas indeterminada, cardíaca, digestiva ou cardio/digestiva. Há uma grande variação regional da morbidade da doença de Chagas, podendo ocorrer formas graves, cardíaca ou digestiva em 10 a 50% ou forma indeterminada (assintomática) nos demais casos com sorologia positiva.

Palavras-chave: Doença de Chagas. *Trypanosoma cruzi*. origem, determinantes, morbidade.

ABSTRACT

Origin, determining factors and morbidity of Chagas disease.

Chagas disease began millions of years ago as an enzootic disease of wild animals and started to be transmitted to man accidentally in the form of an antrozoosis when man invaded wild ecotopes. Endemic Chagas disease became established as a zoonosis over the last 200-300 years through forest clearance for agriculture and livestock rearing and adaptation of triatomines to domestic environments and to man and domestic animals as a food source. The determinants of Chagas disease result from the quantity of parasites in the

initial infection, the infecting forms in the initial inoculum (number of trypomastigotes), the lineage of *T. cruzi* inoculated (I, II, Z3 or hybrids), reinfection, the types of the strains and clones, the specific clonal-histotropic receptors of the host, and the patient's initial and late immune responses. When *T. cruzi* invades the bloodstream and lymphatic system and becomes established in the muscle and cardiac tissue, the digestive system and phagocytic cells, this causes rupture of pseudocyst with inflammatory lesions and immune responses, particularly mediated by CD4⁺, CD8⁺, IL2, IL4 and IFN γ , with cell and neuron destruction and fibrosis. Chagas disease is characterized by an acute phase with or without symptoms, and with entry point signs (inoculation chagoma or Romaña's sign), fever, adenomegaly, hepatosplenomegaly and evident parasitemia, and an indeterminate chronic phase, or with a cardiac, digestive or cardiac-digestive forms. There is great regional variation in the morbidity due to Chagas disease, and severe cardiac or digestive forms may occur in 10 to 50% of the cases, or the indeterminate form but with positive serology.

Key words: Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, origin, determining factors, morbidity.

INTRODUÇÃO

Origem da doença de Chagas.

A doença de Chagas iniciou-se como uma enzootia de animais silvestres faz milhões de anos. Transmitido entre os animais por vetores da ordem *Hemiptera*, família *Reduviidae*, subfamília *Triatominae*, o *Trypanosoma cruzi* (Chagas 1909) é ingerido do sangue dos mamíferos, pelo vetor sob a forma de tripomastigota, evoluem no aparelho digestivo do inseto, onde se multiplicam como epimastigotas, eliminando-se como tripanosoma metacíclico, infectante com as fezes e urina do vetor, por isso o *T. cruzi* foi classificado como *Stercoraria* (1).

A origem do *T. cruzi*, como dos demais tripanosomas do sangue, provêm filogeneticamente de parasitos monogenéticos do intestino de insetos não sugadores de sangue. Quando esses insetos adquiriram o hábito de sugar sangue, os tripanosomas se adaptaram à circulação, desenvolvendo membrana ondulante e flagelo (1). Embora se conheça a infecção humana pelo *T. cruzi* em múmias somente nos últimos 9000 anos (2), a endemia chagásica se instalou com o desflorestamento por ação antrópica nos dois ou três séculos passados, propiciando a adaptação dos triatomíneos ao peridomicílio e domicílio do homem.

São conhecidas mais de 130 espécies de triatomíneos potenciais vetores do *T. cruzi*, a grande maioria vivendo em associação com aves e mamíferos silvestres, utilizados como fonte alimentar, e no caso dos mamíferos, também para manutenção do ciclo do parasito na natureza. Destacam-se como de importância em saúde pública pela sua capacidade de domiciliação e antropofilia as seguintes espécies: *T. infestans*, *R. prolixus*, *T. dimidiata*, *P. megistus*, *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata*, *T. sórdida*, *T. maculata*, *T. phyllosoma* e *R.*

Laboratório de Doenças Parasitárias do Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz
Acadêmias Nacional de Medicina e Brasileira de Ciências.

Correspondência: José Rodrigues Coura. E-mail: coura@ioc.fiocruz.br

Financiamento: CNPq, Fiocruz.

Palescens (3,4). Dezenas de espécies de reservatórios do *T. cruzi*, entre marsupiais, edentados, quirópteros, carnívoros, logomorfa, roedores e primatas já foram identificados no ciclo silvestre. No ciclo doméstico destacam-se como de importância o cão, o gato, ratos e camundongos domésticos e o cobaio em alguns países em que são criados em casa (4,5).

O *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da enfermidade de Chagas, apresenta uma grande diversidade morfológica, biológica, bioquímica e genética, caracterizadas por cepas e clones, determinantes do seu histotropismo e patogenicidade, representados por "Biodemas", "Zimodemas" e "Esquizodemas" (6,10, 11), agrupados em *T. cruzi* I (silvestre) e *T. cruzi* II (doméstico) por um grupo de especialistas (12). Mais recentemente quatro grupos de *T. cruzi* podem ser distinguidos: I, II, Z3 e híbridos (13,14).

A história natural da enfermidade de Chagas pode ser dividida em quatro fases evolutivas de acordo com a possibilidade de domiciliação ou não dos vetores e sua capacidade de transmissão do *T. cruzi* entre os animais e o homem.

- a) Enzootia: transmissão da infecção pelo *T. cruzi* entre os animais. Própria do ciclo silvestre, com transmissão acidental ao homem.
- b) Antropozoonose: transmissão da infecção dos animais para o homem. Ocorre quando o homem penetra nos ecótopos silvestres.
- c) Zoonose: transmissão intercambiada entre os animais e o homem. Forma de transmissão nas áreas endêmicas com vetores domiciliados.
- d) Zooantroponose: forma de transmissão em áreas endêmicas antigas onde o homem é o principal reservatório.

No início e ainda hoje, a enzootia e antropozoonose, em regiões como a Amazônia são as formas de manutenção predominantes. Com o desmatamento para agricultura e pecuária, a partir do século XVI, os triatomíneos silvestres foram gradativamente se adaptando ao peridomicílio e domicílio humano, aparecendo em áreas endêmicas na forma de zoonose nos últimos 200 a 300 anos.

Determinantes.

Três aspectos da apresentação da doença de Chagas devem aqui ser discutidos: a fase aguda ou inicial, a fase crônica com suas formas indeterminada, cardíaca e digestiva (megas). A forma congênita que apresenta características particulares está bem apresentada em recente colóquio internacional (15).

Entre os determinantes da doença de Chagas devem ser considerados o inóculo do *T. cruzi* na infecção inicial e a oportunidade de reinfecções, as características biológicas das cepas e clones infectantes, particularmente o histotropismo e a resposta do hospedeiro a nível celular e humoral.

O inóculo na infecção inicial deve ser um fator de grande importância no desenvolvimento da doença chagásica. Tudo indica pelos estudos experimentais do nosso grupo, que esse inóculo é em geral baixo. Em trabalho experimental, verificamos uma variação média de 51 a 276 *T. cruzi* por dejeção em estudo de oito espécies de triatomíneos infectados, encontrando, entretanto, algumas vezes dejeções isoladas de mais de 1500 parasitos (16). Mesmo assim o inóculo é infinitamente menor do que os utilizados experimentalmente em animais de laboratório.

A grande maioria de casos de fase inicial da doença de Chagas no Brasil é inaparente ou oligossintomática. Em mais de 500 casos crônicos de vários estados do Brasil por nós acompanhados nos últimos 30 anos, encontramos menos de 1% com história de fase aguda. No acompanhamento de 544 pessoas expostas à infecção natural pelo *T. cruzi* durante 16 meses, verificou-se que 14 (2,57%) se infectaram, entre os quais apenas um terço apresentou sintomatologia compatível com a fase aguda da doença (17). Por outro lado, com um estudo de quase 3 décadas de acompanhamento de casos com fase aguda conhecida, em Bambiú, verificou que os casos crônicos mais graves eram originários de casos que tiveram forma aguda grave, podendo-se inferir que o inóculo inicial e/ou a cepa infectante do *T. cruzi* tiveram influência na evolução da doença (18).

Embora as reinfecções pelo *T. cruzi* devam ser raras devido à imunidade concomitante induzida pela infecção primária, elas já têm sido comprovadas tanto experimentalmente como em casos humanos. As características biológicas das cepas e clones do *T. cruzi*, principalmente o seu tropismo tissular têm certamente função importante como determinante da doença de Chagas e de sua forma clínica (10). Diferentes cepas de *T. cruzi* de acordo com suas características biológicas e tropismo celular em camundongos foram classificadas em três grupos ou "Biodemas" (11). Por outro lado verificou-se que clones da mesma cepa produziam lesões de intensidade diferente experimentalmente, embora tenham sido verificados falta de correlação entre os achados histopatológicos experimentais em camundongo com cepas de *T. cruzi* isoladas de diferentes formas da doença humana (19, 20).

Dois mecanismos patogênicos são conhecidos na infecção pelo *T. cruzi*: o primeiro, já descrito desde 1911, consiste na reação inflamatória local, com necrose, destruição tissular e cicatrização com fibrose; o segundo, mais complexo no seu entendimento e comprovação, é o mecanismo ou são mecanismos imunológicos (21,22). Anticorpos anti EVI (endocárdio, vasos e interstício), anti-nervos e neurônios, anti-músculo e miocárdio, anti-laminina, entre outros, já foram demonstrados experimentalmente na infecção chagásica; entretanto, essa auto-imunidade não é suficiente para explicar toda a patogenia da doença de Chagas (24). A sensibilização de linfócitos T auxiliares pelo *T. cruzi* com desenvolvimento de linfócitos antimiocárdio, associados à migração e ativação macrofágica com liberação de fatores de agregação plaquetária, induzindo respectivamente à miocardite chagásica crônica e a lesões isquêmicas miocárdicas, poderiam explicar lesões encontradas na cardiopatia chagásica crônica. Estas reações seriam mediadas principalmente por linfócitos CD4⁺ e CD8⁺ e por citocinas, principalmente IL2, IL4 e IFN γ . Por outro lado, a destruição neuronal do coração, esôfago, cólons e outras vísceras ocas, poderia ser explicada tanto pelos fenômenos inflamatórios diretos, como pelos eventos imunológicos e isquêmicos (23,25).

As lesões da fase aguda da doença se caracterizam pela presença de reações inflamatórias localizadas, com predomínio de células mononucleares nos focos de rupturas dos pseudocistos, ocasionalmente com formação de granulomas localizados principalmente em tecido muscular e cardíaco. Em certos casos pode haver uma hiperplasia linfocítica em gânglios linfáticos, fígado e baço e a presença de macrófagos invadidos por células parasitárias. Em outros ou concomitantemente podem ser encontradas miocardite

aguda difusa, com edema intersticial, hipertrofia de fibras miocárdicas e dilatação das cavidades cardíacas. A destruição dos neurônios cardíacos e dos plexos mioentéricos, com redução neuronal, inicia-se na fase aguda e continua na cronicidade da doença (25,28).

Na forma crônica indeterminada (assintomática) da cardiopatia chagásica praticamente não se encontra tradução anatomopatológica, exceto ocasionalmente focos inflamatórios isolados no miocárdio e redução limitada de neurônios cardíacos e dos plexos mioentéricos, insuficiente para produzir manifestações clínicas (4,29,31). Já na forma cardíaca da fase crônica podemos encontrar fibrose miocárdica extensa, destruição do sistema de condução e grande redução dos neurônios cardíacos. É interessante assinalar nesses casos a presença ocasional de focos isolados de reação inflamatória aguda como se fosse uma reativação do processo (25,26,31). É freqüente encontrarmos nos casos de cardiopatia chagásica crônica, a hipertrofia de fibras miocárdicas, a dilatação das cavidades com a presença de trombos, a fibrose e o afinamento da ponta dos ventrículos, principalmente do ventrículo esquerdo, caracterizando-se algumas vezes como verdadeiros aneurismas de ponta, quase sempre atetados internamente com trombos sanguíneos organizados (25,26,31). Ainda na fase crônica encontra-se com freqüência uma grande redução dos neurônios dos plexos mioentéricos, principalmente no esôfago e nos cólons, levando a uma disperistalse e dilatação desses órgãos caracterizada pelo megaesôfago, megacolon e outros "megas" de vísceras ocas, como a bexiga, o ureter, a vesícula biliar e outros menos freqüentes (27,29,32).

Morbidade.

A doença de Chagas apresenta-se com uma fase inicial ou aguda, com parasitemia patente no exame direto do sangue, clinicamente inaparente na maioria dos casos ou sintomática com sinais de porta de entrada (chagoma de inoculação ou sinal de Romaña, Fig.1), febre, adenopatia generalizada, edema, hepatoesplenomegalia, miocardite e meningoencefalite nos casos graves; seguida por uma fase crônica, que se apresenta na maioria das vezes com uma forma indeterminada (assintomática, com eletrocardiograma, radiografia do coração, esôfago e cólons normais), a qual pode evoluir para as formas cardíacas ou digestivas (megaesôfago e megacolon) ou associadas, cardíaca e digestiva. Pode ocorrer também a chamada forma congênita já mencionada, por transmissão transplacentária ou no canal do parto durante o nascimento, podendo levar ao aborto, à prematuridade ou a lesões orgânicas no concepto. Nos casos com imunossupressão pode ocorrer reagudização da infecção crônica, produzindo uma miocardite difusa, lesões do sistema nervoso central e meningoencefalite grave (29,33,35).



Figura 1: Caso agudo de Doença de Chagas descrito como Fot. n. 1 por Carlos Chagas (Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 8: 37-60, 1916).

Na fase crônica a infecção chagásica pode se apresentar em uma forma indeterminada, quando aproximadamente 40% dos indivíduos infectados permanecem totalmente

assintomáticos, apresentam o exame radiológico do coração e esôfago anatômica e fisiologicamente normais e o eletrocardiograma sem alterações. Apesar de assintomáticos esses pacientes apresentam reações sorológicas positivas para infecção chagásica e podem apresentar xenodiagnóstico, hemocultura e PCR positivos, repetidamente, durante anos, em grande parte deles, mostrando um verdadeiro equilíbrio entre o parasito e o hospedeiro (4,25,29).

A forma cardíaca crônica é a mais expressiva manifestação clínica da doença de Chagas seja pela sua freqüência como pela gravidade. Ela aparece da 2ª a 4ª década de vida, após 5 a 15 anos da infecção inicial. Os sinais e sintomas da cardiopatia chagásica crônica são decorrentes de arritmia, de insuficiência cardíaca, dos bloqueios aurículo-ventriculares e de ramos e do tromboembolismo (4,25,29).

Na forma digestiva crônica da doença as manifestações clínicas decorrem da disperistalse do esôfago e dos cólons, devido à destruição dos plexos mioentéricos, levando conseqüentemente ao megaesôfago e megacolon. Embora casos isolados de distúrbios autonômicos do esôfago tenham sido descritos na fase aguda da doença, a sua maioria ocorre na fase crônica, quando a disperistalse e o cardioespasmo se acompanham de alargamento do esôfago.

O prognóstico da doença de Chagas depende da forma clínica e das complicações durante a sua evolução. Na fase aguda depende da idade do paciente, da intensidade da infecção e da localização das lesões. Em geral a fase aguda é muito grave em crianças menores de 2 anos de idade e quase sempre fatal naquelas com insuficiência cardíaca e meningoencefalite. O prognóstico pode ser também grave na forma congênita, em alguns casos, levando ao abortamento ou a seqüelas e lesões cardíacas e neurológicas, entretanto, a infecção pode ser assintomática em uma grande maioria dos casos, podendo passar despercebida (25,36).

Na forma crônica cardíaca o prognóstico varia consideravelmente de caso para caso. Pacientes com lesões mínimas como bloqueio de ramo direito isolado, extrasístoles auriculares ou ventriculares unifocais, tendem a ficar estáveis e a maioria sobrevive durante um longo tempo, vindo a falecer muitas vezes de outras causas. Pacientes com arritmias complexas, extrasístoles multifocais, taquicardia paroxística, fibrilação auricular, bloqueio A-V de 3º grau, insuficiência cardíaca, têm um prognóstico muito grave. Um terceiro grupo de pacientes com discreto aumento da área cardíaca, mutabilidade eletrocardiográfica e de manifestações clínicas têm um prognóstico incerto (36).

Estudos realizados pelo nosso grupo (37,40) em áreas de campo de Minas Gerais mostraram que a mortalidade por cardiopatia chagásica aumenta progressivamente dos 30 aos 39 anos de idade e a letalidade por cardiopatia chagásica foi respectivamente de 8,9% em pacientes acompanhados durante 6 anos e de 17% em outro grupo acompanhado durante 10 anos. Os mesmos autores verificaram que a morte súbita ocorreu em 2/3 dos casos e que outro terço dos pacientes faleceu de insuficiência cardíaca.

O prognóstico das formas digestiva e indeterminada é em geral bom, exceto naqueles casos de forma digestiva com complicações. Nenhum caso das formas digestiva e indeterminada observados durante 6 anos e 10 anos evoluiu para o óbito (39,40).

Para concluir devemos salientar que as formas clínicas da doença de Chagas, bem como a sua morbi-mortalidade, varia consideravelmente de acordo com a área endêmica, com a intensidade da infecção, com o tipo cepa e clone do parasito circulante e com a resposta individual do paciente. Berenice, a primeira doente descrita por Carlos Chagas em sua descoberta (1909) aos dois de idade, viveu até os 72 anos como portadora do *T. cruzi*, na forma indeterminada, portanto assintomática, vindo a falecer de outra causa 70 anos após a fase aguda (Fig. 2).



Figura 2: Berenice aos 72 anos, primeiro caso humano descrito por Carlos Chagas quando tinha 2 anos de idade, em 1909.

BIBLIOGRAFÍA

- Hoare CA. The Trypanosomes of Mammals. A zoological monograph. Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburgh; 1972.
- Afderheide AC, Salo W, Madden M, Streitz J, Guhl F, Arriazza B et al. A 9.000-years Record of Chagas' disease. Proceedings of National Academy of Science of United State of America 2004; 101: 2034-9.
- Lent H, Wygodzinsky P. Revision of triatomines (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. Bull An Nat History 163 (art 3); 1979.
- Dias JCP, Macedo VO. Doença de Chagas. In: Coura JR (Editor). Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro 2005; P. 557-593.
- Dias JCP, Coura JR. Epidemiologia. In: Dias JCP, Coura JR. Clínica e Terapêutica da doença de Chagas. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro (RJ); 1997.
- Brener Z, Chiari E. Variações morfológica observadas em diversas amostras de *Trypanosoma cruzi*. Rev Inst Med Trop de São Paulo 1963; 5: 220-4.
- Nussenzueig V, Deane LM, Kloetzel J. Differences in antigenic constitution of strains of *Trypanosoma cruzi*. Exper Parasitol 1963; 14:221-3.
- Coura JR, Ferreira LF, Rubens J, Preira NC, Silva JR. Trypanosoma do "complexo cruzi" em reservatório silvestres do Estado da Guanabara. Estudo de sua patogenicidade. Rev Inst Med Trop S. Paulo 1966; 8: 125-33.
- Andrade SG. Tentative for grouping different *Trypanosoma cruzi* strains in some types. Rev Inst Med Trop S Paulo 1976; 18: 140-1.
- Macedo AM, Pena SDJ. Genetic variability of *Trypanosoma cruzi*: implications for the pathogenesis of Chagas disease Parasitol Today 1998; 14: 119-24.
- Andrade SG. Biodemas, Zimodemas e Esquisodemas: sua relação com a patologia da doença de Chagas. In: Coura JR (Editor). Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias, Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro 2005; P. 621-637.
- Anonymous Recommendations from a Satellite Meeting. Mem Inst Oswaldo Cruz 1999; 94(Suppl I): 429-32.
- Fernandes O, Santos SS, Cupollilo E, Mendonça B, Derré R, Junqueira ACV et al. A mini-exon multiplex polymerase chain reaction to distinguish the major of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Brazilian Amazon. Trans Roy Med Hyg 2001; 95: 97-9.
- Coura JR, Junqueira ACV, Fernandes O, Valente SAS, Miles MA. Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil. Trends in Parasitology 2002; 18: 171-6.
- Carlier V, Torrico F (Organizadores). Colóquio Internacional Infección Congénita por *Trypanosoma cruzi*: desde los mecanismos de transmisión hasta una estrategia de diagnóstico y control. Rev Soc Bras Med Trop 2005; 38 (Supl II): 5-128.
- Pereira JB, Pessoa I, Coura JR. Observações sobre as dejeções e o número de *T. cruzi* eliminados por diferentes espécies de triatomíneos durante a alimentação. Mem Inst Oswaldo Cruz 1988; 83 (Suppl I): 7.
- Teixeira MGLC. Doença de Chagas. Estudo da forma aguda inaparente (dissertation), Rio de Janeiro; Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz; 1997.
- Dias JCP. Doença de Chagas em Bambuí, Minas Gerais, Brasil. Estudo clínico-epidemiológico a partir da fase aguda, entre 1940 e 1982 (PhD Thesis), Universidade Federal de Minas Gerais; 1982.
- Postan M, Mc Daniel JR, Dvorak JA. Studies on *Trypanosoma cruzi* clones in inbred mice I. A comparison of infection of C3H mice with two clones isolated from a common source. Am J Trop Med Hyg 1983; 32: 497-506.
- Schlemper Jr BR, Avila CM, Coura JR, Brener Z. Course of infection and histopathological lesions in mice infected with seventeen *Trypanosoma cruzi* strains isolated from chronic patients. Rev Soc Bras Med Trop 1983; 16: 23-30.
- Teixeira ARL, Teixeira ML, Santos-Buch CA. The immunology of experimental Chagas' disease. IV. Production of lesions in rabbits similar to those of chronic Chagas' disease in man. Am J Pathol 1975; 80: 163-180.
- Andrade Z. Immunopathology of Chags disease. Mem Inst Oswaldo Cruz 1999; 94 (Suppl I): 71-80.
- Higushi ML. Human chronic chagasic cardiopathy: participation of parasites antigens, subsets of lymphocytes, cytokines and microvascular abnormalities. Mem Inst Oswaldo Cruz 1999; 94 (Suppl I): 263-7.
- Tarleton RL. Chagas disease: a role for autoimmunity? Trends Parasitol 2003; 19: 447-51.
- Coura JR. Chagas disease: what is know and what is needed A background article. Mem Inst Oswaldo Cruz 2007; 102 (Suppl I): 113-22.

26. Andrade Z. Patologia da doença de Chagas. In: Brener Z, Andrade Z, Barral-Netto M (Editores). *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*. 2ª Ed. Guanabara-Koogan; Rio de Janeiro 2000; P.201-23.
27. Koberle F. Patologia y anatomia patológica de la enfermedad de Chagas. *Bol Ofi Sanit Panamer* 1961; 51: 404-28.
28. Andrade SG, Andrade Z. Chagas disease and neuronal alterations at the Auerbach' plexus. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1966; 8: 219-24.
29. Coura JR, Junqueira ACV, Carvalho-Moreira CJ, Borges-Pereira J, Albajar-Viñas P. Uma visão sistêmica da endemia chagásica. In: Silveira AC. *La enfermedad de Chagas a la puerta de los 100 años del conocimiento de una endemia americana ancestral*. Organización Panamericana de la Salud y Fundación Mundo Sano, Washington DC y República Argentina; 2007.
30. Andrade Z, Andrade SG, Sadigurski M, Wenthold RJ Jr, Hilbert SL, Fernans VJ. The indeterminate phase of Chagas disease: ultrastructural cardiac changes in the canine model. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 57: 228-36.
31. Lopes ER, Chapadeiro E. Anatomia Patológica da Doença de Chagas. In: Dias JCP, Coura JR. *Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas*. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro 1997; P. 67-84.
32. Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis* 2001; 1: 92-100.
33. Coura JR. Determinantes epidemiológicos da doença de Chagas no Brasil: a infecção, a doença e sua morbimortalidade. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1988; 83: 392-402.
34. Coura JR, Anunziato N, Willcox HPF. Morbidade da doença de Chagas. I – Estudo de casos procedentes de vários estados do Brasil, observados no Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1983; 78: 362-72.
35. Macedo VO. Influência da exposição à reinfecção na evolução da doença de Chagas (Estudo evolutivo de cinco anos) *Rev Pat Trop* 1976; 5: 33-116.
36. Nogueira N, Coura JR. American Trypanosomiasis (Chagas' Disease). In: Warren KS, Mahmoud AAF. (Editors). *Tropical and Geographical Medicine* 2nd Ed Mc Graw-Hill, New York 1990. P.281-96.
37. Abreu LL. Doença de Chagas: Estudo da morbidade no município de Pains, Minas Gerais (Dissertation). Universidade Federal do Rio de Janeiro; 1977.
38. Coura JR, Abreu LL, Borges-Pereira J, Willcox HP. Morbidade da doença de Chagas. IV. Estudo longitudinal de dez anos em Pains e Iguatama, Minas Gerais, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1985; 80: 73-80.
39. Borges-Pereira J, Willcox HP, Coura JR. Morbidade da doença de Chagas. III. Estudo longitudinal de seis anos, em Virgem da Lapa, MG, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1985; 80: 63-71.
40. Coura JR, Borges-Pereira J. A follow-up evaluation of Chagas' disease in two endemic areas in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1984; 79 (Suppl): 107-112.