

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

BRUNA JULIANA DE MELLO

**A SUSCETIBILIDADE *IN VIVO* AO BENZONIDAZOL DAS UNIDADES
DISCRETAS DE TIPAGEM (DTUs) DE *Trypanosoma cruzi*: UMA
REVISÃO SISTEMÁTICA**

**PONTA GROSSA
2022**

BRUNA JULIANA DE MELLO

**A SUSCETIBILIDADE *IN VIVO* AO BENZONIDAZOL DAS UNIDADES
DISCRETAS DE TIPAGEM (DTUs) DE *Trypanosoma cruzi*: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, no Programa de Ciências Biomédicas, área de Biologia Celular e Molecular.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Iriane Eger

**PONTA GROSSA
2022**

M526 Mello, Bruna Juliana de
A suscetibilidade in vivo ao Benzonidazol das unidades discretas de tipagem (DTUs) de *Trypanosoma cruzi*: uma revisão sistemática / Bruna Juliana de Mello. Ponta Grossa, 2022.

56 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas - Área de Concentração: Biologia Celular e Molecular), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Iriane Eger.

1. DTU. 2. *Trypanosoma cruzi*. 3. Doença de chagas. 4. Suscetibilidade. 5. Benzonidazol. I. Eger, Iriane. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Biologia Celular e Molecular. III.T.

CDD: 574

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NÍVEL DE MESTRADO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS – ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR e MOLECULAR 05/2022 DA MESTRANDA BRUNA JULIANA DE MELLO REALIZADA NO DIA 30 de AGOSTO DE 2022, NA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA.

No dia trinta do mês de agosto do ano de dois mil e vinte dois, às 9h00min, através do sistema de web conferência da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) via plataforma GoogleMeet – NUTEAD/UEPG, em seção pública, sob a presidência da **Professora Dr^a. Iriane Eger** reuniu-se a Banca Examinadora de defesa da Dissertação de Mestrado em Ciências Biomédicas da mestranda **Bruna Juliana de Mello** na linha de pesquisa “Bioquímica dos Processos Celulares”, constituída pelos demais Doutores (membros titulares): **Dr^a. Daniela Parada Pavoni ICC/PR** e **Prof. Dr. Edmar Miyoshi – UEPG/PR**. Iniciados os trabalhos, a presidência deu conhecimento aos membros da banca e ao candidato das normas que regem a defesa da dissertação de Mestrado e definiu-se a ordem a ser seguida pelos examinadores para arguição. O título da dissertação avaliada foi: **“A suscetibilidade *in vivo* ao benzonidazol das Unidades Discretas de Tipagem (DTUs) de *Trypanosoma cruzi*: Uma revisão sistemática”**. Encerrada a defesa, e após reunião, a banca comunicou o resultado final da avaliação da dissertação como aprovada. Considerado requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas, a aluna deverá entregar uma cópia da versão final, no prazo estipulado no item 8 da IN 01/2015, referente a defesa de dissertação com as modificações sugeridas pelos membros da banca examinadora. Para a obtenção do título de mestre, o aluno terá até 6 meses, após a data da defesa da sua dissertação, para apresentar ao Colegiado a carta de submissão do seu artigo em revista indexada no estrato mínimo B3 dentre os periódicos indicados pela área de Ciências Biológicas II vigente. Nada mais havendo a ser tratado, lavrou-se a presente ata que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Profa. Dra. Iriane Eger - Presidente - UEPG/PR

Documento assinado digitalmente
gov.br DANIELA PARADA PAVONI
Data: 31/08/2022 11:01:44-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Dra. Daniela Parada Pavoni – Membro titular - ICC/PR

Prof. Dr. Edmar Miyoshi – Membro titular – UEPG/PR

Ponta Grossa, 30 de agosto de 2022.

RESUMO

A doença de Chagas (DC), descoberta em 1909 por Carlos Chagas, é causada pelo *Trypanosoma cruzi*, parasito heteroxênico, que possui complexo ciclo biológico, diferentes formas evolutivas ao longo do seu processo de desenvolvimento e elevada heterogeneidade. Tem como vetor insetos hematófagos, popularmente conhecidos como “barbeiros”. Não há vacina para DC e, no Brasil, apenas um medicamento é indicado para o tratamento: o benzonidazol. Muitos estudos apontam discrepâncias na resposta do parasito ao benzonidazol e, alguns sugerem que a variabilidade genética do *T. cruzi* pode estar diretamente relacionada com a suscetibilidade do parasito ao tratamento com o Benzonidazol (Bz). O objetivo desta revisão sistemática foi reunir evidências sobre as DTUs (nomenclatura utilizada para categorizar as linhagens moleculares de *T. cruzi*) e a suscetibilidade *in vivo* ao benzonidazol. A seleção dos artigos se deu pelo portal Periódicos CAPES, que contempla diversas bases de dados, incluindo: Web of Science, Scopus, Lilacs, Pubmed e SciELO. Foram utilizados descritores específicos, como “*strains*”, “*Trypanosoma cruzi*”, “*in vivo*”, “*benznidazole*”, entre outros. Inicialmente 407 artigos foram localizados, após a triagem primária com aplicação do teste de relevância 1, restaram 28 artigos que foram submetidos ao segundo teste de relevância restando 9 artigos, que foram incluídos neste trabalho. Como resultado, concluiu-se que não se pode afirmar que os perfis de suscetibilidade de *T. cruzi* ao tratamento com benzonidazol estejam apenas, ou, diretamente relacionados com suas respectivas DTUs. Além disso, apesar da divisão em DTUs ser muito válida, faltam estudos que corroborem o estabelecimento de um padrão de classificação que faça jus à diversidade comportamental das diferentes linhagens de *T. cruzi*. Novos estudos genéticos e ecoepidemiológicos são necessários para que essa abordagem logre sucesso.

Palavras-chave: *DTU; Trypanosoma cruzi; doença de Chagas; suscetibilidade; benzonidazol*

ABSTRACT

Chagas disease (CD), discovered in 1909 by Carlos Chagas, is caused by *Trypanosoma cruzi*, a heteroxenic parasite, which has a complex biological cycle, different evolutionary forms throughout its development process and high heterogeneity. Its vector is hematophagous insects, popularly known as “kissing bugs”. There is no vaccine for CD and, in Brazil, only one drug is indicated for the treatment: benznidazole. Many studies point to discrepancies in the parasite's response to benznidazole, and some suggest that the genetic variability of *T. cruzi* may be directly related to the parasite's susceptibility to treatment with benznidazole (Bz). The aim of this systematic review was to gather evidence on DTUs (nomenclature used to categorize molecular strains of *T. cruzi*) and in vivo susceptibility to benznidazole. The articles were selected through the CAPES Periódicos portal, which includes several databases, including: Web of Science, Scopus, Lilacs, Pubmed and SciELO. Specific descriptors were used, such as “strains”, “*Trypanosoma cruzi*”, “in vivo”, “benznidazole”, among others. Initially, 407 articles were located, after the primary screening with application of relevance test 1, 28 articles remained that were submitted to the second relevance test, leaving 9 articles, which were included in this work. As a result, it was concluded that it cannot be stated that the susceptibility profiles of *T. cruzi* to treatment with benznidazole are only, or directly related to their respective DTUs. Furthermore, although the division into DTUs is very valid, there is a lack of studies that corroborate the establishment of a classification pattern that does justice to the behavioral diversity of the different strains of *T. cruzi*. New genetic and ecoepidemiological studies are needed for this approach to succeed.

Keywords: DTU; *Trypanosoma cruzi*; Chagas disease; susceptibility; benznidazole

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** – Distribuição geográfica aproximada das DTUs de *T. cruzi* nos ciclos de transmissão doméstico e silvestre..... 14
- FIGURA 2** – Distribuição global de casos de infecção por *Trypanosoma cruzi*. Mapa produzido com base nas estimativas oficiais.....15
- FIGURA 3** – Esquema representativo da evolução da doença de Chagas.....19
- FIGURA 4** - Esquema ilustrativo da adaptação utilizada para a estratégia PICO, na realização da Revisão Sistemática.....24
- FIGURA 5** - Esquema ilustrativo dos motivos utilizados para exclusão de artigos, durante a primeira triagem, ou seja, aplicação do TR1.....28
- FIGURA 6** - Fluxograma ilustrativo do planejamento e execução da presente Revisão Sistemática28

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – Classificação em Biodemas para diferentes cepas de <i>T.cruzi</i> , com base em análises de critérios biológicos do parasito, adaptado – Andrade e Magalhães 1997.....	4
QUADRO 2 - Resumo das classificações propostas para <i>T. cruzi</i> , ao longo do tempo.....	7
QUADRO 3 - Associações das DTU(s) de <i>T. cruzi</i> com seus ecótopos, reservatórios, vetores, localização geográfica e manifestação clínica da doença de Chagas	13
QUADRO 4 - Etapas da criação das revisões sistemáticas, segundo a Cochrane. SãoPaulo, 2007.....	21
QUADRO 5 - Resumo dos artigos excluídos quando submetidos ao TR2 e os motivos da exclusão.....	29
QUADRO 6 - Resumo dos artigos utilizados para a construção da presente Revisão Sistemática.....	30

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	8
1.1 O <i>Trypanosoma cruzi</i> e a doença de Chagas.....	8
1.2 A Revisão Sistemática.....	26
2.OBJETIVOS	28
2.1 Objetivo Geral.....	28
2.2 Objetivos Específicos.....	28
3.METODOLOGIA E ESTRATÉGIA DE AÇÃO	29
3.1 Tipo de Estudo.....	29
3.2 Produção dos Testes de Relevância	30
3.3 Fontes de Dados	31
3.4 Escolha de <i>strings</i> de busca e critérios de elegibilidade dos artigos	31
3.5 Análise dos resumos	32
3.6 Análise dos artigos na íntegra.....	32
3.7 Coleta de Dados	32
4.RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
REFERÊNCIAS	45
APÊNDICES	53

1 INTRODUÇÃO

1.1 O *Trypanosoma cruzi* e a doença de Chagas

O ano de 2009 marcou o centenário do descobrimento da doença de Chagas (DC), realizado pelo sanitarista e bacteriologista brasileiro Carlos Chagas (1879-1934), na região norte do Estado de Minas Gerais, fazendo-o ser eternizado na história da Medicina Tropical (MALAFAIA E RODRIGUES, 2010; WHO, 2018).

Durante a expedição de Carlos Chagas à cidade de Lassance (MG), onde realizava inquéritos hemoscópicos em indivíduos com sintomas de malária, doença essa que estava impedindo o progresso da construção da Estrada de Ferro Central do Brasil, foi informado da existência de um inseto hematófago que picava as pessoas, em geral, na região da face e causava sintomas semelhantes na maioria dos indivíduos picados pelo inseto (CHAGAS, 1909).

Em sua investigação coletou, dissecou e encontrou no conteúdo intestinal do inseto, diversos parasitos do gênero *Trypanossoma*, os quais, mais tarde, receberam o nome de *Trypanossoma cruzi*, em homenagem ao seu mestre e amigo, o médico Oswaldo Cruz (CHAGAS, 1909).

O inseto em questão, popularmente conhecido como “barbeiro”, pertence à família Reduviidae, subfamília *Triatominae*, são hemípteros hematófagos que se distribuem em aproximadamente 149 espécies. Sabe-se que poucas dessas espécies são vetores competentes na transmissão de *T. cruzi* para humanos, destacando-se às pertencentes aos gêneros *Triatoma*, *Rhodnius* e *Panstrongylus* (COSTA *et al.*, 2009; JURBERG *et al.*, 2004).

Considerada inicialmente como enzoótica, a DC existe nas Américas há milhões de anos e tornou-se uma antropozoonose quando o homem passou a ocupar ecótopos silvestres (COURA E VIÑAS, 2010). Os insetos vetores, anteriormente restritos ao ambiente silvestre, passaram a ocupar também o ambiente peridoméstico e doméstico, estabelecendo uma interconexão entre os ecótopos (GALVÃO, 2014).

A circulação de mamíferos silvestres, considerados reservatórios naturais de *T. cruzi*, como gambás e tatus, nos ambientes peridomiciliar e domiciliar, somada à circulação de animais domésticos, como cães e gatos, ao ambiente silvestre, ambos para fins alimentares, fez com que o parasito chegasse, com sucesso, ao ambiente doméstico (COURA E VIÑAS, 2010). Além disso, a capacidade natural que os

triatomíneos têm de colonizar diferentes habitats onde ocorre a circulação de *T. cruzi* entre os animais domésticos e silvestres, favoreceu a infecção humana pela via vetorial (COURA 2007; COURA E VIÑAS, 2010).

Carlos Chagas executou um feito inédito ao identificar, não apenas o agente etiológico da DC, mas seu vetor e o ciclo biológico completo do parasito, assim como vários aspectos clínicos e epidemiológicos da enfermidade, que veio a receber seu nome, tudo isso em um curto período (COURA, 2007).

Pertencente à ordem Kinetoplastida e à família Trypanosomatidae, o *T. cruzi* é um protozoário flagelado que parasita hospedeiros vertebrados e invertebrados. Como os demais tripanossomatídeos, caracteriza-se pela presença de uma única mitocôndria e de uma estrutura chamada cinetoplasto, onde se concentra o DNA mitocondrial, chamado de kDNA (DE SOUZA *et al.*, 2002; RODRIGUES *et al.*, 2014)

Possui ciclo de vida do tipo heteroxênico, o que significa que necessita de mais de um hospedeiro para que seu ciclo evolutivo se complete. Ao longo do ciclo de vida, apresenta três estágios de desenvolvimento: epimastigota, tripomastigota e amastigota (DE SOUZA, 2002; RODRIGUES *et al.*, 2014).

A forma **epimastigota** é um tipo celular replicativo e alongado, com flagelo emergente da bolsa flagelar e cinetoplasto em forma de bastão. Encontrada no aparelho intestinal do triatomíneo, é forma responsável pela manutenção da infecção no inseto, onde se divide por mitose e ao atingir a porção terminal do tubo digestivo, se diferencia em tripomastigotas metacíclicos, sendo posteriormente eliminados juntamente com as excretas do inseto (DIAS E COURA, 1997; DE SOUZA, 2002).

Por sua vez, os tripomastigotas podem se apresentar como **tripomastigotas metacíclicos** ou **tripomastigotas sanguíneos**. Ambos não se replicam, possuem corpo alongado, de variável delgadeza e cinetoplasto arredondado localizado na região posterior ao núcleo, com flagelo, também emergente da bolsa flagelar, que percorre toda a extensão do parasito (BRENER, 1973; MORTARA, 1991).

Os tripomastigotas metacíclicos são encontrados na porção final do intestino do inseto vetor, nas fezes e urina do mesmo. Uma vez depositados na superfície corporal do hospedeiro vertebrado durante a hematofagia do inseto, os tripomastigotas metacíclicos penetram no ponto da picada do inseto ou ainda via mucosa ou ferimentos na pele e, em seguida, invadem, entre outras, as células do sistema fagocítico mononuclear e diferenciam-se em amastigotas (ROMAÑA E MEYER, 1942; BRENER, 1973; MACHADO *et al.*, 2012).

Após sucessivas divisões intracelulares, os amastigotas diferenciam-se em tripomastigotas sanguíneos, lisam a célula hospedeira e atingem a corrente sanguínea ou células adjacentes, podendo assim, infectar diferentes tecidos em toda a extensão corporal do hospedeiro ou ser ingeridos pelo inseto vetor, no decorrer de um novo repasto sanguíneo (ROMAÑA E MEYER, 1942; BRENER, 1973; MACHADO *et al.*, 2012).

A forma **amastigota** é arredondada ou oval, com flagelo muito reduzido e não emergente da bolsa flagelar, possui cinetoplasto em forma de barra, é altamente replicativa e pode ser localizada na intimidade celular tissular do hospedeiro vertebrado (BRENER, 1973; MORTARA, 1991). A presença das formas amastigotas de *T. cruzi*, é uma característica da fase crônica da doença e está diretamente relacionada com a série de alterações morfológicas que podem ser observadas nos indivíduos acometidos pela infecção, sobretudo nos tecidos cardíacos e/ou digestivos (MARANON, 2000; MACHADO, 2012).

As pluralidades observadas no agente causador da DC, não se encerram em sua variedade de hospedeiros ou em seu estágio de desenvolvimento. Uma das principais características de *T. cruzi* é a heterogeneidade de suas populações, resultando em uma ampla e complexa diversidade biológica e genética do parasito (ZINGALES *et al.*, 2009). Desde a descrição inicial da DC, essas peculiaridades genéticas e moleculares tornaram-se fonte de inúmeros trabalhos científicos, principalmente, quando se constatou a existência de variações nas características dos parasitas presentes em uma mesma cepa (ANDRADE, 1974).

A partir de então, as diferenças moleculares do parasito começaram a ser cada vez mais investigadas, objetivando correlacionar as diferentes cepas com suas respectivas características biológicas, epidemiológicas e clínicas (MACEDO *et al.*, 2002; CAMPBELL *et al.*, 2004).

As primeiras tentativas de caracterizar os “tipos” de *T. cruzi* existentes em uma mesma cepa foram baseados em:

a) Critérios biológicos, como curva de parasitemia, infectividade celular e sensibilidade a drogas (ANDRADE, 1985);

b) Critérios antigênicos, capazes de gerar diferentes resposta imunológica (ANDRADE, 1985);

c) Critérios bioquímicos, baseados em padrão isoenzimático dos organismos, gerando conclusões importantes sobre as diferenças genéticas das populações (MILES, 1980).

Algumas importantes conclusões foram tiradas nesses estudos iniciais, como por exemplo o resultado descrito por Andrade (1974) em relação a predominância de um determinado “tipo” de parasito em uma definida área geográfica, a resistência e sensibilidade a fármacos ter uma correlação direta com o “tipo” analisado de parasito ou, ainda, os padrões isoenzimáticos similares encontrados em cepas iguais (ANDRADE, *et al*, 1985). Inicialmente, Andrade (1974) propôs o primeiro sistema de classificação das populações do parasito, ao analisar o decurso da infecção em camundongos, com cepas diferentes de *T. cruzi*. Os parâmetros utilizados nesse estudo foram: curva de parasitemia, tropismo tecidual, danos histopatológicos, predomínio morfológico e taxa de mortalidade. Como resultado obteve-se a definição de três grupos de parasitos, que foram denominados como Tipos I, II e III.

Mais tarde, Andrade e Magalhães (1997), avançaram nos estudos e, com base nos critérios biológicos e cepa de investigação, propuseram o termo Biodemas para a categorização dos grupos, conforme quadro 1.

QUADRO 1 - Classificação em Biodemas para diferentes cepas de *T.cruzi*, com base em análises de critérios biológicos do parasito

Biodema	Cepa de referência	Forma do parasito	Velocidade de multiplicação	Picos de parasitemia	Tropismo	Mortalidade
Biodema I	Cepa Y	Predomínio de formas delgadas	Rápida	Elevado, entre o 7º e 12º dia da infecção	Macrófagos	Elevada
Biodema II	Cepa São Felipe	Predomínio de formas largas	Relativamente lenta	Irregulares, entre o 12º e 20º dia da infecção	Miocárdio	Alta
Biodema III	Cepa Colombiana	Predomínio de formas largas	Lenta	Tardios, entre o 20º e 30º dia da infecção	Musculatura esquelética	Baixa

Fonte: Adaptado de Andrade e Magalhães, 1997.

A heterogeneidade do parasito poderia ser útil na busca por explicações sobre as diferentes manifestações clínicas da doença, em diferentes regiões do país, a variabilidade da resposta ao tratamento e até mesmo fatores de transmissibilidade do parasito (DEVERA *et al.*, 2003).

A partir da evolução das técnicas de biologia molecular, novas metodologias passaram a ser aplicadas no estudo da heterogeneidade do *T. cruzi*, sobretudo utilizando análise dos perfis isoenzimáticos. Os isolados moleculares que apresentaram os mesmos perfis para cada um dos sistemas enzimáticos analisados, foram classificados em três grupos denominados Zimodemas I, II e III. Aos Zimodemas I e III associou-se o ciclo silvestre de *T. cruzi* e ao Zimodema II, o ciclo domiciliar do parasito (MILES *et al.*, 1977).

Novas análises de isoenzimas foram feitas, utilizando isolados de diferentes hospedeiros, em diferentes áreas endêmicas do Brasil e novas classificações de Zimodemas foram propostas (ROMANHA *et al.*, 1979; TBAYRENC E AYALA, 1988). Morel *et al.*, (1980) iniciou os estudos de RFLP-PCR (análise de fragmentos de restrição do kDNA dos minicírculos do parasito) de cepas oriundas de vetores e pacientes humanos da América Latina e encontrou padrões de bandas restritos a grupos distintos do parasito, denominados então como Esquizodemas.

A partir da década seguinte, análises filogenéticas foram sendo aprofundadas, baseadas em novos e diferentes métodos moleculares, entre eles a MLEE (*Multilocus Enzyme Electrophoresis*) e RAPD (*Randomly amplified polymorphic DNA*) sendo esse, segundo Heun *et al.* (1994), umas das técnicas que merece maior destaque por ser capaz de identificar de forma mais acurada as relações moleculares entre populações e indivíduos que sejam semelhantes demais para serem classificados apenas por perfil isoenzimático (TIBAYRENC *et al.*, 1993). Estabeleceu-se então, a partir das linhagens já existentes, seis genótipos diferentes para *T. cruzi*, onde: a linhagem associada ao ciclo silvestre - TcI - abrangeu o genótipo TcI, enquanto a linhagem associada ao ciclo doméstico - TcII - foi fragmentada em cinco subgrupos - TcIIa, TcIIb, TcIIc, TcII d e TcII e. Cabe ressaltar ainda, que o único genótipo “puro” correspondente à TcII, pertencia ao subgrupo TcIIb, os demais, correspondiam às cepas híbridas que não eram alocadas em nenhuma das linhagens anteriormente categorizadas por outros pesquisadores (BRISSE, *et al.*, 2001).

O conceito de DTU (*Discrete typing units*, em tradução livre, Unidade Discreta de Tipagem) foi inicialmente utilizado por Tibayrenc *et al.* (1998) e apoiado nos

estudos de Zingales *et al.* (2009), tornando-se, então, um consenso para a classificação das formas intraespecíficas de *T. cruzi*. O objetivo principal da DTU é identificar, através de marcadores genéticos, moleculares e imunológicos, as populações de parasitos que são geneticamente semelhantes entre si.

O quadro 2, resume as classificações e nomenclaturas utilizadas para as diferentes linhagens de *T. cruzi*, ao longo do tempo, desenvolvidas por diferentes pesquisadores da área.

Segundo Coura (2015), as DTUs de *T. cruzi* parecem estar diretamente correlacionadas a fatores específicos da DC, como virulência, patogenicidade e resistência ao tratamento da doença. Além disso, diversos estudos epidemiológicos têm demonstrado o perfil de distribuição das diferentes DTUs, associando-as a regiões geográficas e correlacionando-as com manifestações clínicas semelhantes (revisto por CUNHA *et al.*, 2022).

A figura 1 é um mapa proposto por Zingales (2012) e ilustra a distribuição geográfica aproximada das diferentes linhagens do parasito, abrangendo integralmente as Américas do Sul e Central e a região sul da América do Norte.

Além disso, a autora também traz informações acerca das associações entre hospedeiros e vetores dos ecótopos pertencentes aos mapas da figura 1 e demonstra que tais associações são bastante variáveis e não exclusivas, conforme visto no quadro 3. A partir dos dados obtidos com essas observações há um entendimento maior sobre o comportamento das diferentes linhagens de *T. cruzi*, o que permite, numa perspectiva futura, a busca de respostas clínico-epidemiológicas da DC na tentativa de diminuir as mazelas causadas por essa infecção (ZINGALES, *et al.*, 2012).

Cabe ressaltar que a DC afeta aproximadamente oito milhões de pessoas em todo o globo, tendo sua concentração principal na região da América Latina, tratando-se de uma doença endêmica em 21 países do continente sendo responsável pela morte de mais de 10 mil pessoas a cada ano (WHO, 2018; OPAS, 2018).

QUADRO 2 - Resumo das classificações propostas para *T. cruzi*, ao longo do tempo

(continua)

Ano do estudo/ proposição	Isolados utilizados	Autores	Metodologia	Resultados/ Classificação
1977 e 1978	Isolados oriundos de amostras coletadas em pacientes humanos dos estados da Bahia e do Amazonas, Brasil.	Miles et al.	Análise de isoenzimas, avaliando oito loci enzimáticos.	Agrupou-se os isolados que apresentaram o mesmo perfil enzimático, para cada um dos loci analisados, definindo-os como: ZIMODEMAS 1, 2 e 3. Os perfis de Zimodemas 1 e 3, estavam relacionados ao ciclo silvestre e o Zimodema 2 ao ciclo doméstico.
1979 e 1982	Isolados oriundos de amostras coletadas em pacientes humanos e hospedeiros do ciclo silvestre, em difusas áreas endêmicas do Brasil.	Romanha et al.	Análise de isoenzimas, avaliando oito loci enzimáticos.	Agrupou-se os isolados que apresentaram o mesmo perfil enzimático, para cada um dos loci analisados, definindo-os como: ZIMODEMAS A, B, C e D.
1986 e 1988	Isolados oriundos de amostras coletadas em pacientes humanos, reservatórios e vetores em distintos países da América Latina e dos Estados Unidos.	Tibayrenc et al.	Análise de isoenzimas, avaliando quinze loci enzimáticos.	Agrupou-se os isolados que apresentaram o mesmo perfil enzimático, em 43 grupos genéticos diferentes, onde, 4 desses grupos, representaram mais que 50% das amostras, portanto, ocorriam em maior frequência em diversas áreas geográficas. Foram denominados "clonets" e os principais genótipos do parasito eram dos grupos: 19,20,39 e 32. Os grupos 19 e 20 foram agrupados em Z1 e os grupos 39 e 32 em Z2 .

Fonte: A autora.

QUADRO 2 - Resumo das classificações propostas para *T. cruzi*, ao longo do tempo

(continuação)

Ano do estudo/ proposição	Isolados utilizados	Autores	Metodologia	Resultados/ Classificação
1980	Cepas Y e CL de vetores e material obtido através de hemocultura em pacientes chagásicos da cidade de Bambuí, MG, Brasil.	Morel et al.	Análise das enzimas de restrição dos minicírculos do kDNA dos parasitos.	Propuseram o termo ESQUIZODEMA , para classificar as linhagens de parasitos obtidas por meio das enzimas de restrição. Analisaram 35 grupos pertencentes ao ZA e os classificaram em 26 grupos de esquizodemas e, ao analisar 14 grupos do ZB, obtiveram mais três grupos de esquizodemas.
1989		Sturm et al.	Observaram que a metodologia de análise das enzimas de restrição poderia ser empregada diretamente com amostras biológicas, não havendo necessidade de manipulá-las em cultura.	
1993		Tibayrenc et al.	Os autores correlacionaram os resultados obtidos, tanto nas análises de isoenzimas, quanto das enzimas de restrição. Comprovando que o RAPD são marcadores genéticos confiáveis.	

Fonte: A autora.

QUADRO 2 - Resumo das classificações propostas para *T. cruzi*, ao longo do tempo

(continuação)

Ano do estudo/ proposição	Isolados utilizados	Autores	Metodologia	Resultados/ Classificação
1993	32 isolados provenientes de diversos países da América do Sul	Steindel et al.	Análises de enzimas de restrição – 4 primers.	18 cepas pertenciam ao Z1 (59% das bandas presentes em todas as cepas); 6 cepas pertenciam ao Z2; 4 cepas ao ZB; 4 cepas ao ZC; A análise das diferentes linhagens que pertenciam ao Z, com base nas bandas compartilhadas, demonstrou que as inter-relações entre as cepas, espelhavam sua origem geográfica; Entre os zimodemas, havia menos de 7% de compartilhamento de bandas.
1993	Diversos isolados provenientes de hospedeiros da América Latina.	Souto e Zingales	Análise do polimorfismo da região D7 da subunidade 24Sα do rDNA	Obtiveram dois produtos distintos, que permitiu a classificação em dois grupos: Linhagem TcI → fragmento com 125pb; Linhagem TcII → fragmento com 110 pb; Em 1996, os autores, demonstraram a existência de um terceiro grupo com perfil híbrido: Grupo ½ (Linhagem III) → fragmentos com 110 e 125pb.
1994	18 isolados de vetores e/ou reservatórios no estado da Georgia, EUA e 4 isolados provenientes de humanos chagásicos do Brasil.	Clark & Pung	Análise do polimorfismo da subunidade 18S do rRNA	Classificaram as cepas em RIBODEMAS , onde: Ribodema I correspondente à linhagem TcI; Ribodema II e III correspondente à linhagem TcII.

Fonte: A autora.

QUADRO 2 - Resumo das classificações propostas para *T. cruzi*, ao longo do tempo

(continuação)

Ano do estudo/ proposição	Isolados utilizados	Autores	Metodologia	Resultados/ Classificação
1996	Utilizaram isolados pertencentes aos Zimodemas I, II e III, oriundos dos Estados Unidos, Brasil e Chile de hospedeiros infectados naturalmente.	Souto et al.	Análise do polimorfismo da região inter-gênica do mini-exon.	Os autores propuseram uma nova classificação do <i>T. cruzi</i> em três grupos: Grupo I → linhagem que apresente um fragmento com 125pb para o rRNA e 330pb para o mini-exon; Grupo II → linhagem que apresente um fragmento de 110pb para o rRNA e 350pb para o mini-exon; Grupo ½ → linhagem que apresente ambos os fragmentos para o rRNA (125 e 110pb) e 330pb para o mini-exon.
1999		Diversos	Simpósio Internacional em comemoração ao 90º aniversário do descobrimento da doença de Chagas; com o intuito de padronizar a nomenclatura das linhagens de <i>T. cruzi</i> , foram estabelecidos os grupos de linhagem	TcI : incluíram as cepas que equivalessem às anteriormente classificadas como Zimodema I, Ribodemas II/III, Grupo I e Linhagem II; TcII : incluíram as cepas que equivalessem às anteriormente classificadas como Zimodema II, Zimodema A, Tipo II, Ribodema I; T. cruzi : as cepas com classificação anterior inconclusivas ou com perfil híbrido ½, Genótipo 39, Zimodema III e ainda aquelas com incongruência entre seus marcadores.
2000 ¹	Isolados oriundos dos Estados Unidos, Brasil, Bolívia, Chile, Paraguai, Colômbia, Peru, Honduras, México e Venezuela;	Brisse et al.	Através de análises de RAPD com 20 iniciadores e 22 loci de isozimas	Com as análises, propuseram a existência de seis grupos de <i>T. cruzi</i> , agora denominados DTU(s) para se definir uma coleção de cepas que sejam relacionadas geneticamente e, quando caracterizadas por marcadores moleculares comuns, sejam idênticas, onde: DTUI → corresponde à linhagem TcI; DTUII → corresponde à linhagem TcII; DTUIII e DTUIV → correspondente ao Zimodema III; DTUV e DTUVI → correspondente aos grupos híbridos.

Fonte: A autora.

QUADRO 2 - Resumo das classificações propostas para *T. cruzi*, ao longo do tempo

Ano do estudo/ proposição	Isolados utilizados	Autores	Metodologia	Resultados/ Classificação (conclusão)
2000 ²	93 cepas de parasitos do gênero <i>Trypanosoma</i> , incluindo <i>T. cruzi</i> , <i>T. rangeli</i> , <i>T. marinkellei</i>	Brisse et al.	Análises de RAPD com marcadores SCAR	As análises resultaram em padrões característico de cada uma das seis linhagens anteriormente propostas e diferentes entre si. Outro ponto observado foi a distinção entre as espécies de <i>Trypanosomas</i> analisadas, o que evidencia a sensibilidade da técnica. Além disso, com os novos marcadores de PCR é possível analisar as cepas filogeneticamente, tornando as ferramentas confiáveis para a identificação e caracterização dos isolados de <i>T. cruzi</i> ;
2008	Amostras representando cada uma das seis DTU(s) estabelecidas anteriormente por Brisse et al., (2000) oriundas de diversos países da América Latina	Freitas et al.	Análise do polimorfismo de comprimento dos fragmentos de restrição (RFLPs) da subunidade II do gene citocromo oxidase, de cada uma das DTU(s);	Propuseram a existência de um novo grupo, denominado TcIII, do qual fariam parte os três Haplogrupos mitocondriais, onde: HAPLÓTIPO A → com correspondência ao Zimodema I e rDNA linhagem II; HAPLÓTIPO B → com correspondência ao Zimodema III e demais híbridos; HAPLÓTIPO C → com correspondência ao Zimodema II e rDNA linhagem I;
2009		Zingales et al.	2º Consenso Taxonômico em <i>T. cruzi</i> ;	Em consenso, foi definido que a espécie <i>T. cruzi</i> se subdivide em seis DTU(s), numeradas de I a VI, de acordo com as análises biológicas e moleculares anteriormente definidas para cada uma
2018	Isolados de morcegos das regiões Central e Sudeste do Brasil	Marcili et al.	Caracterização provisória	O grupo de isolados dos morcegos, recebeu temporariamente o nome TcBat e aguarda melhor caracterização para definição final;

Fonte: A autora.

QUADRO 3 – Associações das DTU(s) de *T. cruzi* com seus ecótopos, reservatórios, vetores, localização geográfica e manifestação clínica da doença de Chagas

DTU	Ecótopo/Nicho	Reservatório silvestre	Vetor silvestre	Localização	Manifestação clínica da DC
TcI	1º: arbóreo, semi-arbóreo e buracos de árvores; 2º: árido, rochoso e terrestre ^b	Roedores arbóreose primatas Roedores terrestres	<i>Rhodnius</i> <i>Panstrongylus</i> <i>T. eratyus</i>	América do Sul, Centrale do Norte	Cardiomiopatia ^a
TcII	NCI	NCI, primatas da Mata Atlântica, didéideos e <i>Euphractus</i> (no Paraguai)	NCI (triatomíneos)	Cone Sul (esporádico ao norte)	Cardiomiopatia e megassíndromes;
TcIII	Terrestre e fossorial	<i>Dasybus</i> , <i>Chaetophractus</i> , <i>Euphractus</i> e <i>Monodelphis</i>	<i>P. geniculatus</i>	América do Sul	Apresentação clínica pouco conhecida com, embora raros, casos agudos na Amazônia brasileira;
TcIV	Arbóreos e, na América do Sul, alguns terrestres.	Primatas, <i>Nasua nasua</i> ;	<i>Rhodnius</i> <i>Panstrongylus</i> <i>Triatoma</i>	América do Sul	Causa secundária da DC na Venezuelae esporádica em outras localidades da América do Sul;
TcV	Raros nos ciclos silvestres	NCI, <i>Dasybus</i> , <i>Euphractus</i> , <i>Octodon</i> ;	NCI;	Cone Sul, região do Chaco e extremo Sul do Brasil;	Cardiomiopatia e megassíndromes;
TcVI	Raros nos ciclos silvestres	NCI	NCI	Cone Sul e região do Chaco	Cardiomiopatia, megassíndromes

Fonte: Adaptado de Zingales *et al.* The revised Trypanosoma cruzi subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. Infection, genetics and evolution: **Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases** 12: 240-253.

Notas: NCI: Não conhecido integralmente;

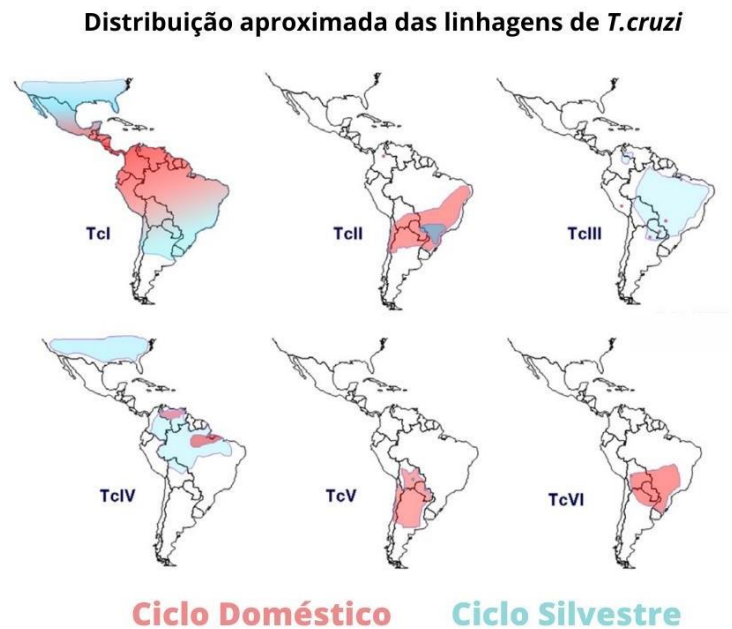
^a esporádica no Cone Sul, comum no norte da Amazônia;

^b terrestre apenas na Amazônia

Inicialmente, a DC era concentrada nas zonas rurais das regiões endêmicas, destacando sua prevalência em países como a Bolívia, Argentina, El Salvador, Honduras, Paraguai, Brasil e México (RASSI, *et al.*, 2010). Entretanto, com as mudanças ambientais, socioeconômicas e aumento da mobilidade populacional, é cada vez mais comum detectar a infecção em países não endêmicos, como Estados

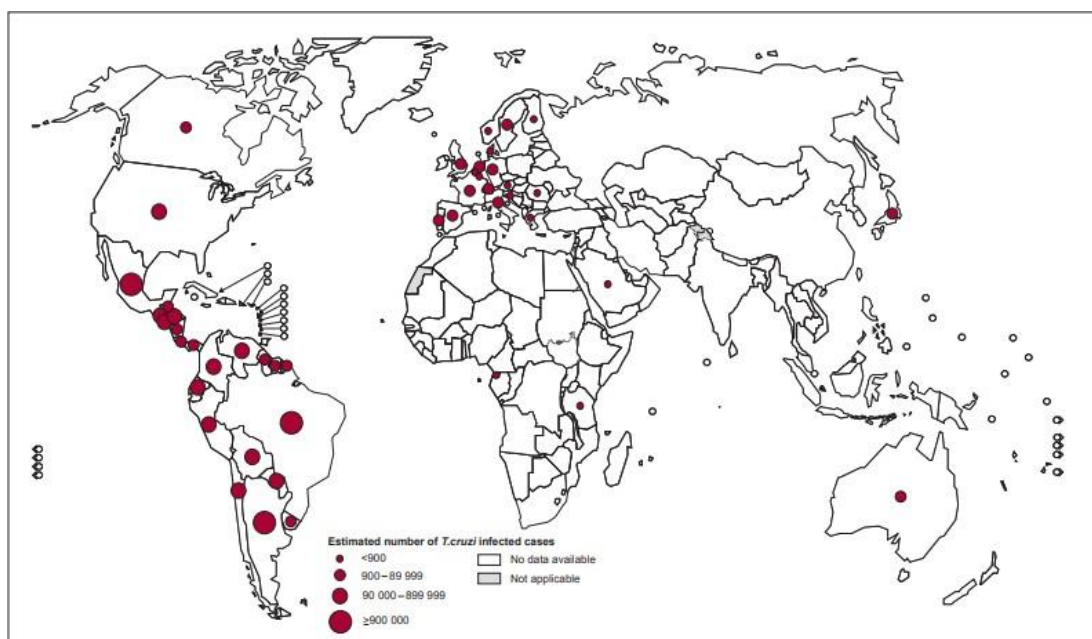
Unidos da América, Canadá, muitos países europeus como a Espanha e em alguns países da Ásia. Os fluxos migratórios internacionais, desenvolveram um papel fundamental na disseminação da infecção, tornando a DC um problema de saúde pública bastante abrangente (WHO, 2018).

FIGURA 1 - Distribuição geográfica aproximada das DTUs de *T. cruzi* nos ciclos de transmissão doméstico e silvestre – adaptado.



Fonte: Zingales *et al.* The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infection, genetics and evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* 12: 240-253.

FIGURA 2 - Distribuição global de casos de infecção por *Trypanosoma cruzi*. Mapa produzido com base nas estimativas oficiais.



Fonte: World Health Organization. **Chagas disease (American trypanosomiasis)**, 2018.

A DC está entre as vinte doenças tropicais conhecidas como “Doenças Negligenciadas”. Essa nomenclatura refere-se às doenças causadas por parasitas ou agentes infecciosos endêmicas de regiões pobres, cujos investimentos em pesquisas para o controle ou produção de medicamentos que combatam a enfermidade são, em geral, escassos. Estima-se que cerca de 70 milhões de pessoas residam em áreas de alto risco para a infecção pelo parasito e, aproximadamente, 8 milhões de pessoas são acometidas pela doença em todo o mundo (MARTINS-MELO, *et al*, 2018).

No Brasil, estima-se que em torno de 4,6 milhões de pessoas estejam infectadas com a doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). Infelizmente, dentro do conceito da negligência, o sistema de informações sobre os dados da DC também é muito falho. O último inquérito sorológico feito no país é da década de 1980 (CAMARGO *et al.*, 1984), desde então, as projeções utilizadas como parâmetros oficiais da doença são baseadas em meta análises ou deduções da Organização Pan Americana de Saúde. A discrepância entre essas estimativas, torna ainda mais difícil um planejamento eficiente para o enfrentamento da doença.

Além disso, apenas no ano de 2020 é que a DC crônica foi incluída na Lista

Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). Até então, apenas os casos agudos da DC eram de notificação compulsória, fazendo com que os inquéritos realizados para apuração geral da DC não contassem com um rastreio eficiente, impedindo que os dados reais de infectados no país fossem conhecidos e utilizados para desenvolver medidas que buscassem diminuir a disseminação da doença e implementação de políticas públicas de assistência ao paciente chagásico crônico (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

Com base em dados epidemiológicos, as formas de transmissão do *T. cruzi*, podem ser agrupadas em dois conjuntos distintos: 1) Formas primárias de transmissão: incluem-se transmissão vetorial, transfusão sanguínea, transmissão oral, e transmissão congênita ou via placentária; 2) Formas secundárias de transmissão: incluem-se as transmissões ocasionadas acidentalmente com objetos perfurocortantes, acidentes em laboratório e transplante de órgãos (COURA, 2007; PINTO *et al.*, 2008; COURA e DIAS, 2009).

Em humanos, a DC apresenta duas fases clínicas distintas: fase aguda e fase crônica. A fase aguda costuma ser caracterizada, de maneira geral, por sintomas leves, semelhantes aos apresentados durante uma infecção viral, como: febre prolongada, cefaleia, mal-estar, perda de apetite, e em alguns casos, um ligeiro aumento dos linfonodos. Essa similaridade sintomática faz com que os infectados, na maioria das vezes, não procurem atendimento médico, dificultando o tratamento. Embora as estimativas sejam inferiores a 1%, cabe ressaltar, que durante a fase aguda da DC podem ocorrer manifestações clínicas graves, envolvendo sintomas de insuficiência cardíaca grave e choque cardiogênico (DIAS *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2016).

A sintomatologia observada é dependente de diversos fatores, como grau de resposta imunológica do hospedeiro, intensidade da infecção e forma de contágio. Quando a infecção ocorre pela via vetorial, através da picada do inseto vetor, é comum verificar o chagoma de inoculação (lesão na pele semelhante a um furúnculo, mas que não supura) ou o sinal de Romanã (edema bipalpebral unilateral, decorrente da invasão do parasita pelas mucosa ocular). A regressão do chagoma é lenta e pode persistir por até dois meses (DIAS *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2016; SIMÕES *et al.*, 2018).

Um dos desafios encontrados para o diagnóstico da DC na fase aguda é que a diversidade de sintomas iniciais, quando existentes, como febre, dores de cabeça, fraqueza, vômitos, são facilmente confundidos com outras doenças infecciosas de menor grau de severidade, fazendo com que o paciente não seja submetido ao tratamento indicado, na tentativa de impedir que a infecção avance para a fase crônica (DIAS *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2016).

A infecção progride para a fase crônica na ausência do tratamento e, em alguns casos, até mesmo com tratamento após algumas semanas do contato inicial com o parasito, permanecendo enquanto o infectado viver. Os pacientes com DC na fase crônica podem se apresentar assintomáticos durante décadas (GIRONÈS *et al.*, 2005; ZREIN *et al.*, 2018). Cerca de 20 a 30 anos após a infecção inicial, aproximadamente 30% dos pacientes assintomáticos evoluem para a forma sintomática, que pode desencadear disfunções em diversos órgãos. Ao atingir essa fase da infecção, a DC pode se apresentar nas formas cardíaca, digestiva ou cardiodigestiva, podendo fazer com que o paciente desenvolva as “megassíndromes” e necessite de intenso tratamento clínico para manutenção da vida (GIRONÈS *et al.*, 2005; CRUZ *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2016). A figura 2 apresenta um resumo do desenvolvimento da doença de Chagas.

Infelizmente, não há um medicamento que, efetivamente, cure os pacientes portadores de DC. Até o momento, dois compostos terapêuticos principais são indicados para o tratamento da infecção chagásica: benzonidazol (Bz) e nifurtimox. Apenas o Bz é liberado para uso no Brasil, sendo produzido pelo Laboratório Farmacêutico de Pernambuco (LAFEPE), na cidade de Recife. Sua atividade tripanocida se dá através da produção de radicais livres no organismo do indivíduo que são ativados por meio de enzimas do tipo nitroredutases, presentes nos protozoários. Ocorrendo a redução do grupo nitro presente na molécula, conseqüentemente, há formação dos radicais nitroaniônicos, que são os responsáveis pela atividade anti-parasitária no momento em que estabelecem ligações covalentes com os ácidos nucléicos e proteínas do parasito (CANÇADO, *et al.*, 1964; DÍAZ-TORANZO *et al.*, 1988; GUEDES *et al.*, 2006).

Mesmo sendo considerado o fármaco de primeira escolha para o tratamento da DC, no Brasil e em diversos outros países e, ainda que sua utilização clínica seja considerada segura (CANÇADO, 2002), vários estudos apontam efeitos colaterais atribuídos ao Bz que podem interromper o tratamento, como dermatopatia

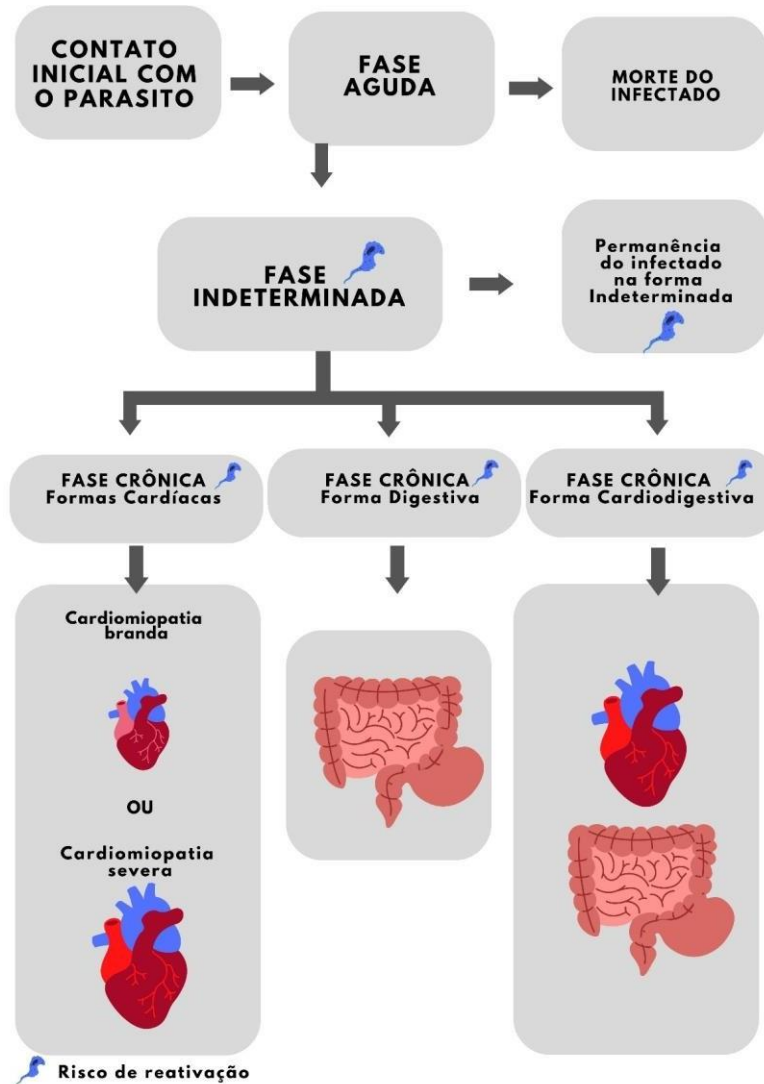
alérgica, erupções cutâneas, edemas generalizados, distúrbios gastrointestinais, linfadenopatia, artralgia, cefaleia, neuropatia periférica (parestesia ou leves tremores das mãos). Efeitos como a depressão da medula óssea (púrpura trombocitopênica, agranulocitose e neutropenia) embora raros, também foram observados (VIOTTI *et al.*, 1994; ANDRADE *et al.*, 2004; GARCIA *et al.*, 2005; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005; GONTIJO *et al.*, 2009).

Apesar dos possíveis efeitos colaterais ou baixa eficácia do medicamento, quando são considerados os riscos dos eventos cardíacos deletérios e da morte súbita, que podem ocorrer com os infectados, o tratamento com Bz ainda se apresenta como a melhor opção e se faz importante na prevenção da progressão dos sintomas e eventos mais graves (ANDRADE *et al.*, 2004).

Adicionalmente, ensaios clínicos realizados com crianças e adolescentes, mostram evidências de sucesso na quimioterapia com o Bz, durante a fase aguda da doença (SOSA-ESTANI, 1988). Os índices de cura parasitológica em crianças tratadas com o tripanocida, em ensaios realizados na Argentina e no Brasil, variaram entre 62 e 87% (DE ANDRADE *et al.*, 1996; SOSA-ESTANI, 1988; SILVEIRA *et al.*, 2000). Ensaios

com pacientes de outras faixas etárias também foram realizados durante a fase aguda da infecção da DC e os índices observados de cura parasitológica variaram entre 40 e 76%, sendo a cura definida pela negativação da sorologia e de testes parasitológicos (SHIKANAI-YASUDA, *et al.*, 1990; ANDRADE *et al.*, 1992; BAHIA-OLIVEIRA, 2000; CANÇADO *et al.*, 2002).

FIGURA 3. Esquema representativo da evolução da doença de Chagas.



Fonte: A autora.

Desta forma, pode-se concluir que o tratamento de pacientes chagásicos com o Bz, em ambas as fases da doença e em diferentes faixas etárias, tem demonstrado efeitos distintos, principalmente quando se comparam os resultados dos estudos realizados em diferentes áreas geográficas. Segundo Andrade *et al.* (1992) um dos fatores que pode contribuir para a discrepância nos resultados do tratamento com fármacos tripanocidas, pode estar relacionado ao genótipo de *T. cruzi* pelo qual o paciente está infectado.

Como já mencionado, a heterogeneidade das cepas de *T. cruzi* tem uma relação direta no comportamento do parasito e, segundo Andrade *et al.* (1992), as diferentes respostas ao tratamento com drogas tripanocidas também podem ter

relação com essa heterogeneidade.

Para complementar esses conhecimentos, Vela *et al.* (2021) realizaram uma revisão sistemática, buscando informações que associassem o efeito *in vitro* do Bz em diferentes DTUs e concluíram que a suscetibilidade ao fármaco é distinta entre as cepas investigadas não tendo um padrão relacional entre a DTU e a resposta ao tratamento com Bz.

1.2 A Revisão Sistemática

Nesse contexto, buscando ampliar as respostas das diferentes linhagens genéticas de *T. cruzi*, frente ao tratamento com Bz *in vivo*, realizamos uma revisão sistemática de literatura, com base nas recomendações orientadas pela Cochrane Collaboration (HIGGINS, GREEN, 2005). Esse tipo de estudo visa disponibilizar um resumo das evidências relacionadas ao objeto de pesquisa, bem como, uma estratégia de intervenção rigorosa, mediante a aplicação dos métodos pesquisados e sistematizados na busca.

As etapas básicas que devem constituir o processo de elaboração da revisão sistemática, são resumidas no quadro 4.

As revisões sistemáticas são úteis para integrar as informações de um conjunto de estudos realizados separadamente sobre determinado assunto, processo terapêutico ou intervenção, que possam apresentar resultados coincidentes e/ou conflitantes, além de identificar as lacunas temáticas que necessitam de evidências, auxiliando pesquisadores orientando-os para possíveis novas investigações (LINDE; WILLICH, 2003).

Desse modo, a proposta do presente trabalho é reunir informações que possam servir de base para ampliar a compreensão acerca dos resultados discrepantes observados no tratamento da DC com benzonidazol. Assim, a busca por evidências que correlacionem as linhagens moleculares do *T. cruzi* à suscetibilidade ao fármaco, pode fornecer um padrão de desfecho esperado ao tratamento instituído.

QUADRO 4. Etapas da criação das revisões sistemáticas, segundo a Cochrane. São Paulo, 2007.

Etapa	Descrição
1ª	Formulação do Problema / Pergunta da busca
2ª	Localização e seleção das publicações
3ª	Avaliação da qualidade das publicações
4ª	Coleta de Dados
5ª	Análise e apresentação dos resultados
6ª	Interpretação dos resultados
7ª	Aperfeiçoamento e atualização

Fonte: A autora.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Relacionar a suscetibilidade de Unidades Discretas de Tipagem de *Trypanosoma cruzi* ao benzonidazol.

2.2 Objetivos Específicos

- I) Identificar, nos estudos incluídos na revisão, as DTUs mais frequentemente suscetíveis ao tratamento experimental *in vivo* com benzonidazol;
- II) Apontar as lacunas presentes na literatura para indicar as próximas perguntas de pesquisa para trabalhos primários.

3 METODOLOGIA E ESTRATÉGIA DE AÇÃO

3.1 Tipo de Estudo

Trata-se de uma revisão sistemática de literatura, da mesma forma como qualquer outra investigação científica, requer uma pergunta clara e formulada de modo sistemático, funcionando como uma bússola norteadora da pesquisa, da determinação dos critérios de inclusão/exclusão, bem como do método de condução da revisão e da organização lógica dos resultados obtidos (FLEMMING, 19998; STONE, 2002; NEEDLEMAN, 2002).

Segundo Richardson (1995), há quatro componentes principais para a formulação de uma pergunta de pesquisa, sintetizados na sigla PICO, onde, P corresponde a descrições gerais da doença, da população em investigação, ou ainda, a definição da condição primordial de interesse na pesquisa. Ao I atribui-se a descrição do que está sendo realizado com a população/paciente/participantes; o C está relacionado com a descrição dos critérios que serão utilizados na avaliação da efetividade da intervenção e o O refere-se ao desfecho da pesquisa, ou seja, a resposta encontrada.

Para Bernardo (2004), a estratégia PICO para elaboração da pergunta pode e deve ser adaptada ao assunto em questão, sendo em síntese constituída por: P=participante, I=intervenção, C= controle, e O (do inglês *outcome*)= desfecho. Orienta-se, ainda, a utilização de no mínimo dois desses componentes para a criação da pergunta da pesquisa.

Seguindo criteriosamente as recomendações, a pergunta elaborada para a busca bibliográfica foi: “Quais DTUs de *Trypanosoma cruzi* são mais suscetíveis ao tratamento com benzonidazol”? Tal pergunta possibilitou a busca de respostas aos objetivos propostos. Sendo definida com base na estratégia PICO, onde a população (P) estudada foi a espécie *Trypanosoma cruzi*, cuja intervenção (I) foi o tratamento com benzonidazol no modelo *in vivo* e o controle (C) negativo foi a não utilização do benzonidazol. Como desfecho (O), espera-se encontrar, ou não, a relação entre as diferentes linhagens do parasito com a suscetibilidade ao fármaco em questão. A figura 4 ilustra a adaptação da estratégia PICO, realizada pelos autores, utilizada para a elaboração da presente pesquisa.

FIGURA 4. Esquema ilustrativo da adaptação utilizada para a estratégia PICO, na realização da Revisão Sistemática .



Fonte: A autora.

3.2 Produção dos Testes de Relevância

Feita a escolha do problema, definição dos objetivos da pesquisa e a formulação da pergunta, foram elaborados os testes de relevância (1 e 2) que aportam indagações sobre tema, método, ano de publicação e idioma publicado, visando filtrar os artigos pesquisados. O primeiro teste, Teste de Relevância 1 (TR1), foi aplicado ao resumo dos artigos encontrados (APÊNDICE A). Nele eram inseridas as informações sobre a base de dados pesquisada e a classificação segundo a ordem de encontro dos documentos e, além da referência bibliográfica, perguntas específicas ao tema pesquisado. O TR1 possibilitou ao pesquisador/avaliador incluir ou não o artigo na próxima fase de análise. Uma vez selecionados pelo TR1, os artigos foram lidos na íntegra e posteriormente submetidos ao segundo teste, o Teste de Relevância 2 (TR2) (APÊNDICE B). Nesse teste eram inseridas informações sobre a base de dados pesquisada e a classificação segundo a ordem de pesquisa e, além da referência bibliográfica, perguntas específicas ao tema pesquisado, incluindo ou não o referido artigo na pesquisa.

3.3 Fontes de Dados

As buscas dos materiais ocorreram apenas em ambiente online nas bases de dados contempladas pelo Portal de Periódicos Capes, que incluem: Web of Science, Scopus, Lilacs, Pubmed e SciELO. O Portal de Periódicos CAPES, foi criado no ano 2000 e tem como objetivo a democratização do acesso ao conhecimento científico, buscando reduzir as desigualdades regionais no acesso à ciência. A versão lançada em 2009 se destaca por ser uma ferramenta que permite uma busca integrada, permitindo uma consulta simultânea às várias coleções que fazem parte do acervo, fornecendo acesso direto aos textos buscados (CAPES, 2010).

3.4 Escolha de *strings* de busca e critérios de elegibilidade dos artigos

Em consenso, as pesquisadoras optaram pelos *strings* de busca: (A) “*strains*” (B) “*Trypanosoma cruzi*”, (C) “*benznidazole*”, (D) “*in vivo*” (E) “*clinical*”, com a seguinte combinação: “*strains and Trypanosoma cruzi and benznidazole and in vivo or clinical*”, além disso o qualificador “epidemiologia” foi coadjuvante em todas as combinações citadas.

Em complemento, foram aplicados os seguintes filtros de pesquisa:

- a) Anos: entre 1990 e 2022;
- b) Idiomas: inglês, português e espanhol;
- c) Artigos de acesso aberto e somente em periódicos revisados por pares.

Os artigos incluídos no estudo atenderam os seguintes critérios:

- a) Atendimento aos filtros acima descritos;
- b) Avaliaram a taxa de eficiência do benzonidazol em cepas de *T. cruzi*;
- c) Estudos experimentais realizados *in vivo* e/ou estudos clínicos.

Da mesma forma, os artigos que foram excluídos da pesquisa, apresentavam alguma das limitações abaixo:

- a) Artigos não disponibilizados na íntegra;
- b) Artigos de ensaios realizados exclusivamente *in vitro*;
- c) Artigos que não fizeram menção ao tratamento com o fármaco Bz;
- d) Artigos com limitações metodológicas que impedissem a análise da

eficiência do Bzem cepas do parasito.

3.5 Análise dos resumos

Foram considerados para a análise artigos originais, oficiais nos idiomas português, inglês e espanhol, todos submetidos ao TR1. A triagem dos resumos selecionados ocorreu de forma independente por dois avaliadores (B.J.M e L.M.Z.P) e as divergências foram resolvidas por um terceiro avaliador (I.E).

3.6 Análise dos artigos na íntegra

Todos os artigos que atenderam aos critérios estabelecidos no TR1, que estavam disponíveis diretamente através do Portal de Periódicos Capes foram analisados na íntegra. Após análise, foram submetidos ao TR2.

Os artigos na íntegra, tais como os resumos, foram selecionados de forma independente por dois avaliadores (B.J.M e L.M.Z.P) e as divergências foram resolvidas por um terceiro avaliador (I.E).

3.7 Coleta de Dados

Para extrair as informações dos artigos que fossem aprovados pelo TR2, foi utilizado um roteiro que levou em conta o objetivo do artigo, o tipo de estudo, os procedimentos metodológicos e os resultados encontrados (APÊNDICE C).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca bibliográfica resultou na identificação de 407 artigos pelo avaliador 1 e 399 artigos pelo avaliador 2. Fez-se a pesquisa em outras datas e a discrepância entre o número de artigos permaneceu igual, mesmo quando utilizados os mesmos filtros de busca, por ambos os avaliadores. O motivo da incompatibilidade do número de artigos inicialmente encontrados não foi esclarecido, mas presume-se que se deva a algum dispositivo de monitoramento de tráfego em alguma das redes de internet utilizadas na busca.

Optou-se pela leitura do número de artigos localizados pelo avaliador 1, onde constavam, além dos 399 artigos localizados pelo avaliador 2, oito artigos extras. Não foram obtidos artigos em duplicidade, visto que a plataforma é unificada e automaticamente mostra ao pesquisador apenas um exemplar de cada artigo, independentemente de seu aparecimento em mais de uma base de dados contempladas pelo Portal.

Dentre os 407 artigos selecionados na fase de identificação e triagem, 383 foram excluídos da pesquisa, por não estar em concordância com os termos estabelecidos, conforme a figura 5.

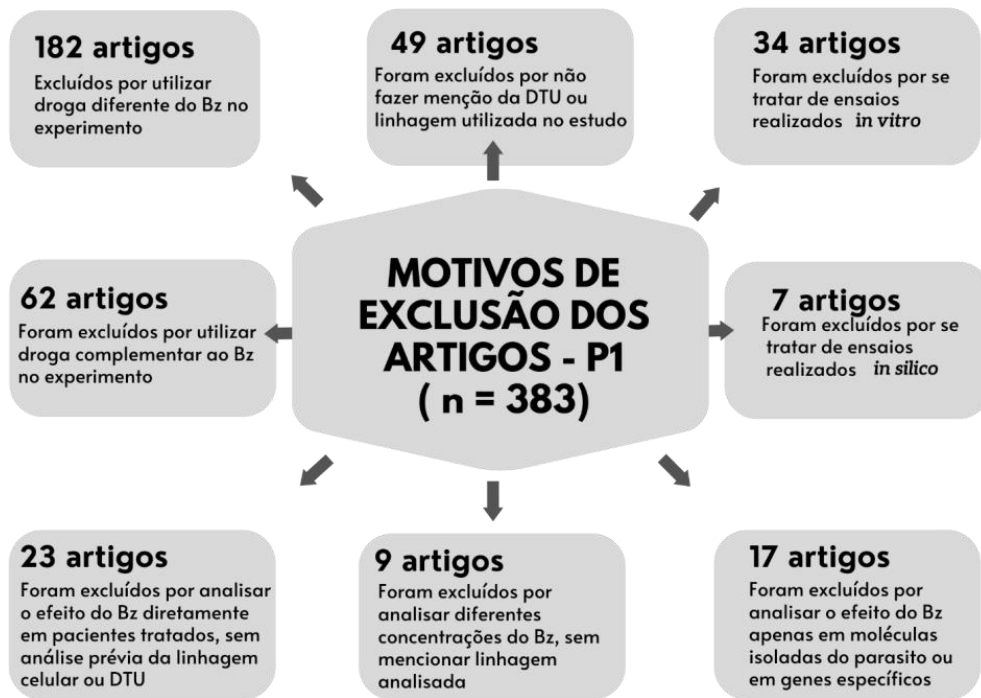
Dos 28 artigos selecionados na fase de elegibilidade, 4 não estavam disponíveis para leitura na íntegra e 15 não atendiam aos critérios estabelecidos no TR2, sendo, portanto, excluídos da pesquisa, conforme justificativas no quadro 5.

Após a triagem restaram, então, nove artigos para análise, extração de dados e descrição dos resultados obtidos. Um resumo das fases da Revisão Sistemática, encontra-se no fluxograma apresentado na figura 6.

Após criteriosa leitura dos artigos selecionados na fase de inclusão, verificou-se que apenas um artigo mantinha relação direta com a temática proposta. Apesar disso, por consenso entre os pesquisadores, todos os 9 artigos foram criteriosamente examinados e deles extraídas informações relevantes que permitiram analisar a relação entre o efeito do fármaco Bz em linhagens distintas de *T. cruzi* (QUADRO 6).

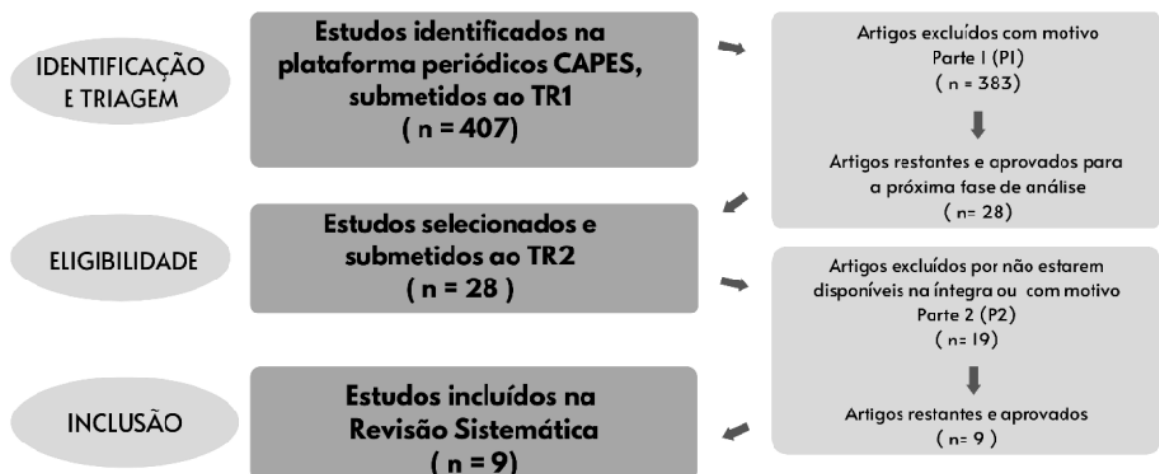
Assim, os estudos selecionados, obedecendo à estratégia proposta, compuseram esta revisão sistemática de literatura.

FIGURA 5. Esquema ilustrativo dos motivos utilizados para exclusão de artigos, durante a primeira triagem, ou seja, aplicação do TR1



Fonte: A autora.

FIGURA 6. Fluxograma ilustrativo do planejamento e execução da presente Revisão Sistemática



Fonte: A autora.

QUADRO 5. Resumo dos artigos excluídos quando submetidos ao TR2 e os motivos da exclusão

Ano de publicação	Título do artigo	Autor	Motivo da exclusão
2003	<i>Trypanosoma cruzi</i> : Genetic Group with Peculiar Biochemical and Biological Behavior	Gomes et al.	Não faz a inclusão das cepas em nenhuma classificação de linhagem;
2008	<i>Trypanosoma cruzi</i> : Induction of benzimidazole resistance in vivo and its modulation by in vitro culturing and mice infection	Santos et al.	Resistência ao Bz induzida;
2009	Caracterización biológica de aislados mexicanos de <i>Trypanosoma cruzi</i> : metacicloogénesis, parasitemia y resistencia contra benzimidazol	Monteón et al.	Análises <i>in vitro</i> ;
2010	Current and developing therapeutic agents in the treatment of Chagas disease	Apt W.	Trata-se de uma revisão sobre novas drogas para DC;
2011	Gene expression study using real-time PCR identifies an NTR gene as a major marker of resistance to benzimidazole in <i>Trypanosoma cruzi</i>	Mejia-Jaramillo et al.	Não analisa a suscetibilidade de linhagens de <i>T. cruzi</i> ;
2011	Molecular characterization of <i>Trypanosoma cruzi</i> Mexican strains and their behavior in the mouse experimental model	Gómez-Hernandez et al.	Não apresenta análises de resistência ao Bz;
2011	<i>Trypanosoma cruzi</i> : in vivo evaluation of iron in skin employing X-ray fluorescence (XRF) in mouse strains that differ in their susceptibility to infection	Estevam et al.	Analisa apenas a disponibilidade de Ferro;
2012	Differential Trypanocidal Activity of Novel Macrolide Antibiotics; Correlation to Genetic Lineage	Aquino et al.	Análises <i>in vitro</i> ;
2012	Trypanocidal activity of genotoxic concentration of benzimidazole on epimastigote forms of <i>Trypanosoma cruzi</i>	Kaneshima et al.	Análises <i>in vitro</i> ;
2012	The level of ascorbate peroxidase is enhanced in benzimidazole-resistant populations of <i>Trypanosoma cruzi</i> and its expression is modulated by stress generated by hydrogen peroxide	Nogueira et al.	Análises moleculares;
2017	<i>Trypanosoma cruzi</i> I genotype among isolates from patients with chronic Chagas disease followed at the Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (FIOCRUZ, Brazil)	Oliveira et al.	Não faz referência ao Bz;
2018	Phenotypic diversity and drug susceptibility of <i>Trypanosoma cruzi</i> TcV clinical isolates	Quebrada Palácio et al.	Análises <i>in vitro</i> ;
2018	Upregulation of Cardiac IL-10 and Downregulation of IFN- γ in Balb/c IL-4 ^{-/-} in Acute Chagasic Myocarditis due to Colombian Strain of <i>Trypanosoma cruzi</i>	Silva et al.	Não faz comparações da suscetibilidade ao Bz;

Fonte: A autora.

QUADRO 6 - Resumo dos artigos utilizados para a construção da presente Revisão Sistemática

(continua)

Ano de publicação	Título do artigo	Autores	Revista	Objetivo do estudo	Conclusão
2003	<i>Trypanosoma cruzi</i> : susceptibility to chemotherapy with benznidazole of clones isolated from the highly resistant Colombian strain	Camandaroba et al., 2003.	Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical	Avaliar a suscetibilidade de isolados de cepas Colombianas ao Bz, pertencentes ao Biodema III, atual DTU I	Pelos resultados obtidos a DTU I parece ter um perfil resistente ao Bz. Cabe ressaltar que apenas uma amostra (CI- Col-C3), das sete analisadas, apresentou perfil de cura em 16,7%. As demais amostras tiveram seu percentual de cura em 0%.
2003	Chemotherapy with benznidazole and itraconazole for mice infected with different <i>Trypanosoma cruzi</i> clonal genotypes	Toledo et al., 2003.	Antimicrobial Agents and Chemotherapy	Avaliar a suscetibilidade dos genótipos 19 e 20, pertencentes à DTU I e dos genótipos 39 e 32, pertencentes à DTU II, ao Bz.	As taxas de cura para animais infectados com a DTU I foram de 25% (fase aguda da infecção) e 22% (fase crônica da infecção). Considerada pelos autores a DTU I, portanto, resistente ao Bz; As taxas de cura para os animais infectados para a DTU II foram de 66,67% (fase aguda da infecção) e 62,75% (fase crônica da infecção). Considerando a DTU II, portanto, suscetível ao Bz.
2004	Effects of specific treatment on parasitological and histopathological parameters in mice infected with different <i>Trypanosoma cruzi</i> clonal genotypes	Toledo et al., 2004.	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	-	O artigo em questão faz parte da pesquisa de Toledo et al. (2003), ou seja, os resultados são os mesmos. O artigo foi selecionado por fazer menção aos dados procurados pelo grupo de pesquisa e somente após análise específica é que foi percebido que se tratava do mesmo experimento, no que diz respeito à suscetibilidade das linhagens ao Bz.

Fonte: A autora.

QUADRO 6 - Resumo dos artigos utilizados para a construção da presente Revisão Sistemática

(continua)

Ano de publicação	Título do artigo	Autores	Revista	Objetivo do estudo	Conclusão
2005	Response to chemotherapy with benznidazole of clones isolated from the 21SF strain of <i>Trypanosoma cruzi</i> (biome Type II, <i>Trypanosoma cruzi</i> II)	Campos et al., 2005	Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical	Avaliar a suscetibilidade ao Bz de 5 clones isolados de uma cepa pertencente à DTU II e a cepa parental, em camundongos infectados por elas.	As taxas de cura foram variáveis: → 25% de cura para os camundongos infectados pela cepa parental; → 100% de cura para os camundongos infectados com 2 dos 5 clones (C3 e C4); → 65% de cura para os camundongos infectados por 1 dos clones (C1); → 60% de cura para os camundongos infectados por 1 dos clones (C2); → 30% de cura para os camundongos infectados por 1 dos clones (C5);
2007	In vitro and in vivo trypanocidal activity of the ethyl esters of N-allyl and N-propyl oxamates using different <i>Trypanosoma cruzi</i> strains	Aguirre-Alvarado et al., 2007.	Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry		Não foram obtidos dados que pudessem correlacionar as cepas isoladas no artigo com as DTUs em voga;
2013	In vivo susceptibility to benznidazole of <i>Trypanosoma cruzi</i> strains from the western Brazilian Amazon	Teston et al., 2013.	Tropical Medicine and International Health	Avaliar a suscetibilidade das cepas classificadas como TcI, TcII e TcIV ao Bz, de diferentes hospedeiros e regiões geográficas;	As taxas de cura foram variáveis entre as DTUs e entre as linhagens de uma mesma DTU, onde: TcI (6 amostras) → Taxa de cura entre 30 e 100%; TcII (4 amostras) → Taxa de cura entre 27,3 e 100%; TcIV (13 amostras) → Taxa de cura entre 28,6 e 100%;

Fonte: A autora.

QUADRO 6 - Resumo dos artigos utilizados para a construção da presente Revisão Sistemática

(conclusão)

Ano de publicação	Título do artigo	Autores	Revista	Objetivo do estudo	Conclusão
2015	Acute chagas outbreaks: molecular and biological features of Trypanosoma cruzi isolates, and clinical aspects of acute cases in Santander, Colombia	Diaz et al., 2015.	Parasites & Vectors	Analisar diferentes aspectos dos isolados de uma região da Colômbia, todos pertencentes à DTU TcI, incluindo a suscetibilidade ao Bz;	Em resposta ao tratamento com Bz, as cepas, embora pertencentes à mesma DTU, tiveram um padrão bem difuso de suscetibilidade entre elas;
2015	Experimental benznidazole treatment of Trypanosoma cruzi II strains isolated from children of the Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil, with Chagas disease	Oliveira-Silva et al., 2015	Memórias do Instituto Oswaldo Cruz	Avaliar a eficácia do Bz, nas fases aguda e crônica da DC, em camundongos infectados com as cepas pertencentes à DTU TcII;	A taxa de cura entre os animais, durante a fase aguda da doença foi de 37,5%, enquanto na fase crônica, não existiram animais considerados curados, o que faz a suscetibilidade ao fármaco ser de 0%;
2018	Response to different benznidazole doses in animal models of chronic phase Chagas disease: a critical review	Scarin et al., 2018.	Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical		O artigo de revisão apresentava a correlação da eficácia do Bz com as doses utilizadas nos modelos, não sendo específico com as linhagens utilizadas na pesquisa;

Fonte: A autora.

Desde a descrição inicial da DC, a amplitude apresentada pelo *T. cruzi*, seja em relação aos seus hospedeiros, sua distribuição geográfica ou seus estágios de desenvolvimento, sempre foi alvo de diversos trabalhos científicos, na tentativa de desenvolver meios eficazes para combater a infecção chagásica.

No entanto, a observação da heterogeneidade intraespecífica do parasito, principalmente após o avanço das técnicas de análises moleculares, vem sendo, para muitos autores, o motivo central das hipóteses desenvolvidas como forma de explicar a pluralidade comportamental da infecção chagásica, sejam elas relacionadas a patogenicidade, virulência ou resposta a tratamentos.

Em uma revisão realizada por Cunha *et al.* (2022), foi possível associar a distribuição das DTUs de *T. cruzi* às regiões geográficas do Brasil. Estabeleceu-se então, uma correlação significativa da prevalência de linhagens do parasito, em determinadas regiões do país.

Pôde-se, ainda, estabelecer que as linhagens pertencentes às DTUs TCIII e TCIV possuem sua distribuição correlacionada ao ciclo silvestre do parasito (BRENIERE *et al.*, 2016; ZINGALES *et al.*, 2018) e, que a DTU TCII é mais frequentemente observada nas infecções humanas relatadas no Brasil (BRENIERE *et al.* 2016).

O presente trabalho, procurou informações que pudessem correlacionar a resposta ao tratamento com Bz às DTUs de *T. cruzi*. Entretanto, conforme os resultados obtidos, muitas contradições são observadas nas pesquisas realizadas com essa finalidade.

O conceito de DTU, em si, é estabelecido para catalogar a coleção de cepas do parasito, que estão geneticamente relacionadas. Essa classificação consensual é um ponto de partida bastante razoável para explorar a variabilidade genética de *T. cruzi*, bem como, as características de suas populações.

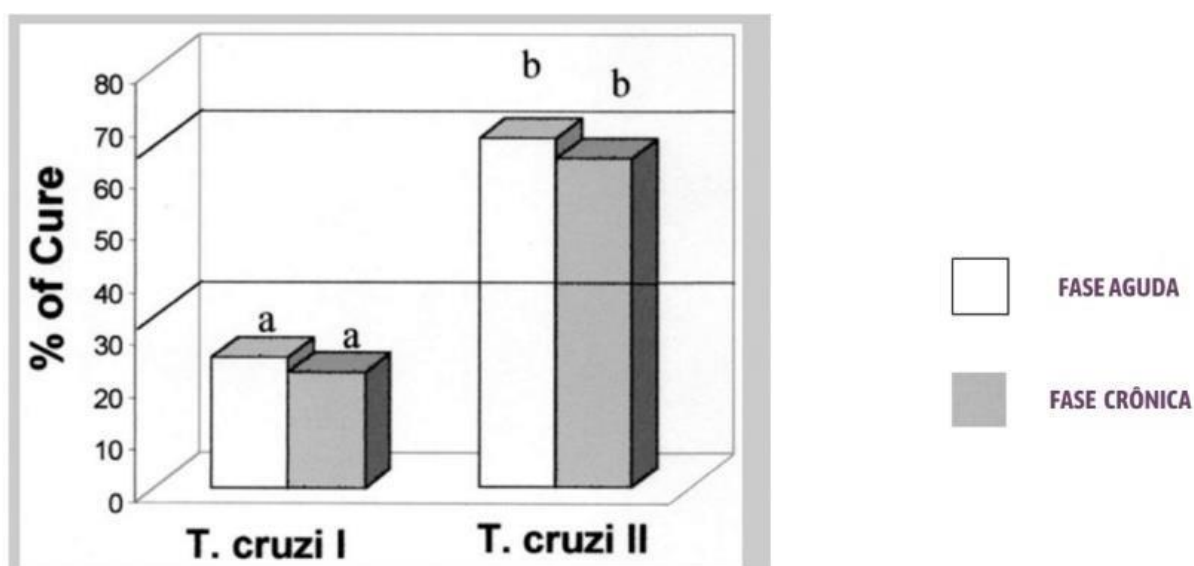
Entretanto, é difícil correlacionar um padrão comportamental da suscetibilidade do *T. cruzi* ao Bz, com base apenas na classificação da DTU do parasito. Primeiramente, porque não há na literatura trabalhos suficientes que abordem os representantes de cada DTU e suas respectivas respostas ao fármaco. Em segundo lugar, nos poucos estudos disponíveis, observa-se uma variação das taxas de suscetibilidade ao fármaco, que são dependentes, da fase do ciclo de vida que se encontra o parasito, até quando analisada uma mesma linhagem genotípica.

Outro ponto a ser mencionado é que uma mesma DTU pode alojar mais que um genótipo e os genótipos, por sua vez, são formados por diferentes subpopulações de *T. cruzi*. As diferenças fenotípicas dessas subpopulações, oriundas de pressão seletiva, entre outros fatores, faz com que elas, apesar de apresentarem as mesmas características moleculares, possam apresentar comportamento bastante distinto entre si.

Como exemplo, podemos citar o trabalho realizado por Toledo (2003). Os autores analisaram a suscetibilidade ao Bz de isolados, pertencentes às DTUs TCI e TCII. Os parasitos pertencentes à DTU TCI eram estoques de dois genótipos – genótipos 19 e 20 – enquanto os pertencentes à DTU TCII se referiam aos genótipos 32 e 39.

A partir do ponto de vista da classificação geral, ou seja, a DTU em questão, pode-se perceber uma semelhança nos resultados obtidos, com base nos percentuais de cura entre os genótipos pertencentes às suas respectivas DTUs, seja durante a fase aguda ou fase crônica da DC, conforme ilustra a figura 7. A porcentagem de curados isolados dos dois genótipos pertencentes à TCI, ficou entre 20% e 30%. Enquanto os isolados dos dois genótipos pertencentes à TCII, tiveram um percentual de cura entre 60% e 70%.

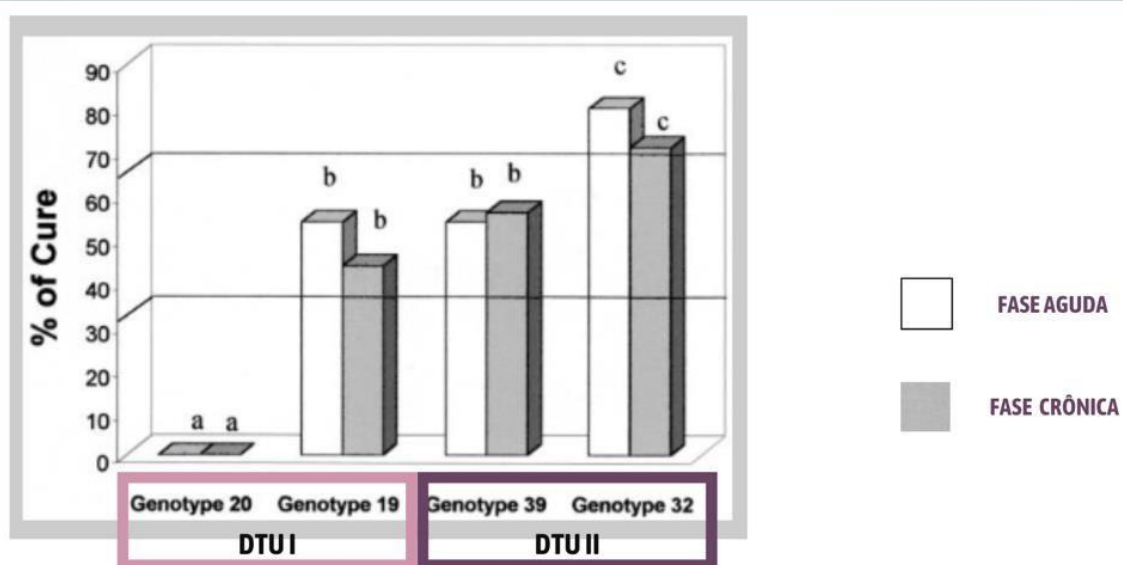
FIGURA 7. Gráfico ilustrando a porcentagem de cura observada em camundongos infectados com *T. cruzi* submetidos ao tratamento com Bz, em experimento realizado.



Fonte: Adaptado de Toledo et al., 2003. . Chemotherapy with benznidazole and itraconazole for mice infected with different *Trypanosoma cruzi* clonal genotypes. **Antimicrob Agents Chemother** 47: 223-230.

Entretanto, ao ampliarmos as análises e observarmos isoladamente os resultados demonstrados por cada um dos genótipos, percebemos que a resposta ao tratamento varia muito entre os isolados pertencentes a uma mesma DTU, conforme a figura 8. Os isolados pertencentes ao genótipo 20 são claramente resistentes ao Bz, em ambas as fases da doença, enquanto o genótipo 19, possui um percentual de cura que varia entre 40% e 60%, dependendo da fase da doença. Há, inclusive, maior semelhança entre os resultados dos genótipos 19 e 39, que pertencem à DTUs diferentes, do que entre os resultados dos genótipos 19 e 20, que fazem parte da mesma DTU.

FIGURA 8. Gráfico ilustrando a porcentagem de cura observada em camundongos infectados com *T. cruzi*, quando submetidos ao tratamento com Bz em experimento realizado (observação do comportamento dos genótipos 20 e 19, que são classificados como DTU I e genótipos 39 e 32, classificados como DTU II)



Fonte: Adaptado de Toledo et al., 2003. . Chemotherapy with benznidazole and itraconazole for mice infected with different *Trypanosoma cruzi* clonal genotypes. **Antimicrob Agents Chemother** 47: 223-230.

Com o intuito de obter soluções que possam auxiliar no tratamento dos pacientes chagásicos, bem como, de investigar as possíveis causas para resultados tão incongruentes no tratamento com Bz, como o observado anteriormente, diversos pesquisadores têm se empenhado para levantar hipóteses que possam servir de base e responder todas essas questões.

Segundo Romanha et al. (2010), essas contradições podem residir na falta

de um método padrão para realizar tais estudos. Para os ensaios *in vivo*, seria de extrema valia estabelecer um protocolo padrão para ser utilizado durante todo o processo do estudo, desde a montagem até a finalização do experimento. Desse modo, quaisquer resultados obtidos em uma determinada fase do ensaio, poderiam ser facilmente comparados com os obtidos por outros pesquisadores na mesma etapa do processo.

Esses padrões deveriam incluir a saúde dos animais, bem como, sua manutenção, padrões de higiene, padrões alimentares, peso e sexo dos modelos utilizados (ROMANHA et al., 2010). Os autores sugeriram que houvesse uma sequência de ensaios que permitisse, primeiramente, avaliar a eficácia do fármaco na redução da parasitemia, seguido pela cura do animal infectado (ROMANHA et al., 2010). Afinal, um fármaco que providencie a redução da carga parasitária, mas que em seguida leve o infectado à morte, não é eficiente.

Outro fator apontado como possível motivo da discrepância nos resultados obtidos é o estado geral do organismo do hospedeiro, uma vez que a infecção pelo parasito induz as respostas humoral e celular (BRENER & GAZZINELLI, 1997). Essas respostas são essenciais para reduzir a carga parasitária durante a infecção, entretanto, além de contribuir para o agravamento dos sintomas clínicos do infectado, podem interferir diretamente na metabolização do Bz, tornando a investigação dos eventos envolvidos no tratamento com o fármaco imprescindível (PERIN, 2017).

Além das estratégias de subversão do sistema imune do hospedeiro, naturalmente empregadas pelo *T. cruzi*, existem outros fatores que podem estar relacionados as diferentes respostas ao tratamento com o fármaco. Conforme já descrito por Andrade e Magalhães (1997), diferentes cepas do parasito podem apresentar, entre outras alteridades, diferentes tropismos teciduais, como por exemplo, os observados entre as Cepas Y e Cepas São Felipe, onde, a primeira tem um tropismo preferencial por macrófagos, enquanto a segunda, pelo miocárdio (ANDRADE e MAGALHÃES, 1997).

Concomitante a isso, conforme já observado por Perin (2017), a distribuição tecidual do Bz durante o tratamento também não ocorre de forma uniforme, reforçando a necessidade da ampliação dos estudos da interação entre o fármaco, o parasito e o hospedeiro.

Outro desafio encontrado, na tentativa de associar a heterogeneidade do

parasito com a eficácia do tratamento, é a escassez de testes moleculares em infectados humanos, sobretudo na fase crônica da DC, conforme observado por Zingales (2018). A escassez de parasitas no sangue, durante essa fase da doença, bem como, a dificuldade na obtenção de amostras dos tecidos infectados, dificulta o estabelecimento da correlação entre a manifestação clínica observada no paciente e o genótipo do parasito infectante.

Essa lacuna informacional impede a replicação dos resultados conhecidos, dificultando o desenvolvimento de um padrão de comportamento do parasito e da evolução da doença, que possa servir de base para novas abordagens no desenvolvimento de diferentes tratamentos para a DC.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, conclui-se com a presente revisão que não se pode afirmar que os perfis de suscetibilidade de *T. cruzi* ao tratamento com benzonidazol estejam apenas, ou, diretamente relacionados com suas respectivas DTUs. Além disso, apesar da divisão em DTUs ser muito válida, faltam estudos que corroborem o estabelecimento de um padrão de classificação que faça jus à diversidade comportamental das diferentes linhagens de *T. cruzi*, sendo de extrema necessidade a realização de novas pesquisas, para que essa abordagem logre sucesso.

É necessário o desenvolvimento um padrão metodológico “ouro” para a realização de novos estudos moleculares que permita, além da replicação desses ensaios, uma comparação colaborativa dos resultados. Ainda, é importante realizar estudos que busquem estabelecer a correlação ecoepidemiológica do parasito, em diferentes ciclos, reservatórios ou hospedeiros, com suas respectivas DTUs.

Com base nisso, espera-se que novos estudos sejam desenvolvidos e que possam colaborar para a construção do caminho entre a DC e sua, tão sonhada, cura.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE-ALVARADO C *et al.* *In vitro* and *in vivo* trypanocidal activity of the ethyl esters of N-allyl and N-propyl oxamates using different *Trypanosoma cruzi* strains, **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 22:2, p. 227- 233, 2007.
- ANDRADE AL *et al.* Short report: Benznidazole efficacy among *Trypanosoma cruzi*- infected adolescents after a six-year follow-up. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 71, p. 597, 2004.
- ANDRADE SG; MAGALHÃES JB. Biodemes and zymodemes of *Trypanosoma cruzi* strains: correlations with clinical data and experimental pathology. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, 1997.
- ANDRADE SG; MAGALHÃES JB. Specific chemotherapy of Chagas disease: a comparison between the response in patients and experimental animals inoculated with the same strains. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 86(6), p. 624-626, 1992.
- ANDRADE SG; MAGALHÃES JB. Caracterização de cepas de *Trypanosoma cruzi* isoladas no Recôncavo Baiano. (Contribuição ao estudo da patologia geral da doença de Chagas em nosso meio). **Revista de Patologia Tropical**, v.3, p.65-121, 1974.
- ANDRADE V *et al.* Patterns of resistance of inbred mice to *Trypanosoma cruzi* are determined by parasite strain. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 1985.
- ANDRADE V. Avaliação do comportamento de diferentes cepas do *Trypanosoma cruzi* na infecção de seis linhagens isogênicas de camundongos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 18(3), p. 143- 154, 1985.
- BAHIA-OLIVEIRA LM *et al.* Immunological and clinical evaluation of chagasic patients subjected to chemotherapy during the acute phase of *Trypanosoma cruzi* infection 14-30 years ago. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**. V. 182, p. 634-38, 2000.
- BERNARDO WM. A prática clínica baseada em evidências. Parte II – Buscando as evidências em fontes de informação. **Associação Brasileira de Medicina**, 2004.
- BRENER Z; GAZZINELLI RT. Immunological control of *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas disease. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 114(2), p.103- 10, 1997.
- BRENER Z. Biology of *Trypanosoma cruzi*. **Annual Review of Microbiology**, v. 27, p.347-382, 1973.

BRENIÈRE SF; WALECKX E; BARNABÉ C. Over six thousand *Trypanosoma cruzi* strains classified into discrete typing units (DTUs): attempt at an inventory. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, p.47-62, 2016.

BRISSE S; DUJARDIN JC; TIBAYRENC M. Identification of six *Trypanosoma cruzi* lineages by sequence-characterised amplified region markers. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 111, p. 95-105, 2000a.

BRISSE S; TIBAYRENC M. Identification of six *Trypanosoma cruzi* phylogenetic lineages by random amplified polymorphic DNA and multilocus enzyme electrophoresis. **International Journal for Parasitology**. v. 30, p. 35-44, 2000b.

BRISSE S; VERHOEF J; TIBAYREN CM. Characterization of large and small subunit rRNA and mini-exon genes further supports the distinction of six *Trypanosoma cruzi* lineages. **International Journal for Parasitology**, v. 31, 2001.

CAMANDARROBA ELP *et al.* *Trypanosoma cruzi*: susceptibility to chemotherapy with benznidazole of clones isolated from the highly resistant Colombian strain. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36(2), p. 201-209, 2003.

CAMARGO ME; SILVA GR; CASTILHO EA; SILVEIRA AC. Inquérito sorológico da prevalência de infecção chagásica no Brasil, 1975/1980. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** São Paulo, 1984.

CAMPBELL DA; WESTENBERGER SJ; STURM NR. The determinants of Chagas disease: connecting parasite and host genetics. **Current Molecular Medicine**, v. 4, p. 549-562, 2004.

CAMPOS RF *et al.* Response to chemotherapy with benznidazole of clones isolated from the 21SF strain of *Trypanosoma cruzi* (biodeme Type II, *Trypanosoma cruzi* II). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 2, p. 142-146, 2005.

CANÇADO JR. - Long term evaluation of etiological treatment of Chagas disease with benznidazole. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**. São Paulo, 44(1):29-37, 2002.

CAPES. **Portal de Periódicos da Capes**. Disponível em: <<https://www.periodicos.capes.gov.br/images/documents/folder.PDF>>

CHAGAS C. Nova tripanozomíase humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 1(2), p. 159-218, 1909.

CLARK CG & PUNG O. Host specificity of ribosomal DNA variation in sylvatic *Trypanosoma cruzi* from North America. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 66, p.174-179, 1994.

COSTA J; LORENZO M. Biologia, diversidade e estratégias para o monitoramento e controle vetorial de triatomíneos da doença de chagas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p.46-51, 2009.

COURA JR, et al. Uma visão sistêmica da endemia chagásica. In AC Silveira, *La enfermedad de Chagas a la puerta de los 100 años del conocimiento de una endemia americana ancestral*, **Org Panam Salud y Fundación Mundo Sano**, Buenos Aires, 2007.

COURA JR, VIÑAS PA. Chagas disease: a new worldwide challenge. **Nature**, v. 465, p. 6-7, 2010.

COURA JR. Chagas disease: what is known and what is needed - A background article. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 122, p. 113-122, 2007.

COURA JR; DIAS JCP. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease: 100 years after its discovery. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, p.104, 2009.

CRUZ JS *et al.* Altered cardiomyocyte function and *Trypanosoma cruzi* persistence in Chagas disease. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 94, 2016.

DA CUNHA MLM *et al.* Distribuição Geográfica de DTUs do *Trypanosoma cruzi* isolado de Infecções Humanas no Brasil: Revisão Sistemática. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 2, p. 13334-13348, 2022.

DA CUNHA MLM. Distribuição Geográfica de DTUs do *Trypanosoma cruzi* Isolado de Infecções Humanas no Brasil: Revisão Sistemática. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 2, p. 13334-13348, 2022.

DA SAÚDE, Ministério. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico**, número especial, 2022.

DA SAÚDE, Ministério. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico**, v. 46, p. 1-9, 2015.

DE ANDRADE AL *et al.* Randomised trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. **Lancet**. V. 348, p. 1407-1413, 1996.

DE SOUZA W. Basic cell biology of *Trypanosoma cruzi*. **Current Pharmaceutical Design**, v. 8, p. 269-285, 2002.

DEVERA R; FERNANDES O; COURA, JR. 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. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 2003.

DIAS JCP; COURA JR. Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral. **Fiocruz**, p. 486, 1997.

DIAS JCP *et al.* Brazilian Consensus on Chagas Disease, *Epidemiologia e serviços de saúde: Revista do Sistema Único de Saúde do Brasil*, v. 25, 2016.

DÍAZ ML; LEAL S; MANTILLA JC. Acute chagas outbreaks: molecular and biological features of *Trypanosoma cruzi* isolates, and clinical aspects of acute cases. Santander, Colombia. **Parasites and Vectors**, v. 608, 2015.

DIAZ-TORANZO EG, *et al.* Interaction of benznidazole reactive metabolites with nuclear and kinetoplastic DNA, proteins and lipids from *Trypanosoma cruzi*. **Experientia**, v. 44, n. 10, p. 880-881, 1988.

FLEMMING K. Asking answerable questions. *Evidence-Based Nursing*, 1998.

FREITAS JM *et al.* Ancestral genomes, sex, and the population structure of *Trypanosoma cruzi*. **PLOS Pathogens**, v. 2 (3), 2006.

GALVÃO C, org. Vetores da doença de chagas no Brasil. **Sociedade Brasileira de Zoologia**. Zoologia: guias e manuais de identificação series, p. 289, 2014.

GARCIA S, *et al.* Treatment with Benznidazole during the Chronic Phase of Experimental Chagas Disease Decreases Cardiac Alterations. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.49, p. 1521-1528, 2005.

GIRONÈS N; CUERVO H; FRESNO M. *Trypanosoma cruzi*-induced molecular mimicry and Chagas' disease. **Current topics in microbiology and immunology**, v.296, 2005.

GONTIJO ED *et al.* Triagem neonatal da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* em Minas Gerais, Brasil: transmissão congênita e mapeamento das áreas endêmicas. **Epidemiologia e Serviços da Saúde**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 243-254, 2009.

GUEDES PM *et al.* Advances in Chagas Disease Chemotherapy. **Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry**, v. 5, p. 175-186, 2006.

HEUN M; MURPHY JP; PHILLIPS TD. A comparison of RAPD and isozyme analyses for determining the genetic relationships among *Avena sterilis* L. accessions. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 87, p. 689-696, 1994.

HIGGINS JPT; GREEN S. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions 4.2.4. **John Wiley & Sons Ltd**, Chichester, 2005.

JURBERG J *et al.* Uma Iconografia dos Triatómíneos (Hemiptera: Reduviidae). **Entomología y Vectores**, v. 11 (3), p. 457-494, 2004.

LINDE K; WILLICH SN. How objective are systematic reviews? Differences between reviews on complementary medicine. **Journal of the Royal Society of Medicine**, 2003.

MACEDO AM; OLIVEIRA RP; PENA SD. Chagas disease: role of parasite genetic variation in pathogenesis. **Expert Reviews in Molecular Medicine.**, 2002.

MACHADO FS *et al.* Current understanding of immunity to *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas disease. **Seminars in Immunopathology.** 2012.

MALFAIA ME; RODRIGUES ASL. Centenário do descobrimento da doença de Chagas: desafios e perspectivas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, 2010.

MARAÑÓN C *et al.* HSP70 from *Trypanosoma cruzi* is endowed with specific cell proliferation potential leading to apoptosis. **International immunology**, v. 12, 2000.

MARCILI A *et al.* A new genotype of *Trypanosoma cruzi* associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and Histone H2B genes and genotyping based on ITS1 rDNA. **Parasitology**, v 136, p 641-655, 2016.

MARTINS-MELO FR *et al.* The burden of neglected tropical diseases in Brazil, 1990-2016: a subnational analysis from the Global Burden of Disease Study 2016. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, 2018.

MILES MA *et al.* The identification by isoenzyme patterns of two district strain-groups of *Trypanosoma cruzi*, circulating independently in a rural area of Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 71, 1977.

MILES MA. Further enzymic characters of *Trypanosoma cruzi* and their evaluation for strain identification. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 74, 1980.

MOREL C *et al.* Strains and clones of *Trypanosoma cruzi* can be characterized by patterns of restrictions endonuclease products of kinetoplast DNA minicircles. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.77, p. 6810-6814, 1980.

MORTARA RA. *Trypanosoma cruzi*: amastigotes and trypomastigotes interact with different structures on the surface of hela cells. **Experimental Parasitology**, v. 73, n.1, p. 1-14, 1991.

NEEDLEMAN IG. A guide to sistematic reviews. **Journal of Clinical Periodontology**, 2002.

OLIVEIRA-SILVA JCV *et al.* Experimental benznidazole treatment of *Trypanosoma cruzi* II strains isolated from children of the Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil, with Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, p. 86-94, 2015.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE (OPAS). Informação geral: Enfermedad de Chagas, Washington, **Parasitology**, v. 136, p. 641-655, 2018.

PERIN L *et al.* Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Benznidazole after Oral Administration in Mice. **Antimicrob Agents Chemother**, 2017.

PINTO AYN *et al.* Fase aguda da doença de Chagas na Amazônia brasileira: estudo de 233 casos do Pará, Amapá e Maranhão observados entre 1988 e 2005 **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2008.

RASSI A Jr *et al.* American trypanosomiasis (Chagas disease). **Infectious Disease Clinics of North America**, 2012.

RICHARDSON WS. The well-built clinical question: a key to evidence-based decisions. **ACP Journal Club**, 1995.

RODRIGUES JC; GODINHO JL; DE SOUZA W. Biology of human pathogenic trypanosomatids: epidemiology, lifecycle and ultrastructure. **Subcellular Biochemistry**, v. 74, p. 1-42, 2014.

ROMAÑA C; MEYER H. Estudo do ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* em cultura de tecidos de embrião de galinha. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 37, 1942.

ROMANHA AJ *et al.* Isoenzyme patterns of cultured *t. Cruzi*. Changes after prolonged subculture. Comparative **Biochemistry & Physiology**, 1979.

ROMANHA AJ. In vitro and in vivo experimental models for drug screening and development for Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 2, 2010.

SCARIM CB *et al.* Response to different benznidazole doses in animal models of chronic phase Chagas disease: a critical review. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 02, 2018.

SHIKANAI-YASUDA MA *et al.* Acute Chagas disease: transmission routes, clinical aspects and response to specific therapy in diagnosed cases in an urban center. **Revista do Instituto de Medicina Tropical** . São Paulo, v. 32, p. 16-27, 1990.

SILVEIRA CA; CASTILLO E; CASTRO C. Evaluation of a specific treatment for *Trypanosoma cruzi* in children, in the evolution of the indeterminate phase. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, p. 191-196, 2000.

SIMÕES MV *et al.* Cardiomiopatia da Doença de Chagas. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, v. 31, 2018.

SOSA ESTANI S *et al.* Efficacy of chemotherapy with benznidazole in children in the indeterminate phase of Chagas' disease. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 1988.

SOUTO RP *et al.* DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. **Molecular Biochemical Parasitology**, v. 83, p. 141-152, 1996.

SOUTO RP; ZINGALES B. Sensitive detection and strain classification of *Trypanosoma cruzi* by amplification of a ribosomal rna sequence. **Molecular Biochemical Parasitology**, 69(4), 45-52, 1993.

SOUZA DDSM Et al. Atualização em Doença de Chagas: Aspectos epidemiológicos e clínicos da doença de Chagas aguda no Brasil e na América Latina. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 26, n. 4, p. 222–229, 2016.

STEINDEL M *et al.* Random amplified polymorphic DNA analysis of *Trypanosoma cruzi* strains. **Mol Biochem Parasitol**, v. 60, p. 71-79, 1993.

STONE, PW. Popping the (PICO) Question in Research and Evidence-Based Practice. **Applied Nursing Research**, 2002.

STURM NR; DEGRAVE W; MOREL C; SIMPSON L. Sensitive detection and schizodeme classification of *Trypanosoma cruzi* cells by amplification of kinetoplast minicircle DNA sequences: use in diagnosis of Chagas' disease. **Molecular Biochemical Parasitology**, v. 33, p. 205-214, 1989.

TESTON APM *et al.* In vivo susceptibility to benznidazole of *Trypanosoma cruzi* strains from the western Brazilian Amazon. **Tropical Medicine & International Health**, v. 18, p. 85–95, 2013.

TIBAYRENC M, *et al.* Genetic characterization of six parasitic protozoa: parity of random-primer DNA typing and multilocus isoenzyme electrophoresis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 12, p. 1335-1339, 1993.

TIBAYRENC M. Genetic epidemiology of parasitic protozoa and other infectious agents: the need for an integrated approach. **International Journal for Parasitology**, v. 26, p. 28-34, 1998.

TIBAYRENC, M; AYALA, FJ. Isozyme variability the agent of Chagas' disease: genetical, taxonomical, and epidemiological significance. **Evolution**, v. 42, 1988.

TOLEDO MJ *et al.* Chemotherapy with benznidazole and itraconazole for mice infected with different *Trypanosoma cruzi* clonal genotypes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 47, p. 223-30, 2003.

TOLEDO MJ *et al.* Effects of specific treatment on parasitological and histopathological parameters in mice infected with different *Trypanosoma cruzi* clonal genotypes, **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 53, p. 1045–1053, 2004.

VELA A *et al.* *In vitro* susceptibility of *Trypanosoma cruzi* discrete typing units (dtus) to benznidazole: A systematic review and meta-analysis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, 2021.

VIOTTI R *et al.* Treatment of chronic Chagas disease with benznidazol: clinical and serological evolution of patients with long term follow up. **American Heart Journal**, 127: 151-162, 1994.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Chagas disease (American trypanosomiasis)**, 2018. Disponível em:<
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>>

ZINGALES B *et al.* A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.104, n.7, p.1051-1054, 2009.

ZINGALES B *et al.* The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. **Infection, Genetics and Evolution**, 2012.

ZINGALES, B. *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.

ZREIN M *et al.* A novel antibody surrogate biomarker to monitor parasite persistence in *Trypanosoma cruzi*-infected patients. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 12, 2018.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Teste de Relevância 1

APÊNDICE A TESTE DE RELEVÂNCIA I (aplicado ao resumo do artigo pesquisado)		
Base de Dados: _____ Classificação: _____		
Identificação do Resumo – NORMA ABNT: _____ _____		
QUESTÕES APLICADAS	SIM	NÃO
1. O artigo faz referência ao tema específico?		
2. O artigo está voltado especificamente para o estudo do parasito <i>Trypanosoma cruzi</i> ?		
3. O artigo foi publicado em algum dos idiomas a seguir: português, espanhol ou inglês?		
4. O artigo foi publicado no período entre 1990 e 2022?		
5. O artigo apresenta dados específicos sobre o efeito do benzonidazol em <i>T. cruzi</i> ?		
Parecer do Avaliador		
Inclui-se o artigo na pesquisa? () SIM () NÃO () Análise inconclusiva, necessita-se acessar o artigo integralmente Pesquisador responsável: _____		

APÊNDICE B – Teste de Relevância 2

APÊNDICE B TESTE DE RELEVÂNCIA II (aplicado ao artigo completo pesquisado)		
Base de Dados: _____ Classificação: _____		
Identificação do Resumo – NORMA ABNT: _____ _____ _____		
QUESTÕES APLICADAS	SIM	NÃO
1. Os objetivos do artigo estão diretamente relacionados aos objetivos desta pesquisa?		
2. A metodologia utilizada no artigo é adequada/amplamente utilizada?		
3. O artigo fala exclusivamente efeitos do benzonidazol em cepas de <i>Trypanosoma cruzi</i> ?		
4. Os resultados do artigo contribuem para a construção de conhecimentos sobre a temática da pesquisa a ser elaborada?		
5. O artigo apresenta dados específicos sobre a eficácia do fármaco benzonidazol em DTU's de <i>Trypanosoma cruzi</i> ?		
Parecer do Avaliador		
Inclui-se o artigo na pesquisa? () SIM () NÃO Pesquisador responsável: _____		

APÊNDICE C – Roteiro para coleta de dados dos artigos

<p>APÊNDICE C</p> <p>ROTEIRO PARA COLETA DE DADOS DOS ARTIGOS PESQUISADOS</p> <p>(aplicado ao artigo completo pesquisado)</p> <p>Base de Dados: _____ Classificação: _____</p> <p>Identificação do Resumo – NORMA ABNT:</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p>CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO</p> <p>Objetivo:</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Tipo de Estudo:</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Procedimentos Metodológicos:</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Resultados encontrados:</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p>Considerações do pesquisador quanto a limitações</p> <p>_____</p> <p>Pesquisador responsável:</p>