

Das Américas para o mundo: o desafio da globalização da doença de Chagas

From the Americas to the world: the challenge of Chagas disease globalization

Ana Rita Ferrão

Unidade de Ensino e Investigação de Clínica Tropical
Instituto de Higiene e Medicina Tropical Universidade Nova de Lisboa

Marcelo Sousa Silva

Unidade de Ensino e Investigação de Clínica Tropical
Instituto de Higiene e Medicina Tropical Universidade Nova de Lisboa

Jorge Atouguia

Unidade de Ensino e Investigação de Clínica Tropical
Instituto de Higiene e Medicina Tropical Universidade Nova de Lisboa

Jorge Seixas

Unidade de Ensino e Investigação de Clínica Tropical
Instituto de Higiene e Medicina Tropical Universidade Nova de Lisboa

Resumo

A doença de Chagas é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e pode ser transmitida aos humanos através do insecto vector triatomíneo (apenas na América latina), de mãe para filho, por transfusão, por transplante ou por via oral. Após uma fase aguda de algumas semanas de duração, a doença evolui cronicamente durante décadas, de forma assintomática. Até 40% dos indivíduos nesta fase progridem para a fase crónica sintomática, caracterizada por insuficiência cardíaca progressiva com arritmias severas e/ou dilatações do trato digestivo.

O deslocamento de um número cada vez mais elevado de migrantes da América Latina para a Europa faz com que a doença de Chagas seja actualmente um problema de saúde pública nesta região. Em Portugal o número de imigrantes latino-americanas tem aumentado ano após ano, destacando-se o Brasil como país de origem. No entanto, o número de residentes latino-americanos com doença de Chagas em Portugal é desconhecido.

A Organização Mundial de Saúde preconiza a realização de rastreios para a prevenção da transmissão de *T. cruzi* em área não-endémica. Esta prevenção deverá ser efectuada ao nível das transfusões sanguíneas, transplantação de órgãos e transmissão vertical. No entanto, apenas alguns países europeus efectuem rastreios sistemáticos para a doença de Chagas. Em Portugal existem apenas 9 casos confirmados de doença de Chagas, o que constitui, segundo as estimativas do número potencial de infectados por *T. cruzi*, uma enorme discrepância. Foram efectuados no nosso país dois estudos epidemiológicos para detecção de *T. cruzi*, sendo que um deles ainda se encontra em curso. Nestes estudos não foram, até à data, encontrados casos positivos.

A doença de Chagas é ainda uma doença negligenciada, pouco conhecida pela maioria dos profissionais de saúde e cujo diagnóstico e terapêutica estão ainda longe de ser ideais. Os desafios colocados pela sua globalização poderão ajudar a obter avanços no seu processo de erradicação.

Palavras Chave:

Doença de Chagas, Doença tropical negligenciada, Globalização, *Trypanosoma cruzi*, Tripanosomiase Americana.

Abstract

Chagas disease is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi* and can be transmitted to humans by a triatomine vector (only in Latin America), from mother to child, transfusion, transplant or orally. After an acute phase of several weeks, the disease progresses asymptotically for decades. Approximately 40 % of the subjects in this phase progress to the chronic phase, which is characterized by progressive heart failure with severe arrhythmias and/or dilations of the digestive tract.

The movement of an increasingly number of migrants from Latin America to Europe establishes Chagas disease as a public health problem in this region. In Portugal the number of Latin American immigrants has increased year after year. Brazil is highlighted as the main country of origin. However, the number of Latin American residents with Chagas disease in Portugal is unknown.

The World Health Organization recommends screening tests for *T. cruzi* to prevent transmission in non-endemic countries. This prevention would be made at the level of blood transfusions, organ transplantation and vertical transmission. However, only a few European countries perform systematic screening for Chagas disease. In Portugal there are nine confirmed cases of Chagas disease, which compared to the estimated number of existing cases constitutes a huge discrepancy. Two epidemiological studies for detection of *T. cruzi* were made in our country, one of which is still ongoing. These studies have not, to date, found positive cases.

Chagas disease is still a neglected disease, poorly understood by most of the health professionals and diagnosis and treatment are still far from ideal. The challenges established by its globalization may help in moving forward towards its eradication

Key Words:

Chagas disease, Neglected tropical disease, Globalization, *Trypanosoma cruzi*, American Tripanosomiase.

Definição e Impacto na Saúde Pública

A doença de Chagas, ou Tripanosomíase Americana, é uma zoonose causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), transmitida maioritariamente através de um vector invertebrado, da subfamília *Triatominae* (Maudlin *et al.* 2004; World Health Organization 2007; WHO Expert Committee 2002). A doença evolui em duas fases: aguda, até cerca de dois meses após infecção (World Health Organization 2010), e crónica, que poderá ocorrer de forma indeterminada ou sintomática (cardíaca e/ou digestiva), entre 10 a 30 anos após infecção (Rassi & Marin-Neto 2010). Considera-se que 60 a 70% dos indivíduos infectados por *Trypanosoma cruzi* permanecem na fase indeterminada da doença (Rassi & Marin-Neto 2010).

Existe um grande número de reservatórios vertebrados e de insectos triatomíneos que participam na transmissão desta doença em área endémica, tornando complexa a sua epidemiologia e o seu controlo (World Health Organization 2007). A infecção ocorre por penetração pela conjuntiva, mucosa oral ou nasal das formas infectantes de *T. cruzi* presentes nas fezes do vector (Cook & Zumla 2009).

A transmissão do parasita pode ocorrer também através de transfusão sanguínea, transplante de órgãos (WHO Expert Committee 2002), transmissão congénita (Reiche *et al.* 1996), ou amamentação (WHO Expert Committee 2002). É crescente o número de casos de infecção por via oral, por consumo *in natura* de alimentos conspurcados por fezes do vector contendo o parasita, nomeadamente sumos (Shikanai-Yasuda & Carvalho 2012).

As áreas endémicas da transmissão deste parasita, onde existem insectos infectados responsáveis pela transmissão vectorial estão limitadas à América Central e Sul (WHO Expert Committee 2002). Fora destas áreas endémicas, a doença de Chagas vem assumindo uma importância crescente, em função do aumento no fluxo emigratório de latino-americanos (WHO Expert Committee 2002; World Health Organization 2009b).

Situação epidemiológica actual em países não endémicos

A migração de latino-americanos tem vindo a tornar-se cada vez mais evidente nos países da Europa (Góis *et al.* 2009). Estes migrantes são maioritariamente jovens, em idade reprodutiva e com as mulheres em elevada proporção (Ferrão *et al.* 2012). A nacionalidade estrangeira mais representativa em Portugal, segundo os dados mais recentes do Serviço de Estrangeiros e Fronteiras, é a brasileira (Serviço de Estrangeiros e Fronteiras 2012).

Em países com indivíduos provenientes de zona endémica para doença de Chagas o risco de transmissão autóctone da doença por transfusão, transplante, e transmissão materno-

-fetal fica estabelecido (Velarde-Rodríguez *et al.* 2009). A transmissão de *T. cruzi* associada a transfusão sanguínea ou transplante de órgãos foi já documentada em países como os EUA, Espanha, Canadá e Suíça (Piron *et al.* 2008; Gascon *et al.* 2009; Guerri-Guttenberg *et al.* 2008). Estima-se que o número de indivíduos infectados por *T. cruzi* na Europa exceda os 80 000 (World Health Organization 2009b; Basile *et al.* 2011).

Actualmente o número de residentes latino-americanos com doença de Chagas em Portugal é desconhecido, mas as estimativas indicam cerca de 500 a 1000 indivíduos infectados em território nacional (Basile *et al.* 2011). O número total de casos de doença de Chagas laboratorialmente confirmados em Portugal é 9 (Cortez *et al.* 2012).

Existe desde 2006 uma directiva europeia publicada pelo Parlamento Europeu que sugere a realização de um rastreio de dadores de sangue e órgãos sob risco para a infecção por *T. cruzi* tendo em consideração o seu historial epidemiológico (Comissão das Comunidades Europeias 2006). A Organização Mundial de Saúde (OMS) preconiza a realização de rastreios para a prevenção da transmissão de *T. cruzi* por transfusão sanguínea e transplante de órgãos tanto em área endémica como em países não-endémicos (World Health Organization 2008; Fondation Merieux & World Health Organization 2008; World Health Organization 2010). Actualmente quatro países europeus aplicam medidas preventivas para a transmissão de *T. cruzi* através de transfusão sanguínea: Espanha, França, Reino Unido e Suíça. Quanto à prevenção da doença de Chagas por transplante de órgãos, são efectuados rastreios em dadores apenas em Espanha, Itália e Reino Unido (Chagas Disease Europe Working Group, informação pessoal).

Em Portugal aplica-se a directiva europeia 2006/17/CE, na qual consta que indivíduos sabidamente infectados por *T. cruzi* deverão ser excluídos da dádiva de sangue, e que não especifica como proceder no caso de um doente que nunca tenha sido rastreado para esta doença. No entanto, está prevista a implementação futura de um protocolo que excluirá da doação de sangue e órgãos os indivíduos considerados sob risco epidemiológico de estarem infectados por *T. cruzi*. (Chagas Disease Europe Working Group, informação pessoal).

Foi efectuado em 2008-2009 no Porto um estudo epidemiológico em 433 dadores de sangue considerados de risco para a doença de Chagas, no qual não se encontraram amostras positivas (Queirós *et al.* 2010). A realização de rastreio da doença de Chagas em grávidas provenientes de região de risco considera-se de grande importância, pois a maioria das grávidas infectadas são assintomáticas (Nisida *et al.* 1999). A realização deste tipo de rastreio é considerada rentável mesmo em áreas não-endémicas para a doença de Chagas (Wilson *et al.* 2008; Sicuri *et al.* 2011), sendo já efectuado em algumas instituições em Itália, na Suíça, e em várias regiões autónomas de Espanha (Jackson *et al.* 2009; World Health Organization 2009b; Flores *et al.* 2008; Rueda *et al.* 2009;

Generalitat de Catalunya - Departament de Salut 2010). Em Portugal não existe um rastreio sistemático em grávidas de risco (World Health Organization 2009b). A percentagem mais representativa de nados vivos filhos de mães com nacionalidade estrangeira em Portugal no ano de 2009 correspondia à nacionalidade brasileira com um total de 3 786 recém-nascidos, representando 3,81% dos nascimentos em Portugal de filhos de mães estrangeiras nesse ano (Instituto Nacional de Estatística 2010). Tendo em conta estes dados, encontra-se em curso, desde 2011, um estudo epidemiológico piloto para detecção de grávidas infectadas por *T. cruzi* em três maternidades da grande Lisboa, até à data sem casos positivos (Ferrão *et al.* em preparação).

Características clínicas e imunológicas da doença e problemas do diagnóstico

Existem manifestações clínicas na fase aguda e na fase crónica da doença; no entanto a maioria dos doentes apresenta-se oligossintomática ou assintomática e não sabe estar infectada (Dias *et al.* 1956). Em área endémica, a fase aguda tende a ocorrer nos primeiros anos de vida, sendo verificados sintomas inespecíficos como febre, mal-estar geral, dores musculares, anorexia, e em alguns casos diarreia e vômitos. Há geralmente edema, aumento dos nódulos linfáticos, hepatomegália e esplenomegália, configurando na maioria das vezes um síndrome de mononucleose (WHO Expert Committee 2002).

Após a infecção aguda verifica-se uma grande diminuição do número de parasitas em circulação e este é encontrado principalmente na sua forma intracelular nos órgãos alvo: coração, sistema nervoso central, sistema nervoso autónomo, e sistema digestivo (WHO Expert Committee 2002). A persistência do parasita nestes órgãos, associada a determinados tipos de resposta imune poderá levar a complicações cardíacas e digestivas décadas depois, na fase crónica da doença (WHO Expert Committee 2002; Ayo, 2013).

A fase indeterminada corresponde a um período prolongado de aparente cura clínica durante o qual a doença progride silenciosa e sub-repticiamente (Laranja *et al.* 1948). O aparecimento de variadas lesões em órgãos internos, principalmente no coração, pode levar à ocorrência de morte súbita por arritmia cardíaca. É nesta fase que se encontram a maioria dos doentes, geralmente sem sabê-lo (World Health Organization 2010; Junior *et al.* 2001).

A fase crónica sintomática da doença de Chagas ocorre cerca de 10 a 30 anos após a infecção inicial (Rassi & Marin-Neto 2010). Após vários anos de uma fase assintomática, considera-se que cerca de 20% a 30% dos doentes poderão desenvolver sintomas cardíacos, ao passo que cerca de 5% a 10% poderão desenvolver sintomas digestivos. A Miocardiopatia Crónica Chagásica (MCC) resulta numa insuficiência cardíaca progressiva, acompanhada de arritmias severas e fenó-

menos trombo-embólicos, inclusive para o Sistema Nervoso Central. O atingimento digestivo resulta em denervação, principalmente dos segmentos terminais do esófago e cólon, a montante dos quais se estabelecem grandes dilatações (megaesófago e megacólon chagásicos). (World Health Organization 2009a).

Não existe até hoje uma técnica que seja considerada de referência para o diagnóstico da doença de Chagas, em especial na fase crónica (Flores-chávez *et al.* 2007; Otani *et al.* 2009). No entanto, a OMS preconiza que um diagnóstico definitivo nesta fase da doença é aceite se dois testes serológicos diferentes de detecção de anticorpos revelarem um resultado positivo, funcionando o primeiro como teste de rastreio e o segundo como teste confirmatório (WHO Expert Committee 2002).

Em caso de suspeita de doença aguda considera-se útil a realização de exame a fresco ou corado de esfregaço de sangue, para observação directa do parasita (WHO Expert Committee 2002). A *Polimerase Chain Reaction* (PCR) poderá ser aplicada na fase aguda ou para detecção de infecção congénita (Fondation Merieux & World Health Organization 2008), embora na fase crónica a precisão deste método seja limitada, devido à baixa parasitemia que existe nessa fase da doença (Otani *et al.* 2009). São utilizados actualmente para a fase crónica da doença testes de Hemaglutinação Indirecta (HAI), Imunofluorescência Indirecta (IFI) e *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) (WHO Expert Committee 2002). A reactividade cruzada de alguns pacientes infectados com *Leishmania spp.*, *Trypanosoma rangeli* (não patogénico) e *Plasmodium spp.* está bem estabelecida, devendo este ser um factor a ter em consideração na escolha do teste serológico mais adequado para uma determinada população (WHO Expert Committee 2002; Flores-Chávez *et al.* 2009).

A terapêutica da doença de Chagas

Para o tratamento etiológico da doença de Chagas existem em utilização dois derivados nitroimidazólicos, tripanocidas, o Nifurtimox e o Benznidazol (Villar *et al.* 2009), que foram inicialmente testados em casos de fase aguda, e mais tarde na fase crónica (World Health Organization 2007). O seu uso está associado a efeitos adversos importantes e severos; estão contra-indicados na gravidez e na insuficiência hepática e renal. Sabe-se actualmente que os efeitos adversos de ambos os fármacos são mais frequentes e graves em indivíduos adultos (World Health Organization 2007).

Ambos os fármacos são razoavelmente eficazes na fase aguda da patologia (entre 58 e 76% de cura parasitológica), mas a sua eficácia diminui à medida que a doença se torna crónica. No entanto, sabe-se que podem eventualmente diminuir a carga parasitária na fase indeterminada e crónica inicial da doença, de forma a impedir a sua evolução e prevenir complicações (Villar *et al.* 2009; Viotti *et al.* 2011).

Dadas as incertezas sobre a razão risco-benefício, muitos clínicos, em caso de forma cardíaca ou digestiva, prescrevem apenas tratamento de suporte, numa tentativa de evitar uma agravação do problema no órgão, ou recomendam apenas modificações no estilo de vida e dieta (World Health Organization 2007). O problema com esta aproximação terapêutica é que não altera a evolução da doença: a MCC evolui inexoravelmente para insuficiência cardíaca intratável a necessitar transplante cardíaco e os “megs” para situações cirúrgicas complexas. O tratamento anti-parasitário deverá ser realizado ponderando os seus benefícios e riscos, os custos, a aceitação ou recusa do doente e a avaliação clínica do médico (World Health Organization 2007).

A sero-negativação após tratamento antiparasitário é muito lenta, sendo que os anticorpos poderão levar cerca de uma década a diminuir substancialmente em indivíduos curados (World Health Organization 2007). Assim, é sugerido que a avaliação da terapêutica seja efectuada através da comparação do título de anticorpos, cuja diminuição é sugestiva de um processo de cura, eventualmente associada ao uso de técnicas de PCR ao longo do tempo (Pérez-Molina *et al.* 2009). Não existe actualmente uma vacina disponível que previna a doença de Chagas (World Health Organization 2011).

Iniciativas de investigação e controlo da doença

Encontra-se actualmente em curso um projecto de avaliação da eficácia e segurança do tratamento da Tripanosomíase Americana com Benznidazol (*BENEFIT*), o primeiro estudo randomizado e controlado multicêntrico contra placebo efectuado em doentes que se encontram na fase crónica da doença, na sua forma cardíaca. Os resultados preliminares indicam que cerca de 15% dos pacientes interrompem a terapêutica, embora cerca de 6% desses doentes a retomem posteriormente (Marin-Neto *et al.* 2009).

Está em desenvolvimento um estudo em fase II de um candidato ao tratamento de doença de Chagas, denominado E1224, derivado do fármaco pro-ravuconazol (anti-fúngico inibidor de ergosterol), actualmente a ser testado em doentes adultos em fase crónica indeterminada (Torrice 2011). A utilização de um outro anti-fúngico, posaconazol, encontra-se também em estudo quanto ao seu efeito tripanocida em humanos, já demonstrado em modelo animal (Molina *et al.* 2012).

Decorre actualmente também o projecto BERENICE (*Benznidazol and triazol research group for nanomedicine and innovation*

on Chagas disease), financiado pela Programa FP7 da Comunidade Europeia. O objectivo central deste projecto é a potencialização da utilização do benznidazol em nanoformulações farmacêuticas, com a finalidade de reduzir a dosagem terapêutica deste fármaco e consequentemente a sua toxicidade (<http://www.berenice-project.eu/>).

Conclusão

A doença de Chagas continua a ser uma das mais importantes doenças tropicais negligenciadas. O panorama epidemiológico tem vindo a modificar-se ao longo das últimas décadas: por um lado as iniciativas de controlo da doença resultaram, por exemplo no Brasil, na interrupção da transmissão vectorial pelo principal vector envolvido; por outro, e ao mesmo tempo, o intenso fluxo migratório de indivíduos latino-americanos portadores, maioritariamente sem o saberem, de doença de Chagas em fase indeterminada, criou um problema de saúde pública fora das regiões endémicas, para o qual os profissionais e sistemas de saúde não estavam preparados. Na Europa, há uma tremenda discrepância entre o número de casos estimado e o notificado: em 2009, em nove países europeus, incluindo Portugal, 4,290 casos tinham sido diagnosticados, comparado com uma estimativa de 68,000 a 122,000 casos esperados.

Os desafios, tanto em área endémica como fora dela, relacionam-se com a necessidade duma melhor compreensão da imunologia e fisiopatologia da doença, de melhores métodos de diagnóstico e de evidências mais robustas sobre o manuseio dos doentes, incluindo a disponibilização de melhores fármacos antiparasitários.

Ainda que o contexto dos países endémicos não seja comparável ao dos países não-endémicos em termos da dimensão do problema e dos recursos disponíveis para lidar com ele, a globalização da doença de Chagas, trouxe, a nosso ver, a possibilidade de lidar com os desafios relacionados com esta patologia de forma colaborativa à escala global. De momento, as consequências mais evidentes desta globalização são uma maior visibilidade e um aumento no grau de alerta dos profissionais de saúde sobre esta doença. A experiência e o “know-how” dos investigadores, profissionais e estruturas de saúde dentro e fora das áreas endémicas estão a ser partilhados à escala mundial, o que irá tendencialmente resultar em mais e melhores instrumentos técnicos para, em associação com o combate à pobreza e à exclusão social, erradicar esta doença num futuro próximo.

Bibliografia

- Ayo, C. *et al.*, 2013. Genetic Susceptibility to Chagas Disease: An Overview about the Infection and about the Association between Disease and the Immune Response Genes. *BioMed Research International*. Volume 2013, Article ID 284729
<http://dx.doi.org/10.1155/2013/284729>
- Basile, L. *et al.*, 2011. Chagas disease in European countries: the challenge of a surveillance system. *Eurosurveillance*, 16(37), pp.1-10.
- Chagas Disease Europe Working Group, informação pessoal, 2013.
- Cook, G.C. & Zumla, A.I., 2009. *Manson's Tropical Diseases* 22nd ed. Cook & Zumla, ed., China: Saunders Elsevier.
- Comissão das Comunidades Europeias, 2006. Directiva 2006/17/CE da Comissão. *Jornal Oficial da União Europeia*, p.L 38/40.
- Cortez, J. *et al.*, 2012. Emerging and under-recognized Chagas cardiomyopathy in non-endemic countries. *World Journal of Cardiology*, 4(7), pp.234-239.
- Dias, E. *et al.*, 1956. Chagas' Disease; a Clinical, Epidemiologic, and Pathologic Study. *Circulation*, 14(6), pp.1035-60.
- Ferrão, A., Silva, M., Atouguia, J., Seixas, J., 2012. Estudo Piloto Sobre a Prevalência da Doença de Chagas em Grávidas Latino-americanas em Portugal – Tese de Mestrado. Instituto de Higiene e Medicina Tropical.
- Ferrão, A., Silva, M., Atouguia, J., Seixas, J., Em preparação. Estudo Piloto Sobre a Prevalência da Doença de Chagas em Grávidas Latino-americanas em Portugal.
- Flores-Chávez, M. *et al.*, 2007. Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas importada. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 25(Supl. 3), pp.29-37.
- Flores-Chávez, M. *et al.*, 2008. Fatal congenital Chagas' disease in a non-endemic area: a case report. *Cases Journal*, 1.
- Flores-Chávez, M. *et al.*, 2009. Comparación de técnicas serológicas convencionales y no convencionales para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas importada en España. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(5), pp.284-93.
- Fondation Mérieux & World Health Organization, 2008. *Focus on Neglected Tropical Diseases: Chagas Disease a Public Health Threat in the Americas & Beyond*, Veyrier du Lac.
- Gascon, J., Bern, C. & Pinazo, M.-J., 2009. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta tropica*, 115(1-2), pp.22-27.
- Generalitat de Catalunya - Departament de Salut, 2010. *Protocol de cribatge i diagnòstic de malaltia de Chagas en dones embarassades llatinoamericanes i en els seus nadons*, Barcelona.
- Góis, P., Marques, J.C. & Padilla, B., 2009. Segunda ou terceira vaga? As características da imigração brasileira recente em Portugal. *Revista Migrações*, 5, pp.111-133.
- Guerra-Guttenberg, R.A. *et al.*, 2008. Chagas cardiomyopathy: Europe is not spared! *European Heart Journal*, 29(21), pp.2587-2591.
- Instituto Nacional de Estatística, 2010. *Revista de Estudos Demográficos* Instituto Nacional de Estatística, ed., Lisboa.
- Internet: <http://www.bernice-project.eu/>. Acedido em 9.10.2013.
- Jackson, Yves *et al.*, 2009. Congenital Transmission of Chagas Disease in Latin American Immigrants in Switzerland. *Emerging Infectious Diseases*, 15(4), pp.601-603.
- Junior, A.R., Rassi, S.G. & Rassi, A., 2001. Sudden death in Chagas' disease. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 76(1), pp.86-96.
- Laranja, Francisco S., Dias, Emmanuel & Nobrega, Genrad, 1948. Clínica e terapêutica da doença de Chagas. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 46(2), pp.473-529.
- Maudlin, I., Holmes, P.H. & Miles, Michael A., 2004. *The Trypanosomiasis*, 1st ed. CABI Publishing, ed., Trowbridge: Cromwell Press.
- Marin-Neto, J. Antonio *et al.*, 2009. The BENEFIT trial: testing the hypothesis that trypa-
- nocidal therapy is beneficial for patients with chronic Chagas heart disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(June Suppl. 1), pp.319-324.
- Molina, I. *et al.*, 2012. Evaluación de Posaconazol como nuevo agente contra la enfermedad de Chagas. *VIII taller sobre la enfermedad de Chagas importada*, Avances en el tratamiento antiparasitario, pp.21-22.
- Nisida, I.V. *et al.*, 1999. A Survey of Congenital Chagas' Disease, carried out at Three Health Institutions in São Paulo City, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 41(5), pp.305-311.
- Otani, M.M. *et al.*, 2009. WHO comparative evaluation of serologic assays for Chagas disease. *Transfusion*, 49(6), pp.1076-1082.
- Pérez-Molina, J.A. *et al.*, 2009. Use of benzimidazole to treat chronic Chagas' disease: a systematic review with a meta-analysis. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 64(6), pp.1139-47.
- Piron, M. *et al.*, 2008. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in at-risk blood donors in Catalonia (Spain). *Transfusion*, 48(9), pp.1862-1868.
- Queirós, L. *et al.* 2010. Estudo Epidemiológico da Doença de Chagas em Dadores de Sangue. *ABO*, 41, pp.29-34.
- Rassi, A. & Marin-Neto, José Antonio, 2010. Chagas disease. *Lancet*, 375(9723), pp.1388-1402.
- Reiche, E.M.V. *et al.*, 1996. Doença de Chagas congênita : epidemiologia , diagnóstico laboratorial , prognóstico e tratamento. *Jornal de Pediatria*, 72(3), pp.125-132.
- Rueda, A.B. *et al.*, 2009. *Enfermedad de Chagas Importada. Protocolo de Actuación en la Comunitat Valenciana* Generalitat Valenciana - Conselleria de Sanitat, ed., Valencia.
- Serviço de Estrangeiros e Fronteiras, 2012. *Relatório de Imigração Fronteiras e Asilo*, Oeiras.
- Shikanai-Yasuda & Carvalho 2012. Oral Transmission of Chagas Disease. *Emerging Infections*, 2012:74, pp.845-852.
- Sicuri, E. *et al.*, 2011. Economic evaluation of Chagas disease screening of pregnant Latin American women and of their infants in a non endemic area. *Acta tropica*, 95 118(2), pp.110-117.
- Torrico, F., 2011. Rationale and design of a proof-of-concept phase II clinical study of E1224, a new drug candidate for chronic Chagas disease. *Tropical Medicine & International Health*, 16(Suppl. 1), pp.21-22.
- Velarde-Rodríguez, M. *et al.*, 2009. Need for comprehensive health care for *Trypanosoma cruzi* infected immigrants in Europe. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42(Sup. II).
- Villar JC, Villar LA, Marin-Neto JA, Ebrahim S, Yusuf S. Trypanocidal drugs for chronic asymptomatic *Trypanosoma cruzi* infection. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2002, Issue 1. Art. No.: CD003463. DOI: 10.1002/14651858.CD003463.
- Viotti, R. *et al.*, 2011. Impact of aetiological treatment on conventional and multiplex serology in chronic Chagas disease. *PLoS neglected tropical diseases*, 5(9), p.e1314.
- Wilson, L.S. *et al.*, 2008. Cost-effectiveness of implementation methods for ELISA serology testing of *Trypanosoma cruzi* in California blood banks. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 79(1), pp.53-68.
- WHO Expert Committee, 2002. *Control of Chagas Disease*, Geneva.
- World Health Organization, 2007. *Reporte sobre la enfermedad de Chagas*, Buenos Aires.
- World Health Organization, 2008. *Chagas disease : control and elimination Report of the Secretariat*, Geneva.
- World Health Organization, 2009b. *Control and prevention of Chagas disease in Europe*, Geneva.
- World Health Organization, 2010. *Chagas disease : control and elimination*, Geneva.
- World Health Organization, 2011. *Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases*, Geneva.