



**PROGRAMA DE APRIMORAMENTO
PROFISSIONAL**

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE RECURSOS HUMANOS



ALANA FELIX DA CONCEIÇÃO

**PREVALÊNCIA DA COINFECÇÃO *TRYPANOSOMA CRUZI*/HIV NO HOSPITAL
DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

RIBEIRÃO PRETO

2017



PROGRAMA DE APRIMORAMENTO PROFISSIONAL

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE RECURSOS HUMANOS



ALANA FELIX DA CONCEIÇÃO

Trabalho científico apresentado ao Programa de Aprimoramento Profissional/CRH/SES-SP e FUNDAP, elaborada no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade De São Paulo – USP/ Departamento de Apoio Médico (DAM)

Área: Imunologia Aplicada / Sorologia

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Santana

Supervisor Titular e Co-orientador: David Falango

RIBEIRÃO PRETO

2017

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo na publicação

Serviço de Biblioteca e Documentação

Programa de Aprimoramento Profissional- Secretaria de Estado da Saúde.

CONCEIÇÃO, Alana Felix da.

Prevalência da coinfeção *Trypanosoma cruzi*/ HIV no hospital das clínicas da faculdade de medicina de ribeirão preto da universidade de São Paulo

Trabalho científico apresentado ao Programa de Aprimoramento Profissional da Secretaria de Estado da Saúde, Programa e Imunologia Aplicada/ Sorologia.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Santana

LISTA DE FIGURAS

- Figura .1** Vírus da Imunodeficiência Humana
- Figura .2** Divisão Filogenética do HIV
- Figura .3** Morfologia de **A.** Epimastigota e **B.** Tripomastigota.
- Figura .4** Trypanosoma cruzi.
- Figura .5** Esquema representativo do ciclo do *T. cruzi*.
- Figura .6** Os três gêneros mais comuns de *Triatominae* conforme a implantação das antenas.
- Figura .7** Imunofluorescência indireta.
- Figura .8** Princípio da Hemaglutinação
- Figura .9** Estado de naturalidade dos pacientes com coinfeção *T. cruzi*/
HIV sem reativação da doença de Chagas atendidos no HCFMRP-USP
- Figura .10** Distribuição da faixa etária dos pacientes
- Figura .11** Forma clínica da doença de Chagas.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Idade, gênero, naturalidade e procedência dos pacientes com coinfeção *T.cruzi*/ HIV sem reativação da Doença de Chagas (grupo 1).

Tabela 2. Idade, gênero, naturalidade e procedência dos pacientes coinfectados por *T.cruzi*/HIV que apresentaram reativação da DC (grupo 2).

Tabela 3. Comparação entre gênero e média de idades entre os grupos 1 e 2.

Tabela 4. Contagem de Linfócitos CD4⁺ em pacientes coinfectados sem reativação da DC (Grupo 1) e com a reativação (Grupo 2).

Tabela 5. Carga viral em pacientes coinfectados sem reativação da DC (Grupo 1) e com a reativação (Grupo 2).

Tabela 6. Número e forma clínica da reativação da DC em pacientes com coinfeção *T. cruzi*/HIV

LISTA DE SIGLAS

Aids/ Sida	Acquired Immunodeficiency Syndrome
CMIA	Imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência
DC	Doença de Chagas
HCFMRP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
HAI	Hemaglutinação Indireta
HIV	Human Immunodeficiency Virus (ou Vírus da Imunodeficiência Humana)
IFI	Imunofluorescência Indireta
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
MC	Meningoencefalite Chagásica
OMS	Organização Mundial da Saúde
SNC	Sistema Nervoso Central

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
1.1. HIV.....	10
1.1.1 O vírus.....	10
1.1.2 Transmissão.....	11
1.1.3 História natural.....	12
1.1.4 Epidemiologia.....	13
1.2. Doença de Chagas.....	14
1.2.1. O protozoário	14
1.2.2. Transmissão.....	15
1.2.3. História Natural.....	19
1.3. Coinfecção <i>T. cruzi</i> / HIV.....	20
1.4. Reativação da doença de chagas na coinfecção <i>T. cruzi</i> /HIV.....	20
2. OBJETIVOS.....	23
2.1. Objetivo	
Geral.....	23
2.2. Objetivos	
Específicos.....	23
3. MATERIAIS E MÉTODOS	
3.1. Características do estudo e coleta de dados.....	24
3.2. Metodologia utilizada no diagnóstico laboratorial.....	24
3.2.1. Diagnóstico laboratorial na doença de chagas.....	25
3.2.2. Imunofluorescencia Indireta (IFI).....	25
3.2.3. Hemaglutinação Indireta (HAI).....	25
3.2.4. Ensaio de micropartículas e quimiluminescência (CMIA).....	27

3.2.4.1. Chagas.....	27
3.2.4.2. HIV.....	27
3.2.5. Immunoblotting.....	28
4. RESULTADOS.....	29
5. DISCUSSÃO.....	35
6. CONCLUSÃO.....	36
7. REFERÊNCIAS.....	37

1. INTRODUÇÃO

1.1. HIV

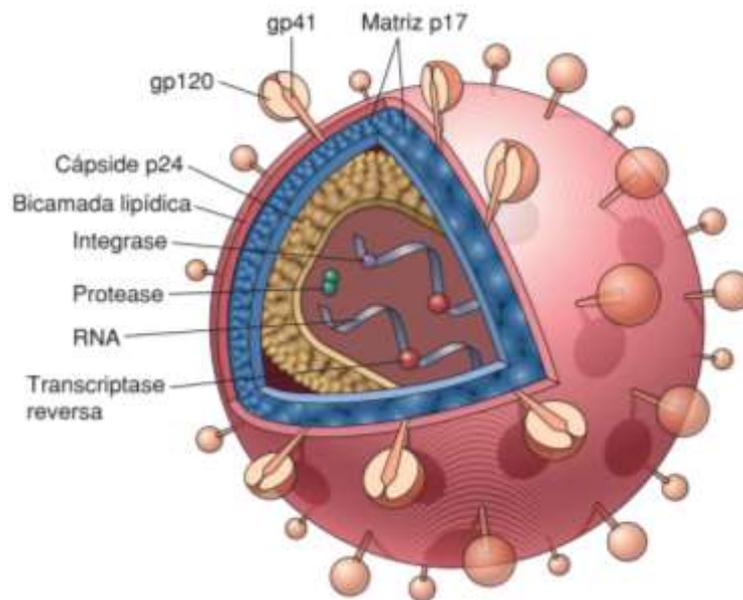
1.1.1. O vírus

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) causador da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS/SIDA), trata-se de um retrovírus do gênero Lentivírus. Descoberto em 1983, o vírus possui estrutura esférica, centralmente um cápside em formato de cone, constituído de proteína p24, contendo o material genético, duas cópias de RNA, e enzimas: transcriptase reversa, integrase e protease. Sobre o cápside situa-se uma matriz composta por proteína p17 e exteriormente a ela o envelope viral, derivado da membrana do hospedeiro. Na superfície do envelope despontam glicoproteínas virais, como a gp120 e a gp41 (Mandell, ; Robbins) **Figura 1.** O genoma viral, com cerca de 10 kb, é composto pelos principais genes estruturais *pol*, *gag* e *env*, possuindo também genes adicionais que não codificam proteínas de sua estrutura, o que foi observado pela primeira vez no retrovírus HTLV- I. O gene *env*, codifica uma proteína de 160 kD, que sofre clivagem e origina as proteínas gp41 (transmembrana) e gp120 (de superfície); *gag* codifica a matriz protéica e *pol* as enzimas transcriptase reversa, protease e integrase. Além dos 9 genes, há duas regiões reguladoras chamadas LTR (Long Terminal Repeats) (Barreto; Sabino; Sanabani, 2009).

Os retrovírus apresentam maior variabilidade genética, o que se deve, em parte, ao fato da enzima transcriptase reversa ser propensa a erros (Mandell,). Na infecção pelo HIV pode ser encontrado um grande número de variantes em um mesmo indivíduo, superior a 10% (PINTO; STRUCHINER, 2006) resultado, também, da pressão seletiva exercida pelo sistema imune do hospedeiro (ARRUDA, 2014). Essa variabilidade atinge principalmente regiões das glicoproteínas do envelope, ou seja, a sequência do gene *env* é mais variável que *gag* e *pol*(ALIZON; FRASER, 2013). O vírus pode ser dividido em dois tipos, HIV-1 e HIV-2, sendo o segundo restrito ao continente africano, sua clínica é marcada pela evolução mais lenta da imunodepressão. Pela análise filogenética o HIV-1 se diferencia em 4 grupos: M (major), com 9 subtipos A-D, F-H, J e K; O (extremo) e N (não M, não O) e P,

resultantes de 4 eventos distintos de transmissão para humanos, 3 por chimpanzés e 1 por gorila(MAARTENS; CELUM; LEWIN, 2014).

Figura 1. Vírus da Imunodeficiência Humana



Fonte: ABBAS *et al.*, 2010.

1.1.2. Transmissão

O vírus HIV, causador da AIDS, é encontrado em sangue, sêmen, secreção vaginal e leite materno. A forma de contágio é principalmente sexo desprotegido e também por transmissão vertical, uso compartilhado de seringa ou agulha contaminada; transfusão de sangue contaminado e acidente com instrumentos perfuro-cortantes contaminados.

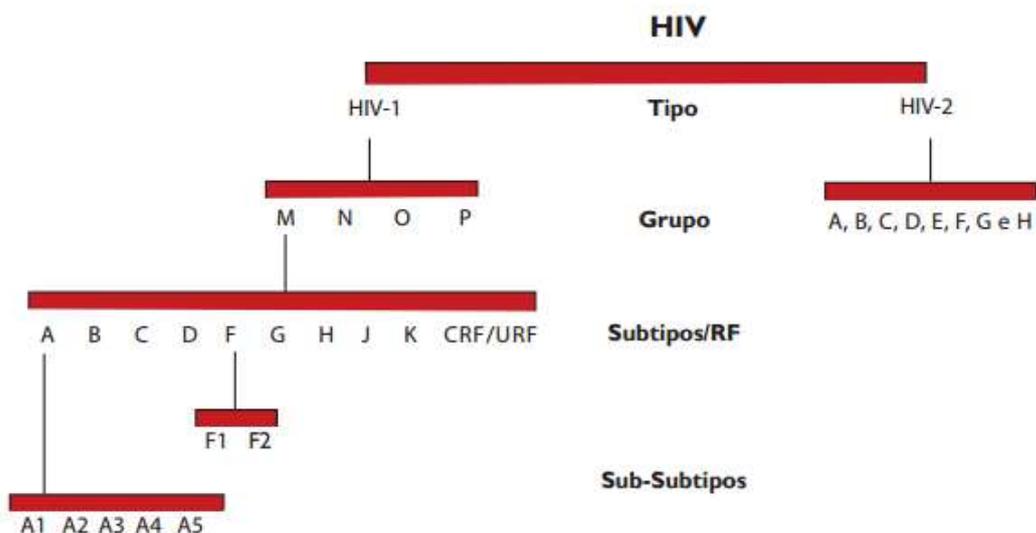
O fator que mais aumenta o risco de transmissão sexual do HIV-1 é o número de cópias de RNA do HIV por mL de plasma (carga viral), com acréscimo do risco de transmissão de 2 a 4 vezes por cada \log_{10} . Outros fatores importantes são as doenças sexuais, gravidez e recebimento de sexo anal, muitos parceiros sexuais e

parceiros concomitantes. O uso de preservativo é muito efetivo na prevenção, diminui o risco em 78%(MAARTENS; CELUM; LEWIN, 2014).

1.1.3. História Natural

O vírus presente na corrente sanguínea invade células T CD4+, monócitos/macrófagos e células dendríticas, pois essas células apresentam a molécula CD4 e os receptores de quimiocina CCR5 ou CXCR4, que atuam como co-receptores. Infecção independente de CD4 ocorre em astrócitos e células do epitélio renal, o que justifica a desordem neurocognitiva e a nefropatia associadas ao HIV.

Figura 2. Divisão Filogenética do HIV.



Fonte: Boletim epidemiológico, 2015.

A síndrome da imunodeficiência adquirida é caracterizada pelo surgimento de sintomas como doenças oportunistas, associada à diminuição do número de linfócitos T e presença de células CD4+ (T helper ou monócito/macrófago) com o vírus latente. A Aids passou a ser uma doença de notificação compulsória a partir da publicação da Portaria nº 542 de 22 de dezembro de 1986. A definição de caso de AIDS no início da epidemia baseava-se inicialmente apenas na presença de doenças oportunistas, em decorrência da não existência de testes para o

diagnóstico. Em 1985 o teste sorológico disponível passou a ser fundamental para a definição de caso. Em 1992 foi introduzido o critério Rio/Caracas que se baseava na soma de pontos atribuídos a sinais e sintomas. No ano de 1998, a definição de caso de AIDS foi revisada, e passou a ser baseada também na quantificação de linfócitos CD4⁺, sendo considerada a síndrome em pacientes com contagem inferior a 350 células/mm³.

As doenças oportunistas em pacientes com Aids atingem principalmente o trato gastrointestinal e o sistema nervoso central. No SNC, destacam-se infecções por fungos, como *Cryptococcus neoformans* e *Histoplasma capsulatum*, micobactérias e protozoários, como o *Toxoplasma gondii*. Embora com menor frequência, o *Trypanosoma cruzi* também é descrito como agente oportunista em transplantados e pacientes com AIDS (ROSSI SPADAFORA et al., 2014). As doenças oportunistas que atingem o SNC são condições definidoras de AIDS, devido a sua correlação com alta mortalidade (TAN et al., 2012).

1.1.4. Epidemiologia

Desde 1980 até junho de 2016 foram notificados no Brasil 842.710 casos de aids, com média, nos últimos 5 anos, de 41,1 mil casos notificados por ano e uma taxa de detecção média de 20,7 casos/100 mil habitantes. Observa-se uma maior concentração nas regiões Sudeste e Sul, correspondendo cada qual a 53,0% e 20,1% do total de casos. No Brasil a incidência é maior em homens (65,1%) do que em mulheres (34,9%). As taxas de detecção de aids em homens nos últimos dez anos têm apresentado tendência de crescimento; entre as mulheres, observa-se tendência de queda dessa taxa nos últimos dez anos. Quanto à faixa etária, os indivíduos com idade entre 25 e 39 anos predominam para ambos os sexos.

Entre os indivíduos menores de 13 anos, 93,0% teve como via de infecção a transmissão vertical, enquanto indivíduos com 13 anos ou mais têm a via sexual como a principal, nos dois gêneros. No grupo masculino, a maioria teve exposição heterossexual, porém a parcela de homens que fazem sexo com homens (HSH) vem aumentando, passou de 35,3% em 2006 para 45,4% em 2015. Segundo MAARTENS (2014), a causa da epidemia em HSH é complexa e inclui aumento do

comportamento de risco depois da introdução da terapia antiretroviral efetiva, o que se chama de otimismo terapêutico, além do alto risco de transmissão através do recebimento de sexo anal, redes de relacionamento sexual associada a comportamento de risco, e estigma restringindo acesso ao tratamento.

Desde o início da epidemia de AIDS foram registrados 303.353 óbitos com a AIDS como causa básica (CID10: B20 a B24), sendo 60,3% oriundos da região sudeste. Nos últimos 10 anos tem se observado queda nas taxas de óbito nas regiões sudeste (-20,7%) e sul (-9,9%), enquanto as regiões norte, nordeste registraram aumentos de 56,2% e 34,3% respectivamente (Boletim Epidemiológico, 2016).

1.2. Doença de Chagas

A doença de Chagas, descrita pelo médico sanitário Carlos Justiniano das Chagas em 1909, é considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) uma das doenças mais negligenciadas. Caracteriza-se por uma infecção parasitária com fase aguda, marcada por alta parasitemia, e fase crônica, com baixa parasitemia. Por estar presente desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina é também chamada tripanossomíase americana. Sua maior concentração nessa área deve-se à presença do vetor, inseto hematófago triatomíneo, principal responsável pela transmissão do protozoário causador da doença, mesmo após grande diminuição resultante de medidas de controle (Perez-Ramirez et al. 1999).

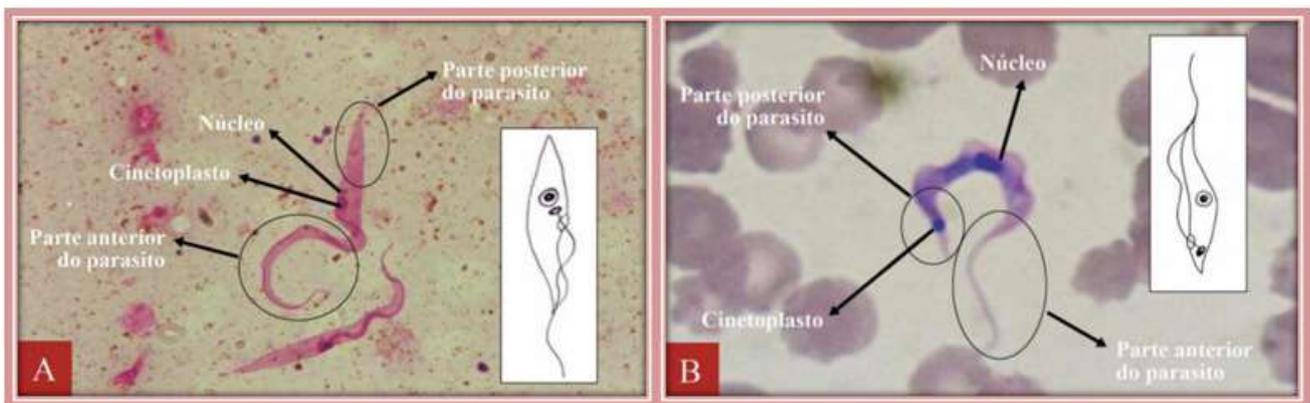
1.2.1. O protozoário

O protozoário flagelado *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* é classificado na família Trypanosomatidae, especificamente na sessão Stercoraria, por desenvolver-se no tubo digestivo de seu vetor e ser transmitido através de suas fezes. (Ferreira-Ávila, 20). O parasito é infectante na forma de tripomastigota. Encontrada no sangue periférico de mamíferos infectados, com 10 a 25 µm, a forma tripomastigota tem um flagelo único originado próximo ao cinetoplasto, complexo mitocondrial, que é grande e redondo, e se localiza próximo a extremidade posterior. O flagelo

acompanha todo o corpo (membrana ondulante) e se estende por fora do corpo como uma estrutura livre. A membrana ondulante e a porção livre garantem mobilidade ao corpo.

Costuma-se descrever dois tipos morfológicos polares do *T. cruzi*, entre os quais podem existir formas intermediárias. São elas, as formas finas e largas. A forma fina tem extremidades longas e delgadas, onde se destaca o cinetoplasto, o núcleo é longo e estreito e com grânulos frouxamente reunidos. As formas largas, são recurvadas em c ou U, ou duplamente curvada em s. Tem cinetoplasmo muito próximo da extremidade posterior, núcleo redondo ou elipsóide, membrana ondulante visível e flagelo longo. As formas finas desaparecem da circulação por penetrarem nas células teciduais ou por serem atingidas pela reação imunológica. A forma larga persiste no sangue por mais tempo, devido a sua resistência aos mecanismos imunes, até mesmo a fagocitose, sendo muito infectantes para os triatomíneos. Do sangue, os tripomastigota invadem células do hospedeiro, especialmente as do SFM, as fibras estriadas, tanto cardíacas como as esqueléticas, fibras musculares lisas e as células nervosas.

Figura 3. Morfologia de **A.** Epimastigota e **B.** Tripomastigota.

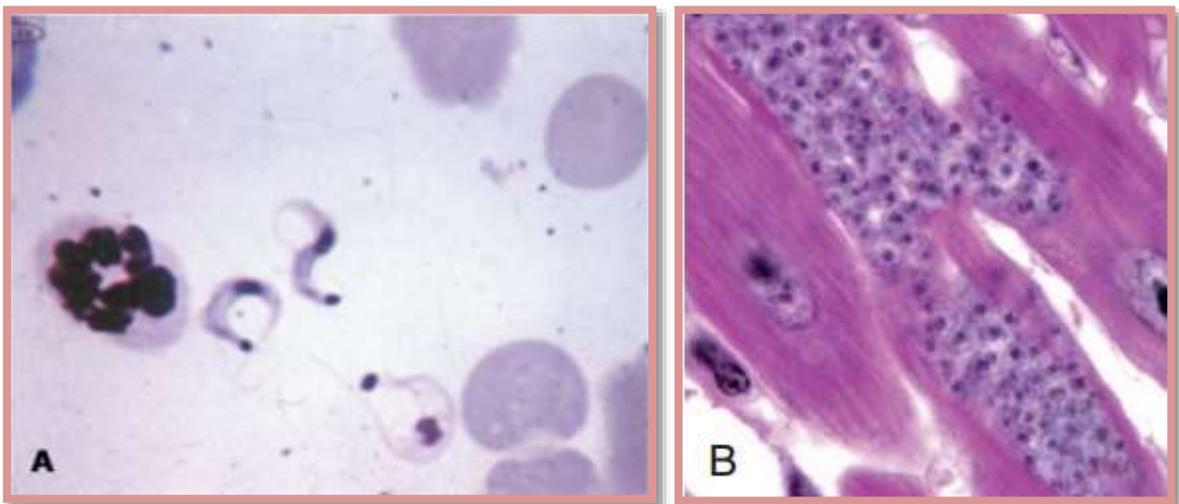


Fonte: Junqueira *et al.*, 2011.

O parasito internalizado na célula fica em um vacúolo digestivo, do qual escapa para permanecer no citoplasma. Há então uma mudança estrutural, onde o parasita assume uma forma ovóide de 4 μm chamada amastigota. Essa forma não

apresenta membrana ondulante ou flagelo, e seu movimento é de rotação. Por divisão binária, ocorre a multiplicação das formas até que a célula parasitada se rompa, expondo os parasitas ao meio externo, o que os induz a voltar a forma de tripomastigota que invadirá outras células recomeçando o ciclo. Os tripomastigotas circulantes quando ingeridos por triatomíneo, evoluem em seu estômago para esferomastigota, que origina posteriormente a epimastigota, forma flagelada, com cinetoplasma anterior próximo ao núcleo. Esses epimastigotas multiplicam-se por divisão binária. Parte desses migra para o intestino posterior e se diferencia em tripomastigotas metacíclicos.

Figura 4. *Trypanosoma cruzi*: **A.** Tripomastigota em esfregaço corado por Giemsa, aumento 625x. **B.** Amastigotas em miócitos, corado por hematoxilina e eosina.



Fonte: adaptado de Mandell, 2015.

1.2.2. Transmissão

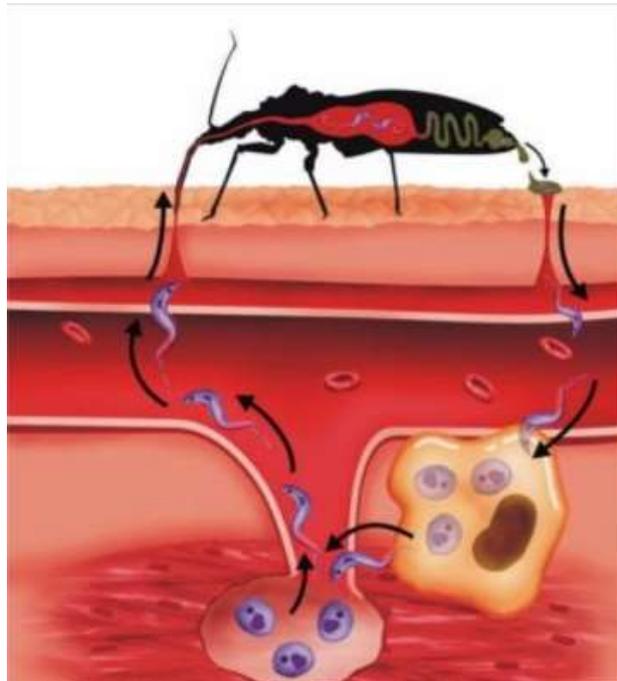
A transmissão vetorial é a de maior importância. O tripanosoma metacíclico presente nas fezes do vetor (inseto triatomíneo) é capaz de penetrar mucosas e conjuntivas. A pele íntegra não pode ser atravessada por ele, então o local da picada, ou ferimentos decorrentes do ato de coçar causado por alergia à saliva do inseto, pode favorecer a sua entrada. O vetor é o hemíptero (hematófago obrigatório) da família *Reduviidae*, subfamília *Triatominae*, conhecido como barbeiro,

bicudo, chupanças, procotós etc. Algumas espécies são mais eficientes na transmissão da DC do que outros, devido a sua maior antropofilia, capacidade de domiciliação e tempo entre repasto sanguíneo e defecação. *Triatoma infestans* e *Rhodnius prolixus* tem essas características. Tais espécies se adaptaram ao domicílio ou às áreas peridomiciliares (galinheiro, pombal, chiqueiro, canil, paiol, pilhas de tijolos, etc.), vivendo em contato com animais domésticos e humanos, mas a maioria ainda vive em áreas silvestres (ninhos de gambás, ninho de aves, cascas soltas de árvores), em contato com seus reservatórios (Neves, 2009; Rey,). Os reservatórios, são pequenos mamíferos silvestres, no ciclo silvestre, e o homem e pequenos mamíferos domésticos (cães, gatos), no ciclo domiciliar.

A relação entre parasita e vetor existe há milhões de anos, em um ciclo enzoótico envolvendo animais silvestres. Hoje o *T. cruzi* não causa dano ou lesões ao inseto triatomíneo, ou à maioria dos animais silvestres infectados, pois a interação entre espécies tende ao equilíbrio e estabilidade. A introdução do homem nesse ciclo ocorreu mais recentemente; a ocupação das Américas, onde o ciclo enzoótico ocorria, data de menos de 50 mil anos e os primeiros contatos com o parasito se deu há 6 mil anos, com o início da agricultura e domesticação de animais. O intenso desmatamento em prol da agricultura e o afastamento dos animais selvagens nos últimos séculos, obrigou o triatomíneo a se adaptar, usando as regiões peridomiciliares e domiciliares como refúgio e se alimentando do sangue de humanos e animais domésticos (Coura e Borges-Pereira, 2010). A transmissão da doença de Chagas na Região Amazônica apresenta peculiaridades. Não há vetores que colonizem o domicílio e os mecanismos de transmissão conhecidos compreendem a via oral, a via vetorial com transmissão extradomiciliar, e a via vetorial domiciliar ou peridomiciliar sem colonização do vetor (BRUM-SOARES et al., 2010).

Outras vias de transmissão são oral, transfusão de sangue, transmissão congênita, transplante de órgãos de um doador contaminado e mais raramente acidente laboratorial. A transmissão transfusional ganhou grande importância epidemiológica em função da migração de indivíduos infectados para os centros urbanos e da ineficiência no controle das transfusões, em 3 aspectos: transfusões indicadas sem necessidade, indicação inadequada de componente da transfusão, triagem sorológica ausente ou de baixa qualidade.

Figura 5. Esquema representativo do ciclo do *T. cruzi*.



Fonte: Junqueira *et al*, 2011.

Figura 6. Os três gêneros mais comuns de *Triatominae* conforme a implantação das antenas. *Panstrongylus* (antenas junto aos olhos), *Triatoma* (antenas emergem entre dos olhos e o clipeo), e *Rhodnius* (antenas emergem junto ao clipeo).



Fonte:

1.2.2. História natural

A DC tem um período de latência de 7 a 10 dias após a contaminação vetorial, que pode ser mais longa na contaminação transfusional. Após a latência há a fase aguda, que geralmente se resolve espontaneamente em 3 a 8 semanas, pode ser assintomática ou ter sintomas inespecíficos, como febre, mal-estar, linfadenopatia, e quando de origem vetorial, o chagoma de inoculação pode ser observado. Em seguida observa-se uma fase crônica indeterminada, que pode durar anos ou a vida toda sem sintomas. Cerca de 30% dos pacientes evolui para fase crônica sintomática após anos ou décadas da infecção, e passa a apresentar acometimento cardíaco, digestivo (megaesôfago/megacolon) ou ambos, na forma mista. Não há registro de cura parasitológica espontânea ou em decorrência do tratamento nas etapas determinadas.

A forma crônica cardíaca é tem o maior impacto de morbimortalidade. Há o progressivo comprometimento do órgão por ação direta do parasita, e lesões inflamatórias, desnervação, entre outros, levando à insuficiência cardíaca, ou causando morte súbita por arritmia grave. São conseqüências principais arritmias, insuficiência cardíaca congestiva e tromboembolismo. Os sintomas mais comuns são palpitações, dispnéia, sensação de vertigem e tontura. Na forma digestiva, há desnervação parassimpática intrínseca, resultante das lesões inflamatórias crônicas no plexo mioentérico do SNC, causando hipertrofia muscular e hiperplasia da mucosa, ambas responsáveis pelas visceromegalias (megaesôfago e megacolon) na fase crônica da infecção. As lesões atingem principalmente esôfago e cólon terminal, porções que trabalham conteúdos mais sólidos, ocorrendo além das alterações anatômicas e motoras, de absorção e secreção. O sintoma fundamental da esofagopatia é a disfagia, outros sintomas são a dor ao engolir e soluço. O diagnóstico da esofagopatia é basicamente clínico e radiológico, podendo ser completado por endoscopia peroral, provas farmacológicas e registros da atividade motora. A colopatia é relativamente freqüente entre chagásicos idosos, e é a forma clínica de maior gravidade, depois da cardiopatia crônica, causando extremo desconforto e morte em muitos pacientes que desenvolvem volvo do sigmóide. Tem como sintoma principal a obstipação, e também pode apresentar meteorismo, e a

disquezia. Ferreira. Outros acometimentos menos freqüentes são a dilatação de outros segmentos, como duodeno, estômago, intestino delgado e parótidas.

Estima-se que existam na América Latina entre 12 e 14 milhões de indivíduos chagásicos, e 75 a 90 milhões de pessoas sob o risco de adquirir a doença. Essa situação traz como possibilidade a ocorrência de comorbidades ou coinfeções, dentre elas a infecção por HIV e por *T. cruzi*.

1.3. Coinfecção *T. cruzi*/ HIV

A migração da população rural para áreas urbanas em busca de melhores condições de vida fez com que a epidemia basicamente rural atingisse as cidades. A transmissão através de transfusão sanguínea colaborou para o aumento de infectados. Com o advento do HIV houve o encontro das duas epidemias nas cidades, e surgiram os relatos de coinfeção. O diagnóstico da coinfeção baseia-se na presença das duas doenças no indivíduo, independente da forma clínica que a doença de Chagas assume. Porém, o assunto não tem recebido a devida atenção da comunidade científica, estando ainda desconhecida a freqüência em que ocorre.

1.4. Reativação da doença de chagas na coinfeção *T. cruzi*/HIV

Em casos de imunossupressão o *T. cruzi* se comporta como agente oportunista, podendo afetar seriamente pacientes imunossuprimidos, como transplantados, indivíduos com câncer e com o advento da AIDS a infecção primária ou reativação da DC também atinge indivíduos coinfectados. Os primeiros relatos de reativação da DC em pacientes coinfectados por HIV datam da década de 80, apesar disso ainda é uma condição que não foi totalmente esclarecida. No Brasil, a partir de 2004, a reativação da doença de chagas passou a ser considerada uma das condições definidoras de Aids (STAUFFERT et al., 2016) e o ministério da saúde aconselha dosar nos pacientes HIV positivos anticorpos anti-*T. cruzi*. O Brasil é o país com mais casos de reativação notificados, seguido pela Argentina, apesar de ser uma doença subdiagnosticada e subnotificada.

A reativação se apresenta com sintomas de fase aguda, queda do estado geral, febre, hepatoesplenomegalia, linfonomegalia e sintomas específicos do órgão afetado, principalmente meningoencefalite e miocardite (SARTORI et al., 2002; ALMEIDA et al., 2015). Um dos critérios clínicos que caracterizam a reativação é a verificação da DC em tecidos em que ela não é encontrada comumente na fase crônica (ALMEIDA et al., 2009). Mais raramente, há casos de manifestações como mielite, peritonite, colpíte e eritema nodoso. Indicadores da reativação são, além do aumento da parasitemia, contagem de CD4⁺ menor que 200 cels/mm³ e carga viral alta, embora nem sempre sejam verificados. A elevada taxa de mortalidade observada é decorrente do diagnóstico tardio e da acentuada imunossupressão (CORDOVA et al., 2008).

A reativação da DC no SNC tem quadro sintomático inespecífico, como cefaléia progressiva, hipertensão intracranial, déficits motores localizados. Pode se apresentar como meningoencefalite ou como chagoma, uma lesão massiva. Em exames de tomografia, as lesões hipodensas, únicas ou múltiplas, observadas assemelham-se às lesões encontradas em casos linfoma primário de SNC, e na neurotoxoplasmose, que é o principal diagnóstico diferencial (BUCCHERI et al., 2015; LAZO et al., 1998). Como a meningoencefalite chagásica (MC) é fatal quando não tratada, é importante que pacientes com HIV apresentando achados tomográficos e clínicos indicativos de meningoencefalite com sorologia negativa para *Toxoplasma gondii*, e pacientes em tratamento empírico para neurotoxoplasmose sem melhoras na clínica nos exames de imagem após 10-14 dias, sejam reavaliados (BUCCHERI et al., 2015). O diagnóstico da MC é feito através da observação do *T. cruzi* no líquido cefalorraquidiano, por microscopia direta. Segundo Novaes e Yasuda (2015, p.) outros achados laboratoriais no LCR são pleocitose discreta com a presença de linfócitos e monócitos, glicorraquia normal ou levemente diminuída e níveis de proteína com aumento leve ou médio.

As lesões encontradas na meningoencefalite toxoplasmática atingem também a substância cinza e núcleos da base, enquanto na chagásica parecem mais comuns na substância branca. Focos hemorrágicos podem simular tumores (KARP; AUWAERTER, 2007; LAZO et al., 1998). Em necropsias observa-se histologicamente lesões com hemorragia, necrose e infiltrado inflamatório, com abundância de amastigotas em células da glia.

A miocardite é a segunda forma mais freqüente de reativação, sendo na maioria das vezes concomitante a meningoencefalite (forma mista). Geralmente se manifesta silenciosamente, sendo identificada na necropsia. Quando sintomática, são comuns sintomas de insuficiência cardíaca e arritmias. O diagnóstico pode ser dificultado se confundido com a progressão natural da forma crônica cardíaca e com outros diagnósticos diferenciais que incluem a miocardite pelo próprio HIV, toxoplasmose, citomegalovirose e outras infecções por vírus herpes. A demonstração do parasito em biopsias podem facilitar o diagnóstico. Mais raros são casos de manifestações de reativação como mielite, peritonite e colpíte, eritema nodoso.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

- Determinar a prevalência da coinfeção *Trypanosoma cruzi*/HIV no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo no período entre 2001 e 2015, e descrever casos de reativação diagnosticados.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar casos confirmados de reativação da doença de Chagas em pacientes infectados pelo HIV
- Obter dados referentes a variáveis de pessoa (sexo, idade)
- Comparar dados demográficos e laboratoriais entre pacientes coinfectados por *T. cruzi*/HIV com e sem a reativação da DC.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Características do estudo e coleta de dados

O estudo foi conduzido no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Brasil. Este hospital, que está situado no município de Ribeirão Preto (21°12'42"S, 47°48'24"W), na região nordeste do estado de São Paulo, serve como referência para uma população de aproximadamente 3,5 milhões de habitantes. Através de um modelo retrospectivo foram analisados os prontuários médicos para a pesquisa.

Para o cálculo da prevalência da coinfeção *T. cruzi*/HIV foram avaliados os pacientes testados a partir de 2001, quando a pesquisa sorológica para a doença de Chagas era sistematicamente realizada, até março de 2014. Esses pacientes foram classificados como grupo 1. Para a identificação dos casos com reativação confirmada da infecção pelo *T. cruzi*, foram analisados os prontuários médicos no período compreendido entre 1994, quando houve o primeiro caso de reativação confirmada, e 2015, e esses pacientes foram alocados no grupo 2.

Os dados foram organizados e analisados no Programa Microsoft Excel. As análises foram realizadas comparando as informações obtidas para o grupo 1 e o grupo 2 quanto a faixa etária, gênero, contagem de CD4⁺, carga viral pelo teste de Kruskal-Wallis ou quando necessário o teste de Mann Whitney. As análises estatísticas foram realizadas no programa GraphPadPrism 6, com nível de significância fixado em $p < 0,05$.

3.2. Metodologia utilizada no diagnóstico laboratorial

A infecção pelo HIV foi definida pela positividade de um teste de triagem, realizado por ensaio imunoenzimático ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) até 2012 e por CMIA posteriormente, e pela confirmação por ELFA e Western blotting. Com relação ao diagnóstico da doença de Chagas, foram selecionados apenas os pacientes que apresentaram positividade em pelo menos dois testes sorológicos (CMIA, Reação de Imunofluorescência Indireta, Hemaglutinação Indireta).

3.2.1. Diagnóstico laboratorial na doença de chagas

O diagnóstico laboratorial da doença de Chagas é direcionado em função da fase da infecção em que se encontra o paciente. A fase aguda é caracterizada por parasitemia elevada, sendo favorável a utilização de exames parasitológicos diretos, que pesquisam o protozoário na amostra. A fase crônica é caracterizada por parasitemia baixa e inconstante, sendo necessária a utilização de métodos indiretos, como os exames sorológicos clássicos (ELISA, HAI e IFI), que evidenciam a resposta do sistema imunológico do paciente frente à infecção, através da dosagem de anticorpos. Em casos de sorologia duvidosa, métodos parasitológicos indiretos (xenodiagnóstico, hemocultura e PCR) podem ser utilizados, porém essas técnicas não são encontradas em laboratórios de rotina, estando restritas a centros de pesquisa. Em pacientes infectados por HIV com imunossupressão em nível avançado pode haver dificuldade de diagnóstico sorológico. (Luquetti & Ferreira capdiagch na coinfec). A reativação da DCH em casos de imunossupressão exige a utilização tanto de exames parasitológicos diretos quanto da sorologia para confirmação.

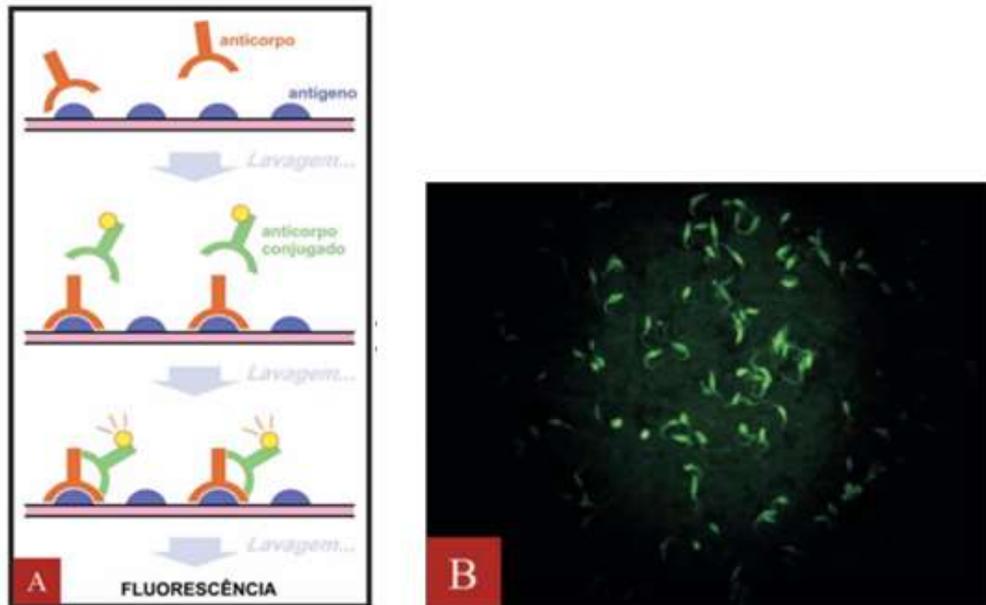
3.2.2. Imunofluorescência Indireta (IFI)

Anticorpos anti- *T. cruzi* presentes na amostra ligam-se a antígenos do *T. cruzi* aderidos a lâmina. Após lavagem, um conjugado anti-globulina humana marcado com Isotiocianato de Fluoresceína é adicionado à reação, marcando consequentemente, anticorpos específicos para *T. cruzi* presentes na placa. Após nova lavagem é realizada a leitura, em microscópio de fluorescência. A presença de fluorescência amarela-esverdeada caracteriza amostra reagente no exame.

3.2.3. Hemaglutinação Indireta (HAI)

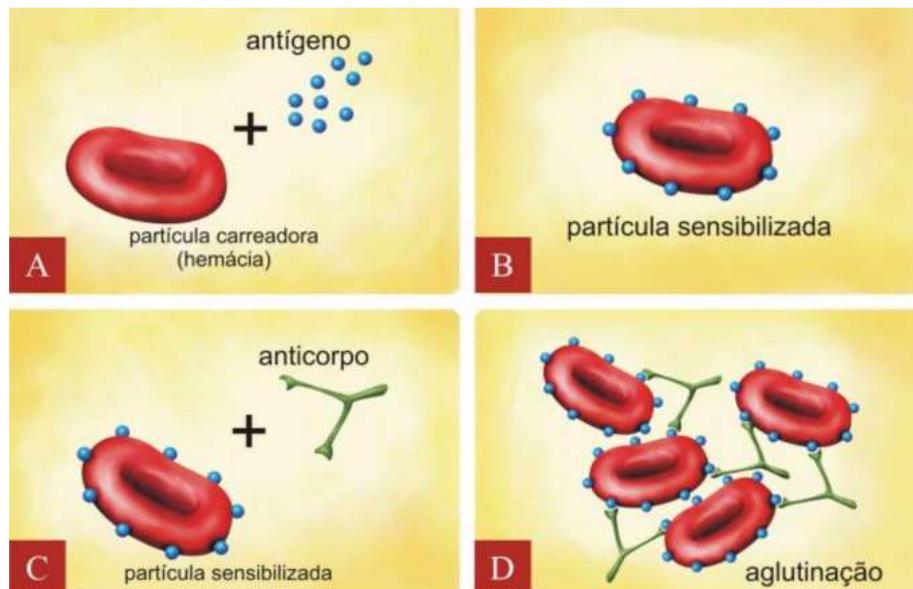
Eritrócitos de aves estabilizados, sensibilizados com componentes do *T. cruzi* purificados são colocados em contato com as amostras. A presença de anticorpos anti-*T. cruzi* no soro ou plasma gera uma aglutinação múltipla dos eritrócitos, fazendo com que se depositem no fundo da cavidade da placa utilizada de forma difusa, como um tapete. Na ausência de anticorpos, as hemácias se depositam como um botão compacto.

Figura 7. Imunofluorescência indireta: **A.** Princípio do método. **B.** Resultado de IFI positivo.



Fonte: figura adaptada de Junqueira *et al.*, 2011.

Figura 8. Princípio Hemaglutinação



Fonte: Junqueira *et al.*, 2011.

3.2.4. Ensaio de micropartículas por quimiluminescência (CMIA)

3.2.4.1. Chagas

O ensaio Abbott ARCHITECT Chagas, utilizado no presente trabalho, é um imunoensaio de dois passos que detecta qualitativamente anticorpos contra *T. cruzi* em soro ou plasma humanos. A tecnologia utilizada é a de CMIA: no primeiro passo micropartículas paramagnéticas revestidas por antígenos recombinantes de *T. cruzi* (FP3, FP6, FP10 e TcF) e o diluente são combinados à amostra. Os anticorpos presentes na amostra são capturados pelas partículas paramagnéticas, permanecendo na cuvete após a lavagem. Em seguida, o conjugado de anticorpos anti- IgG humana marcado com acridíneo é adicionado à reação. Após outro ciclo de lavagem, as soluções pré-ativadora e ativadora são adicionadas, e a quimiluminescência resultante é medida em unidades de luz reativas (RLU). O teste, segundo informações do fabricante, apresenta sensibilidade de 100,0% e especificidade de 99,89%.

3.2.4.2. HIV

O ensaio Abbott Architect HIV Ag/Ab Combo é um imunoensaio de dois passos, que, além de detectar a presença de anticorpos anti- HIV 1 e 2 também detecta a presença do antígeno HIV p24. No primeiro passo, micropartículas paramagnéticas revestidas por antígenos HIV -1 /HIV-2 e por anticorpos monoclonais contra p24 e o diluente são combinados à amostra. Os anticorpos presentes na amostra são capturados pelas partículas paramagnéticas contendo antígeno, assim como a proteína p24 se liga as partículas revestidas pelo anticorpo específico. Através da primeira lavagem são eliminados componentes da amostra que não interessam a reação. Em seguida, o conjugado de anticorpos anti- IgG humana e antígenos sintéticos marcados com acridíneo é adicionado a reação, para se ligarem, respectivamente às proteínas p24 e aos anticorpos capturados pelas partículas paramagnéticas. Após outro ciclo de lavagem, as soluções pré-ativadora e ativadora são adicionadas, e a quimiluminescência resultante é medida em unidades de luz reativas (RLU). O teste, segundo o fabricante, apresenta sensibilidade de 100% e especificidade de 99,96%.

3.2.5. ImunoBlotting

O teste Imunoblot rápido DPP HIV-1/2 Bio-Manguinhos utiliza antígenos de HIV-1 e HIV-2 ligados a uma membrana (fase sólida), anticorpos específicos e conjugado de proteína A com partículas de ouro coloidal. A amostra é aplicada ao poço 1, seguida pela adição do tampão de corrida. O tampão propicia o fluxo lateral promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos. Após a migração da amostra e do tampão ao longo do suporte de teste, deve-se adicionar tampão de corrida ao poço-2. O conjugado se liga aos anticorpos específicos para HIV-1 ou HIV-2 produzindo uma ou mais linhas (roxa/rosa) na área do TESTE (T). Na ausência de anticorpos para HIV-1 ou HIV-2 as linhas (roxa/rosa) não aparecem na área do TESTE(T). Em todos os casos, a amostra continua a migrar ao longo da membrana produzindo uma linha (roxa/rosa) na área de CONTROLE (C), o que demonstra o funcionamento adequado dos reagentes.

4. RESULTADOS

No período de janeiro de 2001 a março de 2014 foram realizados 1231 testes para Chagas em pacientes infectados pelo HIV, com 6 testes positivos, confirmados por realização de duas metodologias, o que representa uma prevalência de 0,48%.

De janeiro de 1994 a março de 2014, foram contabilizados 38 casos de coinfeção confirmados. Desses casos, 5 apresentaram reativação confirmada pela demonstração do parasito em sangue ou liquido cefalorraquidiano, e 6 tiveram suspeita clínica da reativação (tabela 2).

Na análise dos dados demográficos do Grupo 1 (coinfectados sem reativação da DC), observados na Tabela 1, foi obtida média 52 anos de idade, com predominância no sexo masculino (63%).

Tabela 1. Idade, gênero, naturalidade e procedência dos pacientes coinfectados por *T. cruzi*/HIV sem reativação da DC (GRUPO 1).

CASOS	IDADE	GÊNERO	NATURALIDADE	PROCEDÊNCIA
1	53	F	Pontal (SP)	Ribeirão Preto (SP)
2	54	F	Água Preta (PE)	Ribeirão Preto (SP)
3	44	M	...	Jaboticabal (SP)
4	53	M	Belém (Pará)	Ribeirão Preto (SP)
5	67	M	Ituverava (SP)	Ribeirão Preto (SP)
6	51	M	Sertania (PE)	Ribeirão Preto (SP)
7	37	M	Janaúba (MG)	Ribeirão Preto (SP)
8	68	M	Itabuna (BA)	Ribeirão Preto (SP)
9	36	M	Franca (SP)	Franca (SP)
10	40	M	Quipará (PE)	Ribeirão Preto (SP)
11	69	F	Araraquara (SP)	Araraquara (SP)
12	43	M	Catanduva (SP)	Ribeirão Preto (SP)
13	56	M	Alterosa (MG)	Ribeirão Preto (SP)

CASOS	IDADE	GÊNERO	NATURALIDADE	PROCEDÊNCIA
14	36	M	Batatais (SP)	Ribeirão Preto (SP)
15	54	M	São Paulo	Ribeirão Preto (SP)
16	69	F	Barreiras (BA)	Ribeirão Preto (SP)
17	36	F	Cristália (MG)	Ribeirão Preto (SP)
18	68	F	Itamogi (MG)	Ribeirão Preto (SP)
19	46	M	Rifaina (SP)	Araçatuba (SP)
20	43	F	Cardoso (MG)	Ribeirão Preto (SP)
21	45	F	Sacramento (MG)	Ribeirão Preto (SP)
22	91	F	Serrana (SP)	Serrana (SP)
23	46	M	Janaúba (MG)	Serrana (MG)
24	55	M	São Sebastião do Paraíso (SP)	Ribeirão Preto (SP)
25	41	M	Ribeirão Preto (SP)	Ribeirão Preto (SP)
26	59	F	Minas Novas (MG)	Serrana (MG)
27	44	M	Ubaí (MG)	Ribeirão Preto (SP)

Tabela 2. Idade, gênero, naturalidade e procedência dos pacientes coinfectados por *T. cruzi*/ HIV que apresentaram reativação da DC (GRUPO 2).

CASOS	IDADE	GÊNERO	NATURALIDADE	PROCEDÊNCIA
Casos com coinfeção confirmada				
28	43	F	Uberaba (MG)	Ribeirão Preto (SP)
29	34	M	Ribeirão Preto (SP)	Ribeirão Preto (SP)
30	30	M	...	Bebedouro (SP)
31	34	M	Monte Verde (MG)	Cajuru (SP)
32	72	F	Minas Novas (MG)	Sertãozinho (SP)
Casos com suspeita clínica de coinfeção				
33	58	F	Batatais (SP)	Ribeirão Preto (SP)
34	50	M	Brodowski (SP)	Brodowski (SP)
35	62	F	...	Ribeirão Preto (SP)
36	55	F	...	Ribeirão Preto (SP)
37	31	F	Ribeirão Preto (SP)	Ribeirão Preto (SP)
38	38	F	Grão Mogol (MG)	Ribeirão Preto (SP)

No grupo 2, pacientes coinfetados com a reativação da DC, a média de idade fica em torno de 46 anos, com predomínio do gênero feminino (63,4%) (Tabela 2).

Os pacientes são naturais, principalmente, dos estados de São Paulo e Minas Gerais. **Figura 9.** A faixa etária predominante nos dois grupos é a de 50 anos ou mais. No grupo com reativação, adultos entre 30 e 39 anos representaram uma parcela maior **Figura 10.**

Figura 9. Estado de naturalidade dos pacientes com coinfeção *T. cruzi*/ HIV sem reativação da doença de Chagas atendidos no HCFMRP-USP

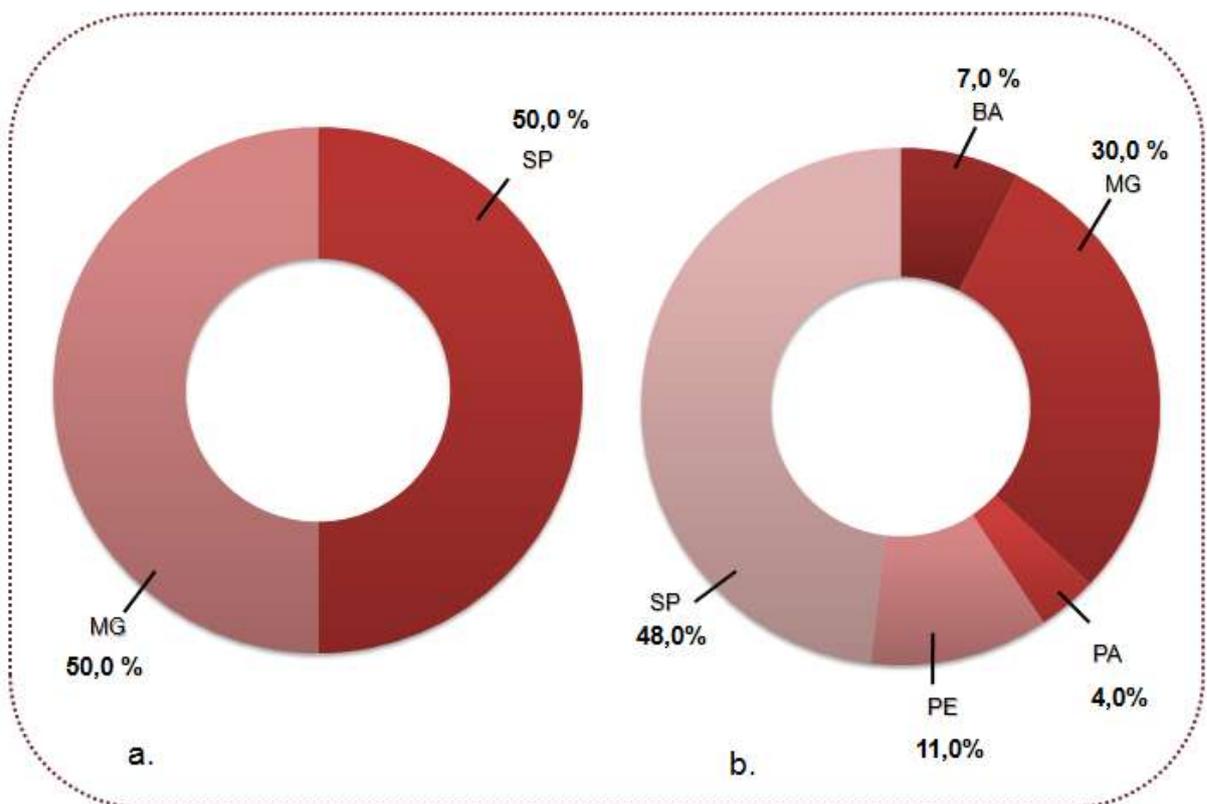


Figura 10. Distribuição da faixa etária dos pacientes: **A.** Grupo 1: coinfectados por T. cruzi/HIV sem reativação da DC. **B.** Grupo 2: coinfectados por T. cruzi/ HIV com reativação da DC.

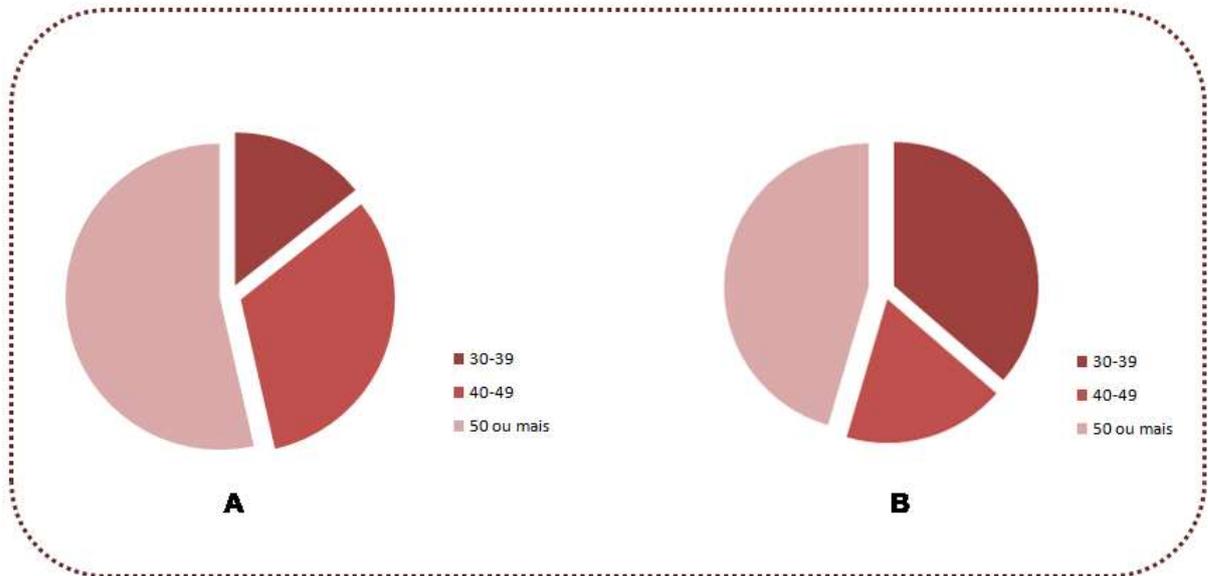


Tabela 3. Comparação entre gênero e média de idades entre os grupos 1 e 2.

VARIÁVEL	Grupo 1	Grupo 2	P
Gênero			
Masculino/Feminino- N (%)	17(63)/ 10(37)	4(36,4)/7(63,6)	0.1175/0.3472
Idade (média ± DP)	52±13.28	46.9± 13,7	F 0.3472/ M 0.1173

Houve uma diferença significativa entre os resultados de carga viral do HIV e contagem de CD4⁺ entre os dois grupos. Pacientes coinfectados com a reativação da DC (grupo 2) apresentam carga viral mais alta e contagem de CD4⁺ mais baixa, o que mostra que esses pacientes encontram-se em fase avançada da infecção pelo HIV e tem imunossupressão acentuada.

Tabela 4. Contagem de CD4 em pacientes coinfectedossem reativação da DC (Grupo 1) e com a reativação (Grupo 2).

VARIÁVEL	Grupo 1	Grupo 2	P
Contagem de CD4⁺			
<i>CD4⁺ (N) média ± DP</i>	(16) 284±229,3	(5) 31,6±25,4	0.0258
< 350	10	5	-
≥350	6	0	-
<200	7	5	-
≥200	9	0	-

Tabela 5. Carga viral em pacientes coinfectedos sem reativação da DC (Grupo 1) e com a reativação (Grupo 2).

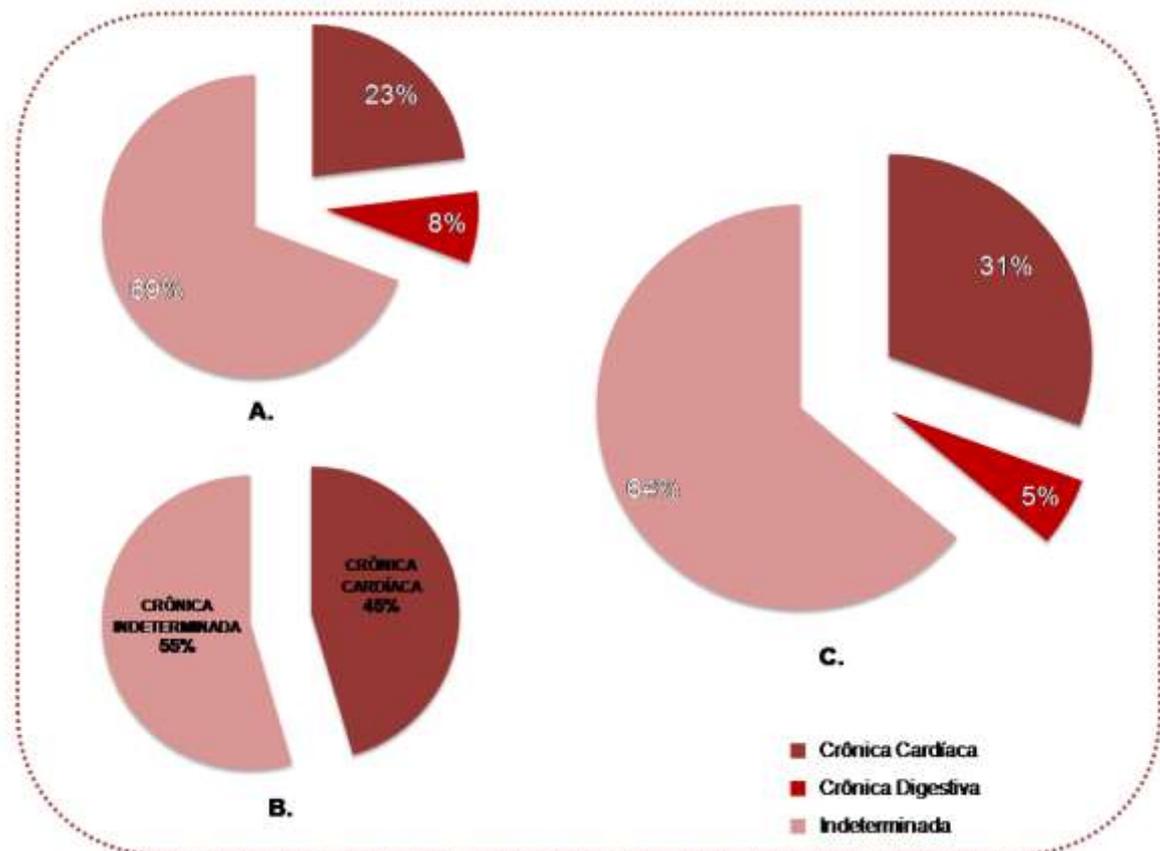
VARIÁVEL	Grupo 1	Grupo 2	P
Carga viral			
<i>(log₁₀/mL) Média ± DP</i>	4,35± 0,97	5,54 ± 0,31	0.0109
Número de cópias			
<50	3	0	-
50- 100.000	12	0	-
>100.000	5	5	-

Pacientes com a reativação da DC apresentaram principalmente acometimento do SNC e a forma mista da reativação (Tabela 6). A forma crônica indeterminada é predominante nos pacientes, tanto do grupo 1 quanto no grupo 2. Porém, no segundo observa-se maior participação da forma sintomática **Figura 11**.

Tabela 6 - Número e forma clínica da reativação da DC em pacientes com coinfeção *T. cruzi*/HIV

Forma clínica da reativação	Casos	
	N	%
Meningoencefalite	8	72.7
Miocardite	1	9.1
Meningoencefalite e miocardite	2	18.2
Total	11	100

Figura 11. Forma clínica da doença de Chagas. A: Grupo 1. B. Grupo 2 (forma anterior a reativação). C. Total.



Entre os pacientes do grupo 1, houve 48,14% de óbitos. Todos os pacientes com reativação da DC (grupo 2) foram a óbito, 7 (63,6%) tiveram morte relacionada a doença de Chagas.

5. DISCUSSÃO

O HCFMRP está localizado em uma antiga região endêmica para a doença e tem sido um importante centro de referência para pacientes com doença de Chagas desde sua instalação (KAMIJI; OLIVEIRA, 2005). Observou-se nesse trabalho que os pacientes coinfetados *T. cruzi*/ HIV com e sem a reativação da DC predominam na faixa etária acima dos 50 anos e não houve pacientes com menos de 30 anos, o que era esperado devido ao controle do vetor domiciliado, pois já no final da década de 1970, segundo *Vichi e cols*, na Região de Ribeirão Preto casos autóctones da doença de Chagas em pessoas com idade inferior a 20 anos não existiam (KAMIJI; OLIVEIRA, 2005). A coinfeção ocorre principalmente em homens naturais de regiões endêmicas (Almeida, 2015).

Os dados de CD4⁺ e carga viral, similarmente ao encontrado na literatura (Almeida, 2011), apontam o maior comprometimento do sistema imune (CD4⁺ p>0.0258) e caso de HIV avançado naqueles pacientes com reativação. Porém, há relatos de casos em que pacientes com contagem de CD4⁺ sofreram reativação. Também foi verificada a maior ocorrência da reativação no sistema nervoso central, seguida pela forma mista com cardiopatia.

Apesar de casos de reativação da DC em pacientes com HIV/Aids ocorrerem desde o início da epidemia, ainda não se conhece a real incidência da coinfeção e da reativação, qual o perfil clínico e laboratorial desses pacientes, assim como os fatores preditivos, qual a taxa de mortalidade e a eficiência terapêutica (Almeida, 2011).

6. CONCLUSÃO

- A prevalência da coinfeção *Trypanosoma cruzi* / HIV no HCFMRP no período de janeiro de 2001 a março de 2014 é de 0,48%.
- Foram verificados 5 casos confirmados de reativação da doença de Chagas em pacientes infectados pelo HIV
- Houve relação entre menor contagem de linfócitos CD4⁺, maior carga viral e reativação da doença de Chagas em pacientes com coinfeção T. cruzi/ HIV.

7. REFERÊNCIAS

ABBAS, Abul K; FAUSTO, Nelson; KUMAR, Vinay; COTRAN, Ramzi S; ASTER, Jon C; ROBBINS, Stanley L.: **Robbins e Cotran: Patologia - Bases patológicas das doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 1458 p.

ALIZON, S.; FRASER, C. Within-host and between-host evolutionary rates across the HIV-1 genome. **Retrovirology**, v. 10, n. 1, p. 49, 2013.

ALMEIDA, E. A. et al. Evolução fatal da co-infecção doença de Chagas / Aids : dificuldades diagnósticas entre a reagudização da miocardite e a miocardiopatia chagásica crônica Fatal evolution of Chagas ' disease / Aids co-infection : diagnostic difficulties between myocarditis. v. 42, n. 2, p. 199–202, 2009.

ALMEIDA, E. A et.al. Coinfecção T. cruzi/HIV/Aids: revisão da literatura. In: Epidemiologia e Clínica da Coinfecção Trypanosoma cruzi e vírus da imunodeficiência adquirida. Organizador: Eros Antonio de Almeida. Campinas, SP: Ed. Unicamp, 2015.

ARGOLO A.M., FELIX M., Pacheco R. & Costa J. 2008. Doença de Chagas e seus Principais Vetores no Brasil. Imperial Novo Milênio, PIDC, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, p.16-17.

ARRUDA, L. B. **Caracterização molecular da gp120 do HIV-1 e suas implicações sobre o tropismo pelos correceptores CCR5 e CXCR4**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 9 jun. 2014.

BRUM-SOARES, L. M. et al. Morbidity of Chagas disease among autochthonous patients from the Rio Negro microregion, State of Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 2, p. 170–177, 2010.

BUCCHERI, R. et al. Chagasic Meningoencephalitis in an Hiv Infected Patient With Moderate Immunosuppression: Prolonged Survival and Challenges in the Haart Era. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. 6, p. 531–5, 2015.

CORDOVA, E. et al. Reactivation of Chagas disease with central nervous system

involvement in HIV-infected patients in Argentina, 1992-2007. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 12, n. 6, p. 587–592, 2008.

FERREIRA, A.W.; Àvila, S.L.M, editores. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e autoimunes. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara- Koogan, 2001.

FOWLER, V. G, SCHELD, W.M, BAYER, A. S. Endocarditis and Intravascular Infections. In: Mandell et al, Principles and practice of infectious disease, 8 ed., 2015.

JUNQUEIRA, A.C.V.J. Manual de capacitação na detecção de *Trypanosoma cruzi* para microscopista de malária e laboratorista da rede pública. Rio de Janeiro: SCV/ICICT, 2011.

KARP, C. L.; AUWAERTER, P. G. Coinfection with HIV and tropical infectious diseases. I. Protozoal pathogens. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 45, n. 9, p. 1208–13, 2007.

LAZO, J. E. et al. Meningoencefalites toxoplásmica e chagásica em pacientes com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana: diagnóstico diferencial anatomopatológico e tomográfico Meningoencephalitis due to *Toxoplasma gondii* and *Trypanosoma cruzi* in patients with HIV i. v. 31, n. 2, p. 163–171, 1998.

MAARTENS, G.; CELUM, C.; LEWIN, S. R. **HIV infection: Epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention**. The Lancet. **Anais...**2014

NEVES, D. P. **Parasitologia Dinâmica**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2009.

PINTO, M. E.; STRUCHINER, C. J. A diversidade do HIV-1: uma ferramenta para o estudo da pandemia. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 3, p. 473–484, mar. 2006.

ROSSI SPADAFORA, M. S. et al. *Trypanosoma cruzi* Necrotizing Meningoencephalitis in a Venezuelan HIV + -AIDS Patient: Pathological Diagnosis Confirmed by PCR Using Formalin-Fixed- and Paraffin-Embedded-Tissues. **Analytical Cellular Pathology**, v. 2014, p. 1–8, 2014.

SARTORI, A. M. C. et al. Exacerbation of HIV viral load simultaneous with asymptomatic reactivation of chronic Chagas' disease. **American Journal of**

Tropical Medicine and Hygiene, v. 67, n. 5, p. 521–523, 2002.

STAUFFERT, D. et al. Prevalence of *Trypanosoma cruzi*/HIV coinfection in southern Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, n. x x, p. 6–10, 2016.

TAN, I. L. et al. **HIV-associated opportunistic infections of the CNS***The Lancet Neurology*, 2012.