

BASES PARA A AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO ESPECÍFICO DA DOENÇA DE CHAGAS HUMANA SEGUNDO A PARASITEMIA *

J. Romeu Cançado **, U. Duval Marra ***, O. G. Mourão ***, J. Mendes Alvares ***, J. P. Mendes de Oliveira ***, J. Raymundo Machado ****, e A. Abreu Salgado ****

Os Autores propõem a padronização de métodos para se avaliarem os resultados de ensaios de terapêutica específica da doença de Chagas, a fim de se firmarem critérios seguros de interpretação.

Discutem as experiências terapêuticas, com controle estatístico, no ser humano, sobretudo o problema ético, e concluem serem elas indispensáveis para se estabelecer a eficácia do medicamento, definir-lhe o modo de emprego, a posologia e os perigos, mas precisam reger-se por normas bem definidas.

Relatam uma metodologia para o ensaio clínico na tripanossomíase americana, partindo do princípio de que só devem ser selecionados pacientes de "alta parasitemia". Submetendo chagásicos crônicos a xenodiagnósticos mensais consecutivos, por períodos até de três anos, verificaram ser variável a positividade: enquanto uns exibem todos os exames positivos (100%), outros mostram graus menores de positividade, havendo até os que nunca apresentam xeno positivo (0%). Explicam o fenômeno admitindo a existência de níveis diferentes de parasitemia e recomendam evitarem-se os pacientes de "baixa parasitemia", pela dificuldade de interpretação, ligada ao fato de eles apresentarem, espontaneamente, sem qualquer tratamento, xenodiagnósticos negativos durante anos.

Descrevem os procedimentos correspondentes à fase pré-tratamento, para selecionar os pacientes que apresentem positivos pelo menos 60% de uma série de, no mínimo, seis xenodiagnósticos sêxtuplos quinzenais, cuja padronização é dada.

Na fase de tratamento os doentes são internados no Hospital e examinados diariamente, para se verificar a tomada do medicamento e a tolerância, que também se aprecia por exames de laboratório prévios, e coincidentes com a última quinzena.

A fase pós-tratamento, em regime ambulatorio, é prevista para um ano, submetendo-se o paciente, de 15 em 15 dias, ao xenodiagnóstico e às reações imunológicas.

* Apresentado ao Simpósio Internacional de Doença de Chagas, I Congresso Argentino de Parasitologia, Buenos Aires, 1 de dezembro, 1972.

** Professor titular.

*** Professor assistente de Clínica Médica, Fac. Med. U.F.M.G., Belo Horizonte.

**** Laboratório Alfredo Balena, Belo Horizonte.

***** Centro de Pesquisas René Rachou, FIOCRUZ; Belo Horizonte, M.G., Brasil.

Os Autores dão exemplos de casos retirados de um ensaio, ainda em desenvolvimento, com um nitrofurânico (Bayer 2502), no qual a avaliação da eficácia repousa no xenodiagnóstico e nas reações imunológicas quantitativas, de fixação do complemento (R.F.C.), de hemoaglutinação (R.H.A.) e de imunofluorescência (T.I.F.).

Finalmente, discutem e definem o eventual critério de cura da tripanossomiase americana humana.

INTRODUÇÃO

Atribui-se ao *Trypanosoma cruzi* insensibilidade especial à ação dos medicamentos, o que explicaria a demora em descobrir-se a cura da doença de Chagas.

As razões do atraso, no entanto, não se podem prender a características peculiares do ciclo evolutivo do flagelado, que lhe confirmam resistência aos agentes quimioterápicos, porque já são numerosos e variados os compostos ativos na doença experimental, como quinoleínicos, arsenobenzólicos, fenantridínicos, nitrofurânicos, piperazínicos, antagonistas purínicos e outros.

Parece-nos que tal lacuna se deve antes à falta de pesquisa sistemática e de métodos de avaliação dos resultados terapêuticos.

PADRONIZAÇÃO DE MÉTODOS

Salientamos, em reunião anterior (1), a necessidade de padronização de métodos para a avaliação dos resultados da terapêutica específica da doença de Chagas, a fim de se firmarem critérios seguros de interpretação.

As dificuldades são de duas ordens: as inerentes a toda experiência *in anima nobili* e as ligadas às variações espontâneas, comuns à própria evolução natural da moléstia.

ENSAIOS TERAPÊUTICOS NO HOMEM

Os ensaios terapêuticos clínicos são de grande atualidade, em virtude de o desenvolvimento da pesquisa vir propondo, de contínuo, novos medicamentos para o arsenal do médico prático. Alguns representam, de fato, progresso terapêutico; outros se equivalem aos existentes; e, outros, ainda, não justificam as promessas. A classe médica precisa ser esclarecida, com rapidez e exatidão, sobre o valor de um fármaco novo,

mesmo que já tenha tido a eficácia e a tolerância bem determinadas no laboratório, porque será afinal no *ser humano* que se comprovará seu valor curativo.

Cumpramos sejamos rigorosos na execução do ensaio. Bem conduzido, pode dar resposta clara a uma pergunta bem formulada; mal conduzido, encerra o perigo de poder inspirar falsa segurança, e seria preferível que não tivesse existido. A Conferência Internacional sobre os Ensaios Terapêuticos Clínicos, realizada em Viena, 1959 pelo Conselho das Organizações Internacionais de Ciências Médicas (C. I. O. M. S.), concluiu que, antes de realizar um ensaio clínico, é preciso pesar, primeiro, as exigências éticas, e, depois, as materiais ou seja, o número de indivíduos necessários, a possibilidade de bem caracterizar a doença, o recrutamento dos doentes, a escolha dos critérios de diagnóstico e de evolução, a constituição de grupos comparáveis, o esquema terapêutico e a análise e interpretação dos resultados e o conhecimento de seu grau de generalidade; e, por fim, as exigências psicológicas: um ambiente favorável, pelo apoio de todos — médicos, estatísticos, pessoal auxiliar e doentes (Schwartz *et al.*, 1960). Essa técnica não resulta apenas de reflexões teóricas, mas da experiência adquirida em numerosos ensaios, cobrindo extensa faixa de doenças e de resultados precisos.

Se o ensaio se afigura possível, que seja feito, mas, então, impecavelmente, com todos os meios disponíveis, sabendo-se que um ensaio bem conduzido é sempre tarefa difícil.

A ÉTICA E A NECESSIDADE DA EXPERIÊNCIA NO HOMEM

Segundo os preceitos tradicionais da Medicina, é dever de consciência do médico escolher para seu paciente o trata-

mento mais eficaz e menos perigoso, sem se deixar mover por nenhuma outra influência.

Diante de um medicamento novo, talvez benfazejo mas eventualmente perigoso, seria lícito experimentá-lo no homem? Seria lícito introduzir nesse domínio o método experimental, o único capaz de dirimir a dúvida?

No caso de *doenças graves*, aceitar ou recusar a realização de ensaios terapêuticos humanos, com grupos testemunha e avaliação estatística, é decisão grave, não só pelos possíveis efeitos tóxicos nos pacientes tratados, alguns imprevisíveis, como os de natureza genética, mas também pelos prejuízos para os que deixariam de receber um remédio talvez salvador, sendo a escolha dos pacientes feita por acaso.

Antes de decidir, convém lembrar as *duas tendências* em alguns países; notadamente nos de cultura anglo-saxônica, o método é aceito e a ética médica admite o ensaio estatístico, sob o fundamento de ser o único meio de fazer progredir a terapêutica, a bem do doente, e a verdadeira falta de ética seria deixar de recorrer a ele. Noutros países, notadamente a França, predomina o pensamento de que o médico que trata o doente segundo normas ditadas por um grupo, e não em função de seu caso particular, viola os princípios fundamentais da profissão, que se baseiam no *respeito ilimitado pela pessoa humana*.

Formularam-se regras visando a delimitar as fronteiras do permitido, mas nenhuma desfaz todas as dúvidas.

A *primeira regra* aconselha recorrer-se, sempre, a *voluntários*, e obter-se o consentimento do doente. Mas, que representa o consentimento de um ser sofredor, angustiado, e, por força, mal informado? De acordo com os princípios afirmados em Nuremberg, o doente deve estar perfeitamente a par dos dados do problema. Como imaginar que, de fato, isso acontece? A vítima de uma doença grave não tem outra saída senão procurar o médico. O consentimento nessas condições seria apenas uma escapatória puramente formal e não poderia aliviar o médico de suas responsabilidades.

A *segunda regra* preceitua que o ensaio deve trazer para a sociedade um benefício que não se poderia obter por nenhum outro método.

A *terceira regra* recomenda que a equipe autora do ensaio não tenha capacidade de dizer qual dos dois tratamentos a comparar é o mais vantajoso para o doente, e assim por diante.

Por outro lado, é impossível negar-se a *necessidade dos ensaios clínicos bem controlados*.

Para estabelecer a eficácia de um medicamento, definir-lhe o modo de emprego, a posologia e os perigos, só um ensaio terapêutico desenvolvido segundo as leis da experimentação, formuladas por biólogos e estatísticos. Só ele pode dar resposta verdadeira às dúvidas e firmar as bases de nosso comportamento. É o único modo de conhecer a verdade e fugir das impressões pessoais, nem sempre valiosas. Os ensaios desprovidos de controle estatístico, na organização e na análise dos resultados, são ilusórios e não raro geram conclusões errôneas.

Para apurar-se a verdade de uma proposição, são precisos estudos científicos, comparações e medidas. Um único ensaio com testemunhos pode permitir conclusão bem fundamentada.

AS BASES PARA A AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO E A EVOLUÇÃO NATURAL DA MOLÉSTIA

No caso da doença de Chagas, enfermidade bem definida, grave, e ainda incurável, flagelo social de muitos países, o problema ético fica muito reduzido, porque é evidente não se lhe aplicarem a segunda e a terceira regras acima referidas.

1. *Seleção dos doentes*. Quanto ao *recrutamento dos pacientes*, fazêmo-lo sempre à base do *voluntariado*, aceitando livremente o paciente, ou seus responsáveis, no caso de menores, participar do ensaio, sobre o qual recebem as mais amplas explicações.

O fato de o paciente ser voluntário, nos dá a medida da sua disposição de colaborar. Pode-se contar com certa porcentagem de deserção, mas os que permanecem, em compensação, estão desejosos de chegar a bom termo. Assim por exemplo, em 1968, num ensaio em que tratamos 53 chagásicos crônicos com o Bayer 2502, em três esquemas posológicos diferentes (2) desertaram apenas 13 pacientes (25%), isto é, seis desistiram logo nos primeiros dias, e

sete não voltaram para os exames de controle (Quadro I).

Em compensação, os 40 que permaneceram não tinham outro interesse senão o de colaborar ao máximo para a perfeita realização do tratamento, embora, em 23 deles, efeitos colaterais diversos (Quadro II) ditassem ao médico a interrupção do tratamento, não raro pedida pelo doente, chegando-se, ao final, à cifra de 68% de defecções (Quadro I), isto é, apenas 17 doentes (32%) conseguiram terminar o tratamento projetado, permitindo concluir, quanto à *tolerância* que, no grupo selecionado as doses escolhidas eram muito elevadas, e causavam vários efeitos colaterais, alguns dos quais talvez não fossem revelados se os doentes não tivessem a liberdade de abandonar o ensaio.

Além de voluntários, os enfermos devem ser escolhidos tendo em vista a *evolução natural da doença* e as oscilações espontâneas dos resultados dos exames, e satisfazer às outras condições expostas em METODOLOGIA DO ENSAIO.

2. *Diagnóstico parasitológico.* Tratando-se de enfermidade parasitária, o critério mais fidedigno para a análise dos resultados seria o baseado no *diagnóstico parasitológico*, ou seja a demonstração do agente antes do tratamento, na esperança de poder demonstrar seu desaparecimento depois dele.

QUADRO I

ENSAIO TERAPÊUTICO COM O BAYER 2502 EM 53 CHAGÁSICOS NA FASE CRÔNICA

Em três esquemas posológicos de duração de 120 dias

Pacientes tratados:	53	
Desertaram:	13	} 36 (68%)
Interromperam:	23	
Concluíram:	17 (32%)	

QUADRO II

EFEITOS COLATERAIS DO BAYER 2502

Concluíram	17	Pacientes
Não concluíram	36	"
Total	53	"

Causas da interrupção

Intolerância digestiva	14
Polineurite	10
Psicose	6
Dermatite	1
Leucopenia	1
Associações	4
Total	36

Na fase aguda, usa-se o exame direto do sangue periférico, entre lâmina e lamínula, de execução fácil.

Na fase crônica, o recurso ainda é o xenodiagnóstico, feito segundo as recomendações de Schenone e colaboradores (10). Outro recurso seria a hemocultura (h.c.), que, entretanto, ainda se acha em fase de investigação.

3. *Diagnóstico sorológico.* Vem a seguir o diagnóstico indireto, baseado no efeito antigênico do parasito, vale dizer, o *diagnóstico sorológico*, feito pelas reações imunológicas, como a reação de fixação do complemento (R.F.C.), ou reação de Guerreiro e Machado (7), a reação de hemaglutinação (R.H.A.) (3) e o teste de imunofluorescência (T.I.F.) (5).

Outros critérios diagnósticos, como o clínico, o radiológico e o eletrocardiográfico, têm valor muito relativo, e, no caso, podem ser deixados de lado, porque as alterações a eles correspondentes são de natureza orgânica, não raro fibróticas e, portanto, irreversíveis.

Para ser incluído na experiência, o paciente deve apresentar *diagnóstico sorológico*, que é o mais fácil e corrente, e, também o *diagnóstico parasitológico*, a fim de que tenhamos dados concretos ao analisar os resultados terapêuticos.

4. *Escolher doentes de alta parasitemia.* Todavia, não basta que os dois exames (item 3) sejam positivos, apenas uma vez, para se considerar o doente "bom" para a

prova. A interpretação dos resultados poderá ser difícil, se não se levar em conta a *evolução natural da doença*, ao se proceder à seleção dos casos a serem incluídos no ensaio (Quadro III).

Significação do xenodiagnóstico. É do conhecimento geral que, na fase inicial, *aguda*, febril, é fácil encontrar-se o parasito no sangue periférico, por um período máximo de 30 a 40 dias, depois do qual a doença entra, espontaneamente, na fase *crônica*, silenciosa, que dura décadas, amíúde latente, em que os tripanosomas desaparecem naturalmente do sangue circulante, só vindo a ser revelados pelo laborioso e demorado método do xenodiagnóstico, e, mesmo assim, ao que parece, apenas em certa parcela de doentes, como se pode observar no Quadro III.

Por conseguinte, seria ingênuo valorizar sem crítica o desaparecimento do parasito do sangue periférico na fase aguda, ou a negatificação prolongada, talvez mesmo permanente, do xenodiagnóstico, na fase crônica.

O quadro III mostra a evolução do xenodiagnóstico, feito mensalmente, por período de 6 a 36 meses, num grupo de 14 doentes chagásicos, na fase crônica, todos com a R.F.C. positiva, feita na mesma data do xeno, 12 com o xenodiagnóstico positivo, e dois com o xenodiagnóstico negativo, antes de receberem tratamento com *placebo*. A maioria dos xenos foi feita pela técnica simples, aplicando-se dez triatomíneos, em uma caixa; mas 45 dos 184 (24,5%) foram xenodiagnósticos múltiplos, com 48 triatomíneos, em seis caixas, segundo preconizam Schenone e colaboradores.

Cada doente fez apenas *um* xenodiagnóstico ANTES de iniciar o "placebo". Verifica-se que o xenodiagnóstico, apesar de imprescindível, por ser o único meio de fazer-se o diagnóstico parasitológico, deixa muito a desejar quanto à *precisão*, à *fidelidade* e à *sensibilidade*, quando se considera o conjunto dos doentes e a duração do ensaio. Enquanto em alguns doentes (n.ºs 3 e 14) é fácil obter-se o xenodiagnóstico positivo, pois praticamente todos os xenos feitos, no período de 7 meses a dois anos, foram positivos, em outros (n.ºs 1 e 2) isso é difícil, já que de 49 xenos feitos no período de 3 anos, apenas um foi positivo. Entre os dois extremos, uma nítida graduação da positividade.

Explicamos tais resultados como decorrentes de diferentes níveis de parasitemia, na fase crônica. Alguns pacientes, por motivos ainda a explicar, talvez imunológicos, têm parasitemia mais elevada e prolongada. daí serem casos em que é fácil obter-se o xenodiagnóstico positivo. - Outros, ao contrário, têm um nível de parasitemia tão baixo que é difícil obter-se o xenodiagnóstico positivo.

Esta observação é transcendente para a organização do ensaio, porque se os pacientes forem selecionados na forma em que o foram os 14 componentes do quadro III, isto é, primeiro a reação de fixação do complemento positiva e depois *um único* xenodiagnóstico, mesmo que este seja positivo, será difícil analisar os resultados, em especial se esse primeiro xeno, feito ANTES, for negativo, como se vê no caso nº 1. Eis porque preconizamos que, na seleção de doentes na fase crônica, só sejam incluídos no estudo os de alta parasitemia (60% ou mais de xenos positivos na fase anterior ao tratamento). Ora, para se conseguir esse requisito é necessário que cada paciente tenha estabelecido, *antes de iniciar o ensaio*, o seu padrão de comportamento face ao xenodiagnóstico.

Vejam-se os exemplos constantes dos quadros IV e V, em que estão tabulados os resultados do xeno e dos exames sorológicos de doentes selecionados de acordo com o critério acima defendido.

Um paciente recebeu placebo (Quadro IV) e o outro recebeu o medicamento (Quadro V). Esses pacientes fazem parte de um ensaio com o derivado de nitrofurilideno Bayer 2502, ou Lampit, em andamento no Hospital das Clínicas da U. F. M. G., em Belo Horizonte, Brasil, em colaboração com um grupo de colegas de instituições diferentes*, a ser publicado.

Significação das reações imunológicas. Os dados resumidos no quadro VI demonstram que a reação de fixação do complemento (R.F.C.) pode permanecer negativa, e a R.H.A. e o T.I.F. positivos com títulos baixos, apesar de o doente continuar com o *Trypanosoma* presente no sangue circulante, comprovado pelo xenodiagnóstico. É outro fato a levar-se em conta ao analisar os resultados: não confiar apenas na sorologia.

* Centro de Pesquisas "René Rachou", FIOCRUZ; Instituto de Ciências Biológicas da UFMG; Laboratório Alfredo Balena, Belo Horizonte; Instituto de Bio-Ciências, Porto Alegre, U.F.R.S., Porto Alegre.

QUADRO III

EVOLUÇÃO NATURAL DA DOENÇA DE CHAGAS NA FASE CRÔNICA

CASOS	ANTES	XENODIAGNÓSTICOS: MESES DEPOIS DO USO DE PLACEBO																				TOTAL	POS															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	18	24	30	36																		
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	o—	o—	o—	o—	o—	o—	o—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	29	0	0%	
2	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	20	1	5%
3	o+	—	—	o—	—	—	o—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	13	2	15%	
4	—	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	9	2	22%	
5	o+	—	+	o+	+	—	o+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	21	6	28%	
6	o+	—	—	o+	+	o+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	3	37%	
7	o+	—	o+	o+	+	o+	—	o—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7	4	57%	
8	o+	—	o+	+	—	+	—	+	—	+	+	+	—	+	—	+	+	—	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	19	11	57%	
9	o+	—	o+	o+	+	—	o+	+	+	+	+	—	o—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	11	7	63%	
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	9	6	66%	
11	o+	+	o+	o+	+	—	+	—	—	o+	o+	+	o+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12	9	75%	
12	o+	—	+	+	o+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	4	80%	
13	o+	+	+	o+	+	o+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	17	16	94%	
14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	4	100%	
																																			184	75	40%	

o xeno sextuplo + xeno positivo — xeno negativo

METODOLOGIA DO ENSAIO

O estudo se fará em três fases.

1. *Fase pré-tratamento.* Selecionam-se os doentes, que se distribuem ao acaso, em dois grupos comparáveis; um receberá o medicamento e o outro, o placebo. O número de doentes poderá ser pequeno, diante do fato de a doença ser bem caracterizada clínica e parasitologicamente; por exemplo, dez doentes (5, placebo e 5, medicamento). Seriam, pois, dez chagásicos, de ambos os sexos, de menos de 50 anos, voluntários, residentes na cidade onde se faz o estudo, apresentando no mínimo 60% dos xenodiagnósticos sêxtuplos quinzenais positivos, numa série de pelo menos seis exames, e também as reações sorológicas (R.F.C., R.H.A. e T.I.F.) positivas, nas mesmas datas dos xenodiagnósticos.

Nessa fase serão feitos ainda outros exames, na dependência da própria doença e também da possível toxicidade do medicamento a ser ensaiado. - Por exemplo: 1) Exame clínico cuidadoso; 2) eletrocardiograma; 3) radiografia do esôfago (prova de retenção de um minuto); 4) radiografia do coração e vasos da base, em P.A. e perfil esquerdo; 5) contagens dos elementos figurados do sangue; 6) desagem no sangue de bilirrubinas, transaminases, fosfatase alcalina e uréia; 7) exame de urina; 8) exame parasitológico de fezes; 9) xenodiagnóstico e reações sorológicas, quantitativas, de 15 em 15 dias, durante pelo menos três meses, em regime ambulatorio.

Padronização do xenodiagnóstico. Serão utilizados o *T. infestans* e o *P. megistus*, de preferência o primeiro, no 5º estágio ninfal e cujo último oferecimento de alimentação date pelo menos de 30 dias.

Em cada xenodiagnóstico serão utilizados 48 insetos, distribuídos, em grupo de 8 ninfas, por 6 caixas, que serão aplicadas de uma vez. Todas as caixas serão examinadas aos 30 dias. As caixas negativas serão re-examinadas aos 60 dias. Para o exame, as fezes obtidas por expressão do inseto, serão agrupadas em "pool" referente a quatro barbeiros, isto é, haverá dois exames para cada caixa. No exame do sexagésimo dia, as fezes serão obtidas, também, por dissecação do inseto, se necessário. Os resultados serão dados semi-

-quantitativamente, citando-se o número de caixas positivas sobre o total de aplicadas, por exemplo, 5/6, identificando-se a caixa positiva.

A numeração das caixas será feita por uma pessoa não envolvida em seu exame.

2. *Fase de tratamento.* Inicia-se após o resultado do último xeno pré-terapêutico e corresponde ao uso, atentamente supervisionado, do remédio, com o doente *internado no Hospital*, durante todo o período de tratamento. É absolutamente necessário que se tenha o máximo de certeza de que o paciente tomou o medicamento.

A *tolerância* será estudada mediante o exame clínico diário, tendo-se em vista as manifestações sugeridas pelo estudo farmacológico da droga, sem se sugestionar o paciente, adotando-se modelo próprio, e pela repetição, no final do tratamento, dos exames feitos antes de iniciá-lo, exceto o nº 3.

A *eficácia* será avaliada pelo xenodiagnóstico sêxtuplo e as reações sorológicas quantitativas (R.F.C., R.H.A. e T.I.F.), feitas de 15 em 15 dias.

3. *Fase pós-tratamento.* É a de avaliação dos resultados. Terminado o uso do medicamento, o doente recebe alta e comparece ao ambulatório e aos laboratórios, de 15 em 15 dias, durante pelo menos um ano, para exame clínico, xenodiagnóstico sêxtuplo e reações sorológicas feitos no mesmo dia.

O ensaio deve ser completamente anônimo ("double blind") ignorando a paciente e as outras pessoas, a natureza da medicação administrada.

DISCUSSÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS

Critério de cura. Que critério se poderia invocar para se afirmar a cura da doença de Chagas humana?

Tratando-se de doença parasitária, seria a demonstração da extinção do parasitismo depois do tratamento, e, como consequência, a negatificação progressiva das reações sorológicas.

Para demonstrar o desaparecimento do *Trypanosoma*, usamos o xenodiagnóstico por um período suficientemente longo, sendo de supor-se que o prazo de um ano poderia ser bastante, se os pacientes forem selecionados dentro das condições exigidas

neste trabalho e as reações sorológicas se negativarem ou caírem a títulos muito mais baixos que os da fase pré-tratamento.

Embora não se tenha ainda estabelecido o critério de cura da doença de Chagas, é de crer-se que, curada a doença, o xenodiagnóstico e as reações sorológicas deverão negativar-se.

Quanto ao primeiro, não há dúvida. A única incerteza seria por quanto tempo se deveriam fazer os exames, isto é, em que condições se poderia considerar o doente xeno-negativo. Até que a experiência de casos curados nos ensine a responder à pergunta, admitimos que o paciente seria xeno-negativo, se fossem negativos 24 xenos, com 48 ninfas, feitos após o tratamento, com intervalo mínimo de 15 dias, se as reações sorológicas também se negativarem, e o grupo testemunho permanecer inalterado.

No que se refere às reações sorológicas, é de esperar-se que, curada a doença, também elas se negativem. Uma vez desaparecido o complexo antigênico representado pelo *Trypanosoma cruzi*, presente no sangue e nos tecidos, é lícito esperar-se que os anticorpos por ele induzidos deixem de formar-se e tenham seu título progressivamente diminuído, até o desaparecimento total. Se os anticorpos são imunoglobulinas e se deixam de formar-se, cairá seu teor progressivamente e a positividade das reações imunológicas declinará, para desaparecer ao cabo de determinado tempo. Aprioristicamente, pois, poder-se-ia esperar que, curado o chagásico, as reações imunológicas ficariam negativas a partir do quarto mês. Em outras infecções por protozoários há exemplo de negatificação de reações sorológicas após a cura. Assim,

Chiari (6) observou que os títulos de anticorpos fluorescentes em soros de 40 pacientes clinicamente curados de leishmaniose tegumentar americana, com reações de Montenegro positivas, colhidos de 4 a 48 meses após o tratamento, se apresentaram negativos, exceto um cujo título era 1/90 (Em 30 normais, somente em três o título chegou a 1:20; em quatro, 1:10; em seis, 1:1).

Poder-se-ia pensar de modo diferente e acreditar que, a exemplo do que ocorre em outras doenças, como a sífilis e a boubá, as reações sorológicas, em especial, a reação de fixação do complemento, persistiriam positivas por longo tempo. Ou, então, indefinidamente, como ocorre na mãe sensibilizada ao fator Rh. Falaria a favor desta hipótese o fato de a tripanosomíase americana ser doença de longa duração, em que ocorre em equilíbrio imunológico, entre o parasito e o hospedeiro, muito prolongado, de muitas décadas mesmo.

Todavia, levando em consideração que ainda assim o fenômeno imunológico na enfermidade é a formação de anticorpos pelo hospedeiro contra o agente agressor, que é um organismo vivo, que se multiplica no paciente; que o medicamento extinguiu esse foco de estímulo para a imunogênese; que na fase aguda, a supressão do parasito se acompanha de negatificação ou queda dos títulos das provas imunológicas (4; 9), nós nos colocamos entre aqueles que esperam a negatificação das provas imunológicas, se o doente for curado. Não sabemos em quanto tempo se daria a inversão, mas esperamos não demore a surgir o medicamento que, experimentado segundo as bases estabelecidas neste trabalho, permitirá dar resposta certa a tais perguntas.

SUMMARY

After emphasizing the needs for standardization of processes for the clinical trial of drugs in Chagas' disease, the Authors report a method based in the principle that only patients with "high parasitemia" should be selected for therapeutic trials.

When patients with chronic Chagas' disease are monthly submitted to xenodiagnosis, the results are widely variable. While some patients show all the xenos to be positive (100%), others never have a positive xenodiagnosis (0%),

even if the period of observation goes for three year (table III). Between these extremes a regular gradation of positivity is observed.

It is necessary to establish, before treatment, the parasitological behaviour of the patient as xenodiagnosis is concerned, and only those patients with a positivity of the xenodiagnosis of 60 per cent or higher should be selected for the study.

The rules for the trial are presented, in relation to its three phases: pre-therapy, during the therapy (with the patients in the Hospital) and post-therapy. Three cases of a trial, still under way, with a derivative of nitrofur-furilidene (Bayer 2502) are shown, to exemplify the value of xenodiagnosis and serological tests in the evaluation of efficacy of the drug (tables IV, V and VI).

Finally the Authors discuss and define the criteria of cure of human Chagas' disease.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CANÇADO, J. ROMEU — Aspectos clínicos na padronização dos métodos de avaliação dos efeitos da terapêutica na doença de Chagas. *Rev. Goiana Med.* 9 (supl.): 217-232, 1963.
2. CANÇADO, J. R., MARRA, U. D., LOPEZ, M., MOURÃO, O., FARIA, C. A. F., ALVARES, J. M. & SALGADO, A. A. — Toxicidad e valor terapeutico del Bay 2502 en la enfermedad de Chagas cronica en três esquemas posológicos. *Bol. Chile. Parasit.* 24: 28-32, 1969.
3. CERISOLA, J. A., FATALA CHABEN, M. & LAZZARI, J. — Test de hemaglutinación para el diagnostico de la enfermedad de Chagas. *Proc. VII Inter. Congr. Trop. Med. Malária* 2: 252-253, 1964.
4. CERISOLA, J. A., ALVAREZ, M. & DE RISSIO, A. M. — Imunodiagnóstico da doença de Chagas. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 12: 403-411, 1970.
5. CHERRY, W. B., GOLDMAN, M. & CARSKI, T. R. — Fluorescent antibodies techniques in the diagnosis of communicable diseases. *Public. Health Service Publication nº 729*. Department of Health, Education and Welfare. Communicable Disease Center, Atlanta, Georgia, U.S.A., 1960.
6. CHIARI, C. A. — Pesquisa de anticorpos circulantes na leishmaniose tegumentar americana pela reação de imunofluorescência indireta. Tese de mestrado. Dep. Zoologia e Parasitologia, I.C.N., Belo Horizonte, 1971.
7. FREITAS, J. L. P. & ALMEIDA, J. O. — Nova técnica de fixação do complemento para moléstia de Chagas (Reação quantitativa com antígeno gelificado de culturas de *Trypanosoma cruzi*). *O Hospital*, Rio de Janeiro, 35: 787-800, 1949.
8. HAWKING, F. — Chemotherapy of trypanosomiasis, pag. 138, in SNITZER, J. R. e HAWKING, F., *Experimental Chemotherapy*, vol. I, Academic Press, N. York, 1963.
9. RASSI, A. & FERREIRA, H. O. — Tentativas de tratamento específico da fase aguda da doença de Chagas com nitrofuranos em esquemas de duração prolongada. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 5: 236-266, 1971.
10. SCHENONE, H., ALFARO, E., REYES, H. Y. & TAUCHER, E. — Valor del xenodiagnostico en la infeccion chagásica cronica. *Bol. Chile. Parasit.* 23: 149-154, 1968.
11. SCHENONE, H., CONCHA, L., ARANDA, R., ROJAS, A., ALFARO, E., KNIERIM, F. & ROJO, M. — Valor do xenodiagnóstico na avaliação do tratamento da infecção crônica pelo *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Goiana Med.* 16: 179-184, 1970.