

Benznidazol e Posaconazol na Eliminação de Parasitas em Portadores Assintomáticos de *T. Cruzi*

O Ensaio clinico STOP-CHAGAS

Carlos A. Morillo, MD,^a Hetty Waskin, MD, PhD,^b Sergio Sosa-Estani, MD,^c Maria del Carmen Bangher, MD,^d Carlos Cuneo, MD,^e Rodolfo Milesi, MD,^{f†} Marcelo Mallagray, MD,^g Werner Apt, MD, PhD,^h Juan Beloscar, MD,ⁱ Joaquim Gascon, MD, PhD,^j Israel Molina, MD, PhD,^k Luis E. Echeverria, MD,^l Hugo Colombo, MD,^m Jose Antonio Perez-Molina, MD, PhD,ⁿ Fernando Wyss, MD,^o Brandi Meeks, MENG,^a Laura R. Bonilla, MSc,^a Peggy Gao, MSc,^a Bo Wei, MSc,^b Michael McCarthy, MD,^p Salim Yusuf, MD, PhD,^a
em nome dos Investigadores do STOP-CHAGAS

RESUMO

FUNDAMENTOS O benznidazol está recomendado para o tratamento da infecção de Chagas. Os efeitos da terapia combinada com o benznidazol e posaconazol não foram testados nos portadores de *Trypanosoma cruzi*.

OBJETIVOS O propósito desse estudo foi determinar se o posaconazol isoladamente ou combinado com benznidazol foi superior à monoterapia com benznidazol na eliminação dos parasitas de *T. cruzi* avaliada por reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) nos portadores assintomáticos de Chagas.

MÉTODOS Um estudo prospectivo multicêntrico randomizado controlado por placebo foi conduzido em 120 indivíduos da América Latina e da Espanha, os quais foram randomizados para 4 grupos: posaconazol 400 mg duas vezes ao dia (bid); benznidazol 200 mg + placebo bid; benznidazol 200 mg bid + posaconazol 400 mg bid; ou placebo 10 mg bid. O ácido desoxirribonucleico do *T. cruzi* foi detectado por RT-PCR em 30, 60, 90, 120, 180 e 360 dias. O desfecho primário de eficácia foi a proporção de indivíduos com RT-PCR persistentemente negativa no dia 180; o desfecho secundário foi RT-PCR negativa em 360 dias.

RESULTADOS Apenas 13,3% dos que receberam posaconazol e 10% dos que receberam placebo atingiram o desfecho primário, em comparação com 80% dos que receberam benznidazol + posaconazol e 86,7% dos que receberam monoterapia com benznidazol ($p < 0,0001$ versus posaconazol/placebo). A monoterapia com posaconazol ou posaconazol combinada com benznidazol atingiram taxas de conversão elevadas da RT-PCR durante o tratamento (30 dias; 93,3% e 88,9% e 60 dias; 90% e 92,3%) que foram semelhantes ao benznidazol (89,7% e 89,3%); todas foram superiores ao placebo ou posaconazol (10% e 16,7%, $p < 0,0001$). Isso não foi observado em 360 dias; o benznidazol + posaconazol e o benznidazol em monoterapia (ambos 96%) versus placebo (17%) e posaconazol (16%, $p < 0,0001$). Eventos adversos sérios foram raros (6 pacientes) e foram observados nos pacientes tratados com benznidazol. A descontinuação permanente foi registrada em 19 pacientes (31,7%) que estavam recebendo quer monoterapia com benznidazol quer combinada com posaconazol.

CONCLUSÕES O posaconazol demonstrou atividade tripanostática durante o tratamento, mas é ineficaz a longo prazo nos portadores de *T. cruzi* assintomáticos. A monoterapia com benznidazol é superior ao posaconazol, com elevadas taxas de conversão da RT-PCR sustentadas em um ano. Os efeitos adversos levaram à descontinuação da terapia em 32%. Não foram observadas vantagens com a terapia combinada versus monoterapia com benznidazol. (A Study of the Use of Oral Posaconazole [POS] in the Treatment of Asymptomatic Chronic Chagas Disease [P05267] [STOP CHAGAS]: NCT01377480) (J Am Coll Cardiol 2017;69:939–47)

© 2017 pela American College of Cardiology Foundation.



Ouçá o áudio do sumário deste manuscrito pelo editor-chefe do JACC, Dr. Valentin Fuster.



Do ^aMcMaster University, Population Health Research Institute, Hamilton, Ontario, Canada; ^bMerck Sharp and Dohme Corporation, Kenilworth, New Jersey; ^cInstituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatala Chaben"—Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS), Buenos Aires, Argentina; ^dInstituto de Cardiología de Corrientes "Juana F. Cabral," Corrientes, Argentina; ^ePrevenção Cardiovascular, Hospital San Bernardo, Salta, Argentina; ^fCentro de Diagnóstico y Rehabilitación (CEDIR), Rosario, Santa Fe, Argentina; ^gSanatorio Nuestra Señora del Rosario, Centro de Investigaciones Médicas, San Salvador de Jujuy, Argentina; ^hFaculty of Medicine University of Chile, Basic Clinical Laboratory of Parasitology, Biomedical Science Institute, Santiago, Chile; ⁱHospital Provincial del Centenario, Rosario, Argentina; ^jISGlobal, Barcelona Centre for International Health Research, Hospital Clinic Barcelona, Barcelona, Spain; ^kInfectious Disease Department, Vall d'Hebron Teaching

A doença de Chagas deve-se à infecção por *Trypanosoma cruzi* e acarreta uma sobrecarga de doença tropical significativa no hemisfério ocidental (1,2). Estima-se que entre 5,7 a 9,4 milhões de pessoas estejam infectadas, das quais 20% a 30% irão desenvolver cardiomiopatia (3). Estimativas recentes projetam que 200.000 pessoas com doença de Chagas irão morrer de complicações cardiovasculares nos próximos cinco anos (4). No entanto, outras projeções originam estimativas mais baixas de 12.500 mortes anualmente, salientando a incerteza em torno das estimativas de prevalência precisas (3,4). O estudo *Global Burden of Disease*, realizado entre 1990 e 2013, estimou uma redução dos potenciais anos de vida perdidos de 343.000 para 245.000 anos (5).

Os atuais tratamentos têm eficácia mais baixa em adultos do que em indivíduos mais jovens, e a menor tolerabilidade, muitas vezes, compromete o tratamento (3). A determinação da resposta ao tratamento é um desafio, devido à resposta duradoura da sorologia; entretanto, a reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) foi recentemente desenvolvida como um método alternativo para documentar a infecção e monitorar a resposta à terapia (6-8). Recentemente, o ensaio clínico BENEFIT (*Benznidazole Evaluation for Interrupting Trypanosomiasis*) demonstrou atividade tripanossomícida modesta e não sustentada em indivíduos com cardiomiopatia estabelecida, apoiando ainda mais a necessidade de mais estratégias de tratamento eficazes (9).

O benznidazol (BNZ) e o nifurtimox são as únicas terapias disponíveis para o tratamento da infecção por *T. cruzi*, mas não é claro se os pacientes adultos com infecção por *T. cruzi* em longo prazo devem ou não ser tratados, dada a evidência clínica limitada e a falta de biomarcadores de eficácia terapêutica confiáveis (10,11). Estudos de terapia combinada com BNZ e cetoconazol, em modelo murino de infecção aguda por *T. cruzi*, demonstraram uma taxa de resposta substancialmente mais elevada na terapia combinada do que como monoterapia com qualquer agente, sugerindo uma possível sinergia da terapia de combinação, mas isso não foi avaliado em humanos (12). O posaconazol é considerado um bom candidato para o tratamento da forma amastigota intracelular do *T. cruzi*, dado o seu mecanismo de ação e perfil farmacocinético favorável (13,14). Um ensaio clínico recente que avaliou a eficácia de duas doses de POS (100 mg duas vezes ao dia [bid] e 400 mg bid) isoladamente mostrou taxas mais elevadas de falha no tratamento em comparação com o BNZ (5 mg/kg/dia), mas a terapia combinada não foi testada (15).

Delineamos o ensaio clínico STOP-CHAGAS (*Study of Oral Posaconazole in the Treatment of Asymptomatic Chronic Chagas Disease*) para avaliar a eficácia e segurança da monoterapia POS e POS em combinação com BNZ, administrados oralmente durante 60 dias para eliminar a parasitemia, medida por RT-PCR, em indivíduos com infecção de Chagas na forma crônica indeterminada.

MÉTODOS

CONCEPÇÃO DO ESTUDO. Conduzimos o ensaio clínico STOP-CHAGAS, no qual o POS foi administrado de modo randomizado, simples-cego, enquanto o BNZ foi administrado como um tratamento de identificação aberta, em 19 centros de cinco países na América Latina e da Espanha. O ensaio clínico foi concebido por um comitê de organização e os dados foram manejados, analisados e coordenados pelo Population Health Research Institute na Universidade de McMaster. O protocolo do estudo foi concebido e registrado em 2011, quando as estimativas de eficácia com base na RT-PCR para o BNZ eram limitadas. O protocolo foi aprovado pelos comitês de ética ou grupos de revisão institucionais e nacionais de cada centro de recrutamento (8 na Argentina, 1 no Chile, 3 na Colômbia, 3 na Guatemala, 1 no México e 3 na Espanha). Todos os pacientes inscritos deram consentimento informado por escrito. Todos os detalhes do protocolo são fornecidos no Apêndice *Online*.

POPULAÇÃO DO ESTUDO. O tratamento foi administrado durante 60 dias. Os pacientes elegíveis tinham entre 18 e 50 anos de idade, pesavam >60 kg, tinham evidência de infecção por *T. cruzi* através de um resultado positivo de sorologia (2 de 3 testes convencionais) e RT-PCR duplamente positiva para *T. cruzi*. Todos os indivíduos necessitaram de um eletrocardiograma de 12 derivações, ecocardiograma bidimensional e monitoramento com Holter de 24 horas normais, sem evidência de distúrbios do ritmo, incluindo taquicardia ventricular não sustentada (informação detalhada é fornecida na Tabela *Online* 1). Os pacientes foram distribuídos aleatoriamente para 1 de 4 grupos: 1) POS 400 mg bid; 2) BNZ 200 mg + placebo bid; 3) BNZ 200 mg bid + POS 400 mg bid; ou 4) placebo 10 mg bid.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO. Todos os pacientes foram acompanhados nos dias 15, 30, 45 e 60 (fim do

ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

bid = duas vezes ao dia

BNZ = benznidazol

CI = intervalo de confiança

DNA = ácido desoxirribonucleico

POS = posaconazol

RT-PCR = reação em cadeia da polimerase em tempo real

Hospital, Program of the Catalan Institute of Health, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain; [†]Fundación Cardiovascular de Colombia, Floridablanca, Colombia; [‡]Clinica Privada Colombo, Cordoba, Argentina; [§]Hospital Ramon y Cajal, National Referral Centre for Tropical Diseases, Infectious Diseases Department, Instituto Ramón y Cajal para Investigación en Salud (IRYCIS), Madrid, Spain; [¶]Sociedad Centroamericana de Hipertensión Arterial y Prevención Cardiovascular CARDIOCLINIK, Guatemala, Guatemala; and ^{||}Medimmune, Gaithersburg, Maryland. Este estudo foi financiado pela Merck. Dr. Waskin e B. Wei são funcionários e acionistas da Merck. Todos os outros autores declararam não ter relações relevantes com os conteúdos deste artigo para declarar.

[†]Dr. Rodolfo Milesi é falecido.

Manuscrito recebido em 25 de março de 2016; manuscrito revisado recebido em 8 de dezembro de 2016, aceito em 19 de dezembro de 2016.

tratamento) e nos dias 90, 120, 150, 180 e 360 após randomização. Todos os pacientes foram submetidos a um eletrocardiograma de 12 derivações e testes de função hepática basais e durante cada visita de acompanhamento durante o período de 60 dias. Amostras de RT-PCR para detectar o DNA ácido desoxirribonucleico do *T. cruzi* foram colhidas na fase basal e em 30, 60, 90, 120, 150, 180 e 360 dias. Amostras de sangue para avaliar a farmacocinética do POS foram obtidas para determinar a adesão ao fármaco e seus níveis nas visitas de tratamento nos dias 30 e 60. Todos os detalhes do protocolo e procedimentos do estudo são fornecidos no Apêndice *Online*.

METODOLOGIA DA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE. Amostras de sangue foram avaliadas de forma cega pelo grupo Translational Medicine Biomarker na Merck (Rahway, New Jersey). Antes da extração do DNA, 5 mL dos espécimes de sangue total colhidos nos tipos de DNA PAXgene (Qiagen, Hilden, Alemanha) foram primeiro lisados com 5 mL de DNA viral ZR tampão da Zymo Research (Irvine, Califórnia). O ensaio clínico PCR quantitativo baseado em TaqMan (Beckman Coulter, Brea, Califórnia) foi concebido de forma personalizada no local para detectar e quantificar DNA minicírculo cinetoplasto de duas cepas de *T. cruzi*, CL-Brener e K98, representando as duas linhagens de *T. cruzi*. Para a detecção do DNA cinetoplasto do *T. cruzi* por RT-PCR, cada amostra de DNA foi analisada três vezes com três ciclos de PCR, com quatro replicações técnicas por cada ciclo de RT-PCR. Apenas as amostras com 0 ou 1 sinais de amplificação positivos para as 12 reações RT-PCR foram consideradas negativas (16).

AMOSTRAGEM FARMACOCINÉTICA. As concentrações plasmáticas de POS foram medidas pré-dose nos dias 30 e 60. Uma vez que a concepção do estudo era cega quanto à atribuição da terapia com POS, as amostras foram colhidas em todos os indivíduos e analisadas para a concentração plasmática de POS. A avaliação farmacocinética e o intervalo-alvo estão sumarizados no Apêndice *Online*.

DESFECHOS DO ESTUDO. O desfecho primário de eficácia foi a proporção de indivíduos com RT-PCR persistentemente negativa no dia 180 em todos os grupos de tratamento. Os desfechos secundários incluíram a sustentabilidade em longo prazo da resposta por RT-PCR no fim do acompanhamento (dia 360), e a segurança e tolerabilidade do POS *versus* placebo, e da monoterapia ou terapia combinada com BNZ ou POS. Uma resposta bem-sucedida é definida por RT-PCR negativa no dia 180 (ou dia 150 se o dia 180 estivesse em falta), e em pelo menos duas amostras prévias.

ANÁLISE ESTATÍSTICA. As análises de desfechos de eficácia primária foram realizadas em todos os indivíduos randomizados nos seus braços de tratamento atribuídos (intenção de tratar), os quais foram definidos como a proporção de indivíduos que responderam com base na conversão da RT-PCR (negativa) no dia 180 (ou

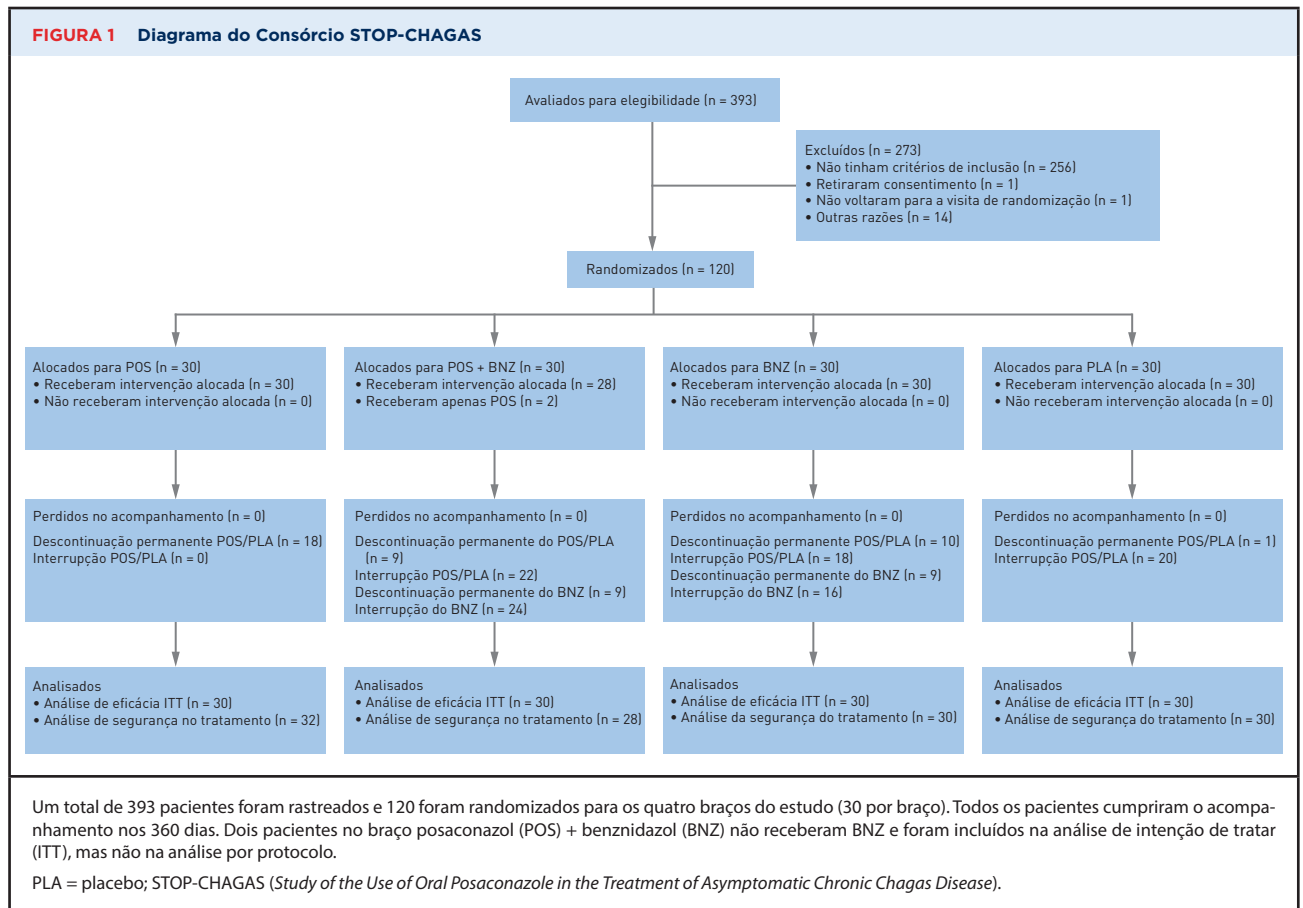
dia 150 se a amostra prévia estivesse em falta), em conjunto com uma RT-PCR em pelo menos duas amostras precedentes (*i.e.*, dias 120 e 150 ou dias 90 e 120 se a amostra do dia 180 estivesse em falta). Na revisão cega dos dados antes do encerramento da base de dados, uma consideração adicional para a determinação da resposta ao tratamento foi realizada para indivíduos com padrões de dados em falta diferentes dos descritos no texto anterior (*i.e.*, pelo menos três avaliações consecutivas, incluindo uma no acompanhamento) de resultados RT-PCR negativos (*i.e.*, um indivíduo seria considerado como respondedor ao tratamento se a RT-PCR fosse negativa nos dias 30, 60 e 180, com todos os outros pontos de tempo intermediários em falta). Por outro lado, um indivíduo não seria considerado como tendo uma resposta ao tratamento se qualquer dos resultados da RT-PCR fosse positivo nos dias 120, 150 ou 180. A análise por protocolo incluiu pacientes que completaram o tratamento e o acompanhamento.

Os desfechos secundários incluíram a sustentabilidade em longo prazo da resposta da RT-PCR no final do acompanhamento (dia 360). Uma resposta bem-sucedida foi definida como uma RT-PCR negativa no dia 180 (ou dia 150 se o dia 180 estivesse em falta) em pelo menos ambas das duas amostras precedentes. Uma mediana de cinco medições de RT-PCR foi obtida após o tratamento ser terminado por 180 dias. A segurança e tolerabilidade do POS *versus* placebo, e monoterapia ou terapia combinada com BNZ ou POS, foram também avaliadas durante o período de tratamento de 60 dias, e foram registradas.

As frequências e porcentagens de indivíduos com resposta de sucesso são apresentadas para a comparação do braço de monoterapia *versus* o braço placebo, e as proporções de resposta bem-sucedida entre os braços foram comparadas com a diferença do risco e seus intervalos de confiança (IC) de 95% usando o método de Miettinen e Nurminen (17). As frequências e porcentagens de indivíduos que relataram eventos adversos sérios foram tabuladas por braço de tratamento e comparadas usando o teste exato de Fisher. Todos os valores laboratoriais, intervalo QT (eletrocardiograma) e dados laboratoriais estão sumarizados como média \pm DP por braço de tratamento. As análises foram realizadas usando o *software* SAS (versão 9.4, SAS Institute, Cary, North Carolina).

CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA. Inicialmente estimamos que 40 indivíduos deveriam ser randomizados para cada braço de tratamento em uma proporção de randomização igual. Durante o ensaio clínico, uma comparação randomizada de duas doses de POS *versus* BNZ em um ensaio clínico com pacientes-estudo semelhantes aos do STOP-CHAGAS foi publicado, demonstrando uma falha de tratamento de 81% com a mesma dose de POS que o nosso ensaio clínico estava testando (15). Com base nestes dados externos, o tamanho da amostra foi recalculado para 30 pacientes por braço, o que ainda iria reter poder suficiente.

Assumimos que se o POS e o placebo tivessem taxas de resposta de 40% e 5% respectivamente, o tamanho da amostra iria originar um poder >95% para mostrar



diferenças significativas nas taxas de resposta entre os dois braços (para alfa <0,05). Uma taxa de resposta de 40% no braço POS foi selecionada como o ponto mínimo aceitável de estimativa de resposta, como medido por RT-PCR, que iria ser clinicamente significativo em relação a uma taxa de resposta no braço placebo de 5% e em relação a um ponto estimado de resposta esperada de 10% no braço BNZ (18).

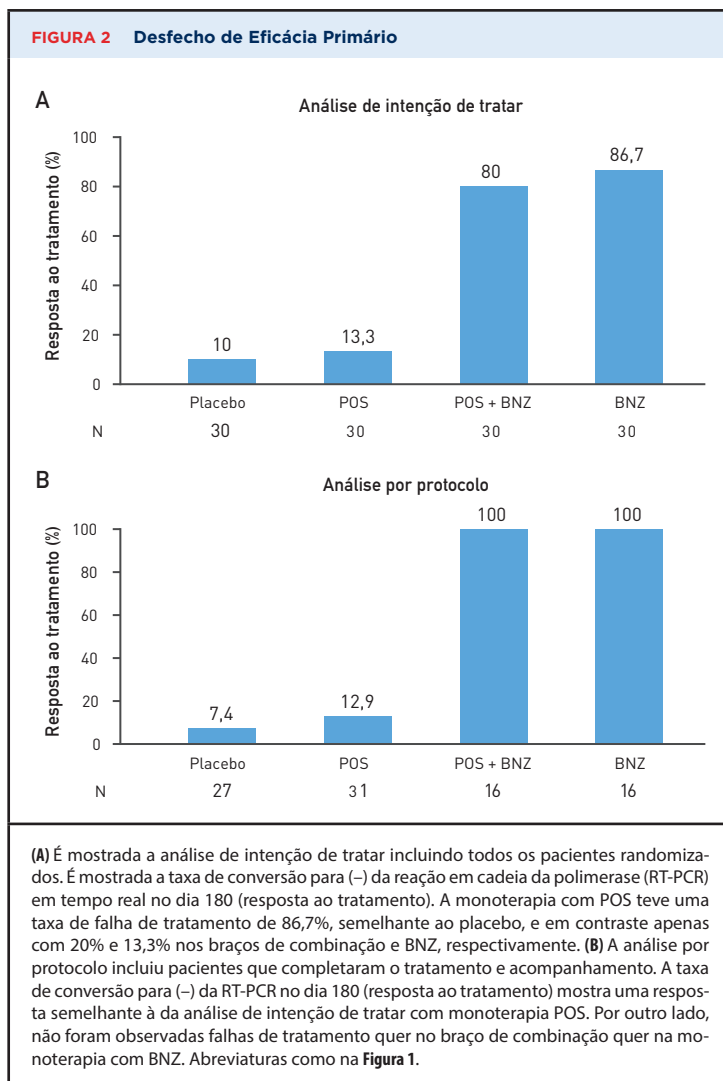
RESULTADOS

Entre 27 de julho de 2011 e 24 de dezembro de 2013, 393 pacientes foram rastreados e 120 foram randomizados (Figura 1). Trinta pacientes foram randomizados para cada braço do estudo. A maioria dos pacientes (93 [77,5%]) foi recrutada na Argentina, seguida do Chile (11 [9,1%]), e Espanha (10 [8,3%]), com a Colômbia, Guatemala e México recrutando os restantes seis pacientes (5%). Todos os pacientes estavam no estágio indeterminado da doença de Chagas. A média de idades foi de 38,6 ± 8,1 anos. As características basais foram todas equilibradas entre os grupos de tratamento (Tabela 1). Todos os indivíduos foram seguidos após o tratamento por até 300 dias (dia 360). Dois indivíduos que foram randomizados para receber BNZ + POS não receberam BNZ por erro.

DESFECHO PRIMÁRIO. O desfecho de eficácia primário foi definido como a proporção de indivíduos com RT-PCR negativa persistente no dia 180 (ou dia

TABELA 1 Características Basais da População do Estudo

	POS (n = 30)	BNZ (n = 30)	POS + BNZ (n = 30)	Placebo (n = 30)	Valor p
Masculino	50,0	43,3	53,3	76,7	0,0524
Média de idade, anos	38,7	38,1	37,6	38,7	
IMC, kg/m ²	28,0	28,5	27,6	27,8	
País					
Argentina	80,0	86,7	63,3	80,0	
Chile	10,0	6,7	10,0	10,0	
Colômbia	0,0	0,0	10,0	0,0	
Guatemala	3,3	0,0	0,0	3,3	
México	0,0	0,0	0,0	3,3	
Espanha	6,7	6,7	16,7	3,3	0,3429
FEVE, %	64,6 ± 7,0	65,2 ± 7,2	63,9 ± 8,7	66,9 ± 8,3	0,5136
Intervalo PR, ms	158,6 ± 22	155,2 ± 21,1	159,8 ± 19,2	161,7 ± 19,2	0,6617
QTc (Bazzett), ms	419,4 ± 19,4	421,1 ± 18,6	420 ± 14,7	412,3 ± 20,7	0,2253
Valores são % ou média ± DP, a menos que indicação em contrário. BNZ = benznidazol; FEVE = fração de ejeção ventricular esquerda; IMC = índice de massa corporal; POS = posaconazol; QTc = intervalo QT corrigido para a frequência cardíaca.					



150 se o 180 estivesse em falta) em todos os grupos de tratamento. Uma resposta bem-sucedida foi definida como uma RT-PCR negativa no dia 180 e por pelo menos duas amostras precedentes. A taxa de resposta da RT-PCR para a POS foi de 13,3% [IC 95%: 1,2% a 25,5%) versus 10% (IC 95%: 0% a 20,7%) para o placebo. Taxas de resposta RT-PCR de 80% (IC 95%: 65,7% a 94,3%) para POS + BNZ e 86,7% (IC 95%: 74,5% a 98,8%) para monoterapia com BNZ foram observadas. As últimas duas taxas de resposta foram significativamente mais elevadas do que para o placebo (diferença de risco de 10% entre POS + BNZ e placebo 70% [IC 95%: 48% a 84%]; diferença de risco BNZ versus placebo 77% [IC 95%: 56% a 89%] e POS 13,3%, diferença de risco entre POS + BNZ e POS 67% [IC 95%: 44% a 81%]; e entre BNZ e POS 73% [IC 95%: 56% a 86%]; $p < 0,0001$) (**Figura 2A**). Resultados semelhantes foram observados em uma análise por protocolo (**Figura 2B**).

Uma taxa de resposta de conversão RT-PCR elevada foi observada durante o tratamento, tanto em 30 dias como no fim do tratamento (dia 60), para todos os braços ativos. O POS mostrou taxas de conversão RT-PCR significativas de 93,3% e 90%, respectivamente, em comparação com 10% e 16,7% no grupo placebo ($p < 0,001$). BNZ e POS como monoterapia ou em combinação tiveram taxas de conversão RT-PCR significativamente mais elevadas durante o tratamento nos dias 30 e 60 (fim do tratamento); monoterapia com POS 93% e 90%, POS + BNZ 88,9% e 92,3%, e BNZ 89,7% e 89,3%, respectivamente, comparados com placebo (10% e 16,7%, $p < 0,0001$).

DESFECHOS SECUNDÁRIOS. A sustentabilidade da resposta RT-PCR foi observada apenas nos braços de monoterapia com BNZ ou BNZ + POS em todos os pontos de tempo (90, 120, 150, 180 e 360 dias) em comparação com o placebo (16,7%) e POS (23,3%) no dia 360, respectivamente ($p < 0,0001$) (**Ilustração Central**).

Eventos adversos sérios foram relatados em seis pacientes e foram primariamente observados nos braços do estudo que receberam monoterapia com BNZ ou BNZ em combinação com POS (**Tabela 2**). O evento adverso sério mais frequente reportado com a terapia com BNZ está relacionado com as reações cutâneas (7%) (**Tabela 2**). A frequência dos eventos adversos foi mais elevada em todos os grupos de estudo que receberam BNZ, particularmente reação cutânea (52% versus 8%), seguido de distúrbios do sistema nervoso (33% versus 11%) e sinais e sintomas gastrointestinais (31% versus 27%). De modo global, os eventos adversos mais frequentemente relatados foram cefaleia (14%), náusea (10%) e eritema (10%). Não foram observados efeitos significativos no intervalo QT com o BNZ isoladamente ou em combinação com POS.

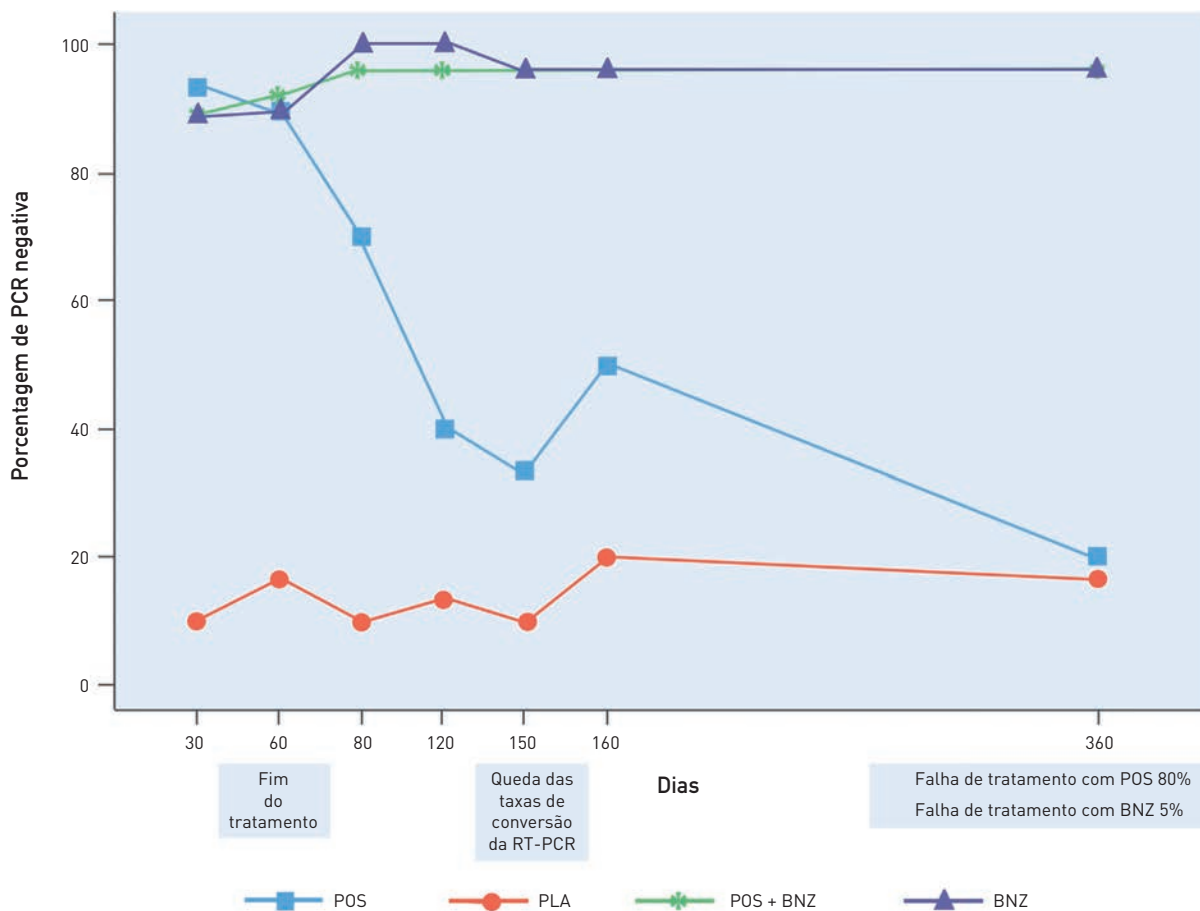
FARMACOCINÉTICA. As exposições estado-mantido para POS foram de 291 ng/mL a 2,395 ng/mL, mas não houve relação entre a exposição e a resposta em curto ou longo prazo.

ADESÃO. Globalmente, 98 pacientes (81,6%) completaram o tratamento atribuído. Todos os pacientes no braço POS completaram o tratamento e 97% no braço placebo completaram o tratamento. Nos braços que receberam BNZ, descontinuação temporária foi relatada 40 pacientes (66,7%) e descontinuação permanente em 19 pacientes (31,7%) que estavam recebendo BNZ ou BNZ + POS.

DISCUSSÃO

Em indivíduos com infecção de Chagas assintomática crônica, o POS administrado por 60 dias teve uma atividade tripanostática em curto prazo significativa, levando a conversão negativa da RT-PCR em 90% dos pacientes; no entanto, esse efeito não foi sustentado em um ano. Por outro lado, o BNZ demonstrou atividade tripanossomocida forte e taxas de eficácia elevadas durante o

ILUSTRAÇÃO CENTRAL BNZ Versus POS Versus a sua Combinação na Infecção por *T. cruzi* Assintomática



Morillo, C.A. et al. J Am Coll Cardiol. 2017;69(8):939-47.

Proporção das taxas negativas da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) em tempo real após 30 dias e fim do tratamento (60 dias), e em todas as visitas de acompanhamento por alocação de tratamento. Taxas de conversão negativa da RT-PCR foram significativamente mais elevadas em todos os braços do tratamento em comparação com o placebo (PLA) em 30 e 60 dias (fim do tratamento), com apenas 10% de taxa de falha de tratamento. No entanto, visto que o tratamento foi terminado em 60 dias, uma acentuada queda das taxas de conversão da RT-PCR foi observada com o braço de monoterapia com posaconazol (POS). Isso foi semelhante às taxas do placebo, que continuaram diminuindo em 360 dias para uma taxa geral de conversão a RT-PCR negativa de apenas 20% (80% de falha do tratamento) em comparação com 95% (falha do tratamento de 5%) nos braços de tratamento combinado e monoterapia com benznidazol (BNZ). *T. cruzi* = *Trypanosoma cruzi*.

tratamento que foram sustentadas ao fim do acompanhamento em um ano. A combinação do BNZ com POS não teve benefícios adicionais em comparação com os da monoterapia com BNZ. A descontinuação permanente do tratamento com BNZ foi frequente e registrada em 32% dos pacientes.

A exploração de novas abordagens terapêuticas para o tratamento da doença de Chagas é uma prioridade, dadas as elevadas taxas de efeitos adversos e de descontinuação terapêutica com as terapias disponíveis atualmente (19,20). De forma semelhante, a redução da carga da doença e progressão para cardiomiopatia é crítica, uma vez que 5,7 a 9,4 milhões de pessoas em todo o mundo estão atualmente infectadas

com o *T. cruzi*, e projeta-se que irão ocorrer 40.000 mortes anuais associadas a complicações cardíacas da infecção de Chagas nos próximos cinco anos (4). A transmissão do *T. cruzi* também foi recentemente documentada nos Estados Unidos, com evidência de manifestações cardíacas de Chagas entre doadores de sangue do Texas (21,22). Não existe atualmente acordo sobre se todos os pacientes com infecção de Chagas crônica assintomática devem receber tratamento com terapia tripanossomicida (23), o que justifica o uso do braço com placebo. Vários estudos observacionais e meta-análises de estudos não randomizados sugerem que o BNZ é um agente tripanossomicida eficaz (24-26). No entanto, existe pouca evidência de que o BNZ

TABELA 2 Eventos Adversos e Anomalias Laboratoriais

	POS	PLA	POS + BNZ	BNZ + PLA	Diferença BNZ-Sem BNZ
Pacientes tratados	32	30	28	30	
Qualquer evento adverso sério	0 (0,0)	1 (3,3)	2 (7,1)	3 (10,0)	
Hepatite	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,6)	0 (0,0)	
Traumatismo craniano	0 (0,0)	1 (3,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Neuropatia periférica	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,3)	
Aborto espontâneo	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,3)	
Eritema	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,6)	1 (3,3)	
Qualquer evento adverso	20 (62,5)	15 (50,0)	22 (78,6)	26 (86,7)	26,0 (10 a 41)
Reações cutâneas	2 (6,3)	3 (10,0)	12 (42,9)	18 (60,0)	44,0 (29 a 57)
Distúrbios gastrointestinais	12 (37,5)	5 (16,7)	10 (35,7)	8 (26,7)	4,0 (-13 a 20)
Distúrbios do sistema nervoso	4 (12,5)	3 (10,0)	9 (32,1)	10 (33,3)	22,0 (7,0 a 36)
Pacientes randomizados	30	30	30	30	
Descontinuação dos fármacos do tratamento	0 (0,0)	1 (3,3)	9 (30,0)	10 (33,3)	
Anomalias laboratoriais					
Alanina aminotransferase > 3 × LSN	1 (3,3)	1 (3,3)	2 (6,7)	2 (6,7)	
Alanina aminotransferase > 5 × LSN	0 (0,0)	1 (3,3)	2 (6,7)	0 (0,0)	

Os valores são n, n(%) ou % (IC 95%).
IC = intervalo de confiança; LSN = limite superior do normal; PLA = placebo; outras abreviaturas como na Tabela 1.

afete a progressão para o estágio miocardiopático, e o ensaio clínico BENEFIT recentemente publicado não mostrou evidência de retardo na progressão da cardiomiopatia com o tratamento tripanossomicida por 60 dias em pacientes com cardiomiopatia estabelecida (9,27). No entanto, dada a putativa evidência suportando o papel dos parasitas na determinação da progressão para cardiomiopatia (28,29), a terapia tripanossomicida em indivíduos infectados parece razoável se estiver disponível um agente eficaz e seguro. Recentes estudos transversais correlacionando a detecção de DNA do parasita *T. cruzi* por RT-PCR com a taxa de progressão para cardiomiopatia têm sido contraditórios, e mais estudos são necessários para estabelecer o papel do tratamento etiológico (30-32). De forma semelhante, em mulheres em idade gestacional, o tratamento tripanossomicida constitui um benefício claro na prevenção da transmissão congênita (33).

Nosso ensaio clínico demonstrou um efeito tripanostático significativo do POS durante o tratamento, mas esse efeito não foi sustentado. Este achado sugere que a atividade tripanostática com POS está provavelmente relacionada com seus níveis de concentração no sangue e inversamente com níveis de tripomastigotas no sangue periférico. Concentrações mais elevadas podem ser necessárias para sustentar a atividade tripanossomicida e a terapia prolongada, ou uma dose de reforço pode ser necessária para conseguir a eliminação do parasita. Por outro lado, o BNZ teve taxas mais

elevadas de conversão da RT-PCR em 30 dias de tratamento, que foram mantidos ao longo do acompanhamento de 360 dias. A razão para a atividade tripanostática limitada com o POS é pouco clara, e a discrepância com os modelos murinos pode estar relacionada com diferenças no genótipo do *T. cruzi* e com a sua sensibilidade ao tratamento, propriedades farmacocinéticas diferentes no modelo animal ou um nível diferente de complexidade do ciclo de *T. cruzi* em humanos (34-36).

Nossos achados são consistentes com o CHAGASAZOL (*Clinical Trial for the Treatment of Chronic Chagas Disease with Posaconazole and Benznidazole*), que estudou pacientes semelhantes com as formas intermediárias e precoces da cardiomiopatia da doença de Chagas, e nos quais a mesma dose de POS testada no nosso ensaio clínico resultou em uma taxa de falha de tratamento de 81% (definida como RT-PCR persistentemente positiva), em comparação com 38% no grupo BNZ ($p < 0,01$) (16). Pela nossa definição, isso traduz-se em taxas de resposta de 19% e 62% nos grupos POS e BNZ, respectivamente. Nossas taxas de conversão da RT-PCR superiores podem estar relacionadas com a dose mais elevada de BNZ usada no nosso ensaio clínico (200 mg bid) em comparação com 150 mg bid no ensaio clínico CHAGASAZOL (16). Além disso, o ensaio clínico CHAGASAZOL não teve um braço com placebo, assim a verdadeira taxa de RT-PCR positiva é desconhecida.

São necessários regimes eficazes e seguros alternativos para eliminar o *T. cruzi*, dadas as elevadas taxas de efeitos colaterais dos tratamentos atuais. No nosso estudo, 32% dos pacientes tiveram de descontinuar a terapia de modo permanente devido a efeitos colaterais. Essa taxa é mais elevada do que a dos ensaios clínicos CHAGASAZOL e BENEFIT, que relataram taxas de descontinuação permanente de 19% e 13% respectivamente, e é provável que esteja relacionada com uma dose BNZ mais elevada usada no nosso ensaio clínico (9,16). O tempo médio de descontinuação de terapia no nosso ensaio clínico foi de 40 dias, o que parece ter sido suficiente para eliminar o DNA do *T. cruzi*, como confirmado pela taxa de conversão da RT-PCR em 30 dias, com os benefícios sustentados em um ano. Estes achados suscitam questões sobre se um ciclo de tratamento mais curto (30 dias) é suficiente, como reportado previamente por Viotti *et al.* (27) e Fabbro *et al.* (33). Regimes intermitentes de BNZ foram recentemente propostos por Álvarez *et al.* (37), que reportaram eficácia semelhante e menos efeitos colaterais.

A detecção do DNA parasitário por RT-PCR foi usada como um marcador de resposta terapêutica. Essa abordagem parece razoável, dada a circulação intermitente de parasitas em indivíduos com infecção crônica assintomática por *T. cruzi* (38,39). Nosso estudo usou uma abordagem padronizada com validação rigorosa da RT-PCR, além de ter um braço utilizando placebo que nos forneceu a verdadeira taxa de resposta ao tratamento. No nosso estudo, a taxa de conversão da RT-PCR no grupo-placebo foi de 10%, mas foi observada de forma consistente em múltiplos pontos temporais ao longo do período de um ano de estudo. Estes achados apoiam o uso de RT-PCR como marcador de resposta terapêutica em indivíduos com infecção crônica assintomática por *T. cruzi*.

LIMITAÇÕES DO ESTUDO. O acompanhamento foi limitado a apenas um ano e, como tal, o efeito do tratamento tripanossomicida na progressão para cardiomiopatia é desconhecido.

CONCLUSÕES

Em indivíduos com infecção crônica assintomática por *T. cruzi*, o POS tem um efeito terapêutico tripanostático significativo em curto prazo; no entanto, esse efeito não é sustentado. A monoterapia com BNZ é superior à monoterapia com POS e atingiu a conversão da RT-PCR do *T. cruzi* em todos os indivíduos sob tratamento por 30 dias; o que foi sustentado por pelo menos um ano. A descontinuação permanente do BNZ foi frequente, e a terapia de combinação não originou mais nenhuma vantagem em comparação com a monoterapia com BNZ.

AGRADECIMENTOS. Os autores agradecem aos Investigadores do STOP-CHAGAS, que estão listados no Apêndice *Online*.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA. Dr. Carlos A. Morillo, Libin Cardiovascular Institute, University of Cal-

gary, Population Health Research Institute – McMaster University, Foothills Medical Centre Room C8231403 29th Avenue NW, Calgary, Alberta T2N 2T9, Canada. E-mail: carlos.morillo@ucalgary.ca OU Carlos.Morillo@phri.ca.

PERSPECTIVAS

COMPETÊNCIA NOS CUIDADOS DO PACIENTE E CAPACIDADE DE PROCEDIMENTOS:

Em portadores assintomáticos de *T. cruzi*, que causa a doença de Chagas, o tratamento por 60 dias com BNZ foi superior ao POS isoladamente ou POS + BNZ, eliminando o DNA parasitário circulante detectável em >90% dos pacientes por 30 dias, e o efeito foi sustentado por pelo menos um ano.

PERSPECTIVA TRANSLACIONAL: Mais trabalho é necessário para ultrapassar os efeitos colaterais do BNZ, o que resultou em descontinuação em um terço dos pacientes, incluindo avaliação de ciclos mais curtos de terapia e o desenvolvimento de agentes antiparasitários mais bem tolerados.

REFERÊNCIAS

1. Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates. *Wkly Epidemiol Rec* 2015;90:33-44.
2. Rassi A Jr, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet* 2010;375:1388-402.
3. Bern C. Chagas disease. *N Engl J Med* 2015;373:456-66.
4. Pecoul B, Batista C, Stobbaerts E, et al. The BENEFIT trial: where do we go from here? *PLoS Negl Trop Dis* 2016;10:e0004343.
5. GBD 2013 Mortality and Cause of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2015;385:117-71.
6. Britto C. Usefulness of PCR-based assays to assess drug efficacy in Chagas disease chemotherapy: value and limitations. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009;104 Suppl 1:122-35.
7. Schijman AG, Bisio M, Orellana L, et al. International study to evaluate PCR methods for detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood samples from Chagas disease patients. *PLoS Negl Trop Dis* 2011;5:e931.
8. Sguassero Y, Cuesta CB, Roberts KN, et al. Course of chronic *Trypanosoma cruzi* infection after treatment based on parasitological and serological tests: a systematic review of follow-up studies. *PLoS One* 2015;10:e0139363.
9. Morillo CA, Marin-Neto JA, Avezum A, et al., for the BENEFIT Investigators. Randomized trial of benznidazole for chronic Chagas' cardiomyopathy. *N Engl J Med* 2015;373:1295-306.
10. Bern C, Montgomery SP, Herwaldt BL, et al. Evaluation and treatment of Chagas disease in the United States: a systematic review. *JAMA* 2007;298:2171-81.
11. Pinazo MJ, Thomas MC, Bua J, et al. Biological markers for evaluating therapeutic efficacy in Chagas disease, a systematic review. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2014;12:479-96.
12. Araújo MS, Martins-Filho OA, Pereira ME, Brenner Z. A combination of benznidazole and ketoconazole enhances efficacy of chemotherapy of experimental Chagas' disease. *J Antimicrob Chemother* 2000;45:819-24.
13. Soeiro Mde N, de Souza EM, da Silva CF, et al. In vitro and in vivo studies of the antiparasitic activity of sterol 14 α -demethylase (CYP51) inhibitor VNI against drug-resistant strains of *Trypanosoma cruzi*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57:4151-63.
14. Diniz Lde F, Urbina JA, de Andrade IM, et al. Benznidazole and posaconazole in experimental Chagas disease: positive interaction in concomitant and sequential treatments. *PLoS Negl Trop Dis* 2013;7:e2367.
15. Wei B, Chen L, Kibukawa M, Kang J, Waskin H, Marton M. Development of a PCR assay to detect low level *Trypanosoma cruzi* in blood specimens collected with PAXgene blood DNA tubes for clinical trials treating Chagas disease. *PLoS Negl Trop Dis* 2016;10:e0005146.
16. Molina I, Gómez I, Prat J, Salvador F, et al. Randomized trial of posaconazole and benznidazole for chronic Chagas' disease. *N Engl J Med* 2014;370:1899-908.
17. Miettinen O, Nurminen. Comparative analysis of two rates. *Stat Med* 1985;4:213-26.
18. Fernandes CD, Tiecher FM, Balbinot M, et al. Efficacy of benznidazole treatment for asymptomatic chagasic patients from state of Rio Grande do Sul evaluated during a three years follow-up. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009;104:27-32.
19. Soy D, Aldasoro E, Guerrero L, et al. Population pharmacokinetics of benznidazole in adult patients with Chagas disease. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:3342-9.
20. Bermudez J, Davies C, Simonazzi A, Real JP, Palma S. Current drug therapy and pharmaceutical challenges for Chagas disease. *Acta Trop* 2016;156:1-16.
21. Garcia MN, Murray KO, Hotez PJ, et al. Development of Chagas cardiac manifestations among Texas blood donors. *Am J Cardiol* 2015;115:113-7.
22. Garcia MN, Aguilar D, Gorchavok R, et al. Evidence of autochthonous Chagas disease in southeastern Texas. *Am J Trop Med Hyg* 2015;92:325-30.
23. Andrade JP, Marin-Neto JA, Paola AA, et al. Latin American guidelines for the diagnosis and treatment of Chagas' heart disease: executive summary. *Arq Bras Cardiol* 2011;96:434-42.
24. Viotti R, Vigliano C, Lococo B, et al. Long-term cardiac outcomes of treating chronic Chagas disease with benznidazole versus no treatment: a nonrandomized trial. *Ann Intern Med* 2006;144:724-34.
25. Villar JC, Perez JG, Cortes OL, et al. Trypanocidal drugs for chronic asymptomatic *Trypanosoma cruzi* infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;5:CD003463.
26. Pérez-Molina JA, Pérez-Ayala A, Moreno S, Fernández-González MC, Zamora J, López-Velaz R. Use of benznidazole to treat chronic Chagas' disease: a systematic review with a meta-analysis. *J Antimicrobial Chemother* 2009;64:1139-47.
27. Viotti R, Vigliano C, Armenti H, Segura E. Treatment of chronic Chagas' disease with benznidazole: clinical and serologic evolution of patients with long-term follow-up. *Am Heart J* 1994;127:151-62.
28. Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC, Simões MV. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. *Circulation* 2007;115:1109-23.

- 29.** Garcia S, Ramos CO, Senra JF, et al. Treatment with benznidazole during the chronic phase of experimental Chagas' disease decreases cardiac alterations. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:1521-8.
- 30.** Norman FF, Pérez-Ayala A, Pérez-Molina JA, et al. Lack of association between blood-based detection of *Trypanosoma cruzi* DNA and cardiac involvement in a non-endemic area. *Ann Trop Med Parasitol* 2011;105:425-30.
- 31.** Sabino EC, Ribeiro AL, Lee TH, et al., for the Chagas Study Group of the NHLBI Retrovirus Epidemiology Donor Study-II, International Component. Detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood by PCR is associated with Chagas cardiomyopathy and disease severity. *Eur J Heart Fail* 2015;17:416-23.
- 32.** Basquiera AL, Sembaj A, Aguerri AM, et al. Risk progression to chronic Chagas cardiomyopathy: influence of male sex and of parasitaemia detected by polymerase chain reaction. *Heart* 2003;89:1186-90.
- 33.** Fabbro DL, Danesi E, Olivera V, et al. Trypanocide treatment of women infected with *Trypanosoma cruzi* and its effect on preventing congenital Chagas. *PLoS Negl Trop Dis* 2014;8:e3312.
- 34.** Veloso VM, Carneiro CM, Toledo MJ, et al. Variation in susceptibility to benznidazole in isolates derived from *Trypanosoma cruzi* parental strains. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001;96:1005-11.
- 35.** Zingales B, Miles MA, Moraes CB, et al., for Drugs for Neglected Disease Initiative, Chagas Clinical Research Platform Meeting Investigators. Drug discovery for Chagas disease should consider *Trypanosoma cruzi* strain diversity. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2014;109:828-33.
- 36.** Deng X, Sabino EC, Cunha-Neto E, et al., for the REDSII Chagas Study Group from the NHLBI Retrovirus Epidemiology Donor Study-II Component International. Genome wide association study (GWAS) of Chagas cardiomyopathy in *Trypanosoma cruzi* seropositive subjects. *PLoS One* 2013;8:e79629.
- 37.** Álvarez MG, Hernández Y, Bertocchi G, et al. New scheme of intermittent benznidazole administration in patients chronically infected with *Trypanosoma cruzi*: a pilot short-term follow-up study with adult patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;60:833-7.
- 38.** Wincker P, Britto C, Pereira JB, Cardoso MA, Oelemann W, Morel CM. Use of a simplified polymerase chain reaction procedure to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples from chronic chagasic patients in a rural endemic area. *Am J Trop Med Hyg* 1994;51:771-7.
- 39.** Márquez ME, Concepción JL, González-Marcano E, Mondolfi AP. Detection of *Trypanosoma cruzi* by polymerase chain reaction. *Methods Mol Biol* 2016;1392:125-41.

PALAVRAS-CHAVE Doença de Chagas, análise de intenção de tratar, parasitemia, reação em cadeia da polimerase, falha no tratamento, agentes tripanossomicidas

APÊNDICE Para a informação dos investigadores e do comitê de estudo, critérios de inclusão e exclusão, e uma seção de Métodos ampliada, por favor veja a versão *online* deste artigo.