

ANÁLISE DE CALDO DE CANA COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DE CAPANEMA- PR EM RELAÇÃO À PRESENÇA DO *Trypanosoma cruzi*.

ABREU, Milena ¹
ALESSIO, Carlos Eduardo ²

RESUMO

A doença de Chagas é uma infecção causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, tendo como principal vetor o inseto barbeiro. A contaminação ocorre por diversas vias: a vetorial, quando acontece a picada do inseto; a congênita, ocorre de mãe para filho na gestação; por meio de transfusão de sangue e transplante de órgãos. A contaminação mais relevante atualmente é a de via oral, resultante do aumento do consumo de alimentos contaminados como o caldo-de-cana e o açaí devido a sua popularização. O caldo de cana, conhecido também como garapa, é uma bebida apetitosa que não contém álcool, muito popular no Brasil. Tendo em vista a resolução RDC nº 218, de 29 de julho de 2005, regulamento da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), as unidades de comercialização têm de regularizar-se dentro dos procedimentos higiênicos-sanitários. O objetivo do presente trabalho foi verificar se o caldo-de-cana comercializado e consumido em Capanema-PR estava ou não contaminado pelo *T. cruzi*. O estudo foi realizando adaptando um método laboratorial de Mattos (2017). As análises foram realizadas por meio de amostras, visualizando-as na microscopia óptica comum no aumento de 40x. Onde resultou em negativo para *Trypanosoma*.

PALAVRAS-CHAVE: *Trypanosoma cruzi*, doença de Chagas, análise de alimentos, caldo de cana, alimentos de rua.

ANALYSIS OF SUGARCANE JUICE MARKETED IN THE CITY OF CAPANEMA-PR IN RELATION TO THE PRESENCE OF *Trypanosoma cruzi*.

KEYWORDS: *Trypanosoma cruzi*, Chagas disease, food analysis, sugarcane juice, street foods.

1. Acadêmico de graduação de Ciências Biológicas, licenciatura do centro universitário FAG.
milenadeabreu@hotmail.com

2. Orientador. Especialista em docência do ensino superior, FAG. Docente do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário FAG. alessiobio@hotmail.com

INTRODUÇÃO

O *Trypanosoma cruzi* e a doença de Chagas foram descobertos pelo pesquisador e médico brasileiro Carlos Ribeiro Justiniano de Chagas, como seguidor das teorias de Pasteur e Koch sobre a atuação dos microrganismos nas enfermidades, compreendia também a ação dos insetos na transmissão de doenças. Em 1907 foi para o interior de Minas Gerais, onde se construía uma estação de ferrovia, que era constantemente pausada devido a malária. Com o intuito de realizar pesquisas sobre malária e combater a doença, instalou um laboratório em um dos vagões do trem coordenava campanhas de profilaxia e coletava espécies da fauna brasileira. Ao examinar o sangue de um sagui em 1908, encontrou formas de um novo *Trypanosoma*, ao qual chamou de *T. minasense* parasito habitual do macaco e não patógeno (KROPF, 2017).

Ao ouvir relatos sobre um percevejo hematófago na região, conhecido como barbeiro, por atacar os moradores durante a noite, no rosto. Então Chagas examinou alguns desses insetos e encontrou um protozoário flagelado em seus intestinos, enviando então para Oswaldo Cruz alguns daqueles insetos, Oswaldo então os fez se alimentarem de saguis criados em laboratório, livres de contaminação, cerca de um mês depois, avisou a Chagas que encontrou formas de tripanosoma no sangue de um dos animais que estava doente. Ao retornar ao instituto Chagas constatou que se tratava de uma nova espécie de tripanosoma, não sendo o *T. minasense*. Batizando de *Trypanosoma cruzi* em homenagem ao seu orientador Oswaldo Cruz. Ao retornar para o interior de Minas Gerais, Chagas verificou a presença do *T. cruzi* no sangue de um gato. E em 1909 encontrou o parasita no sangue de uma criança febril. Sendo o primeiro pesquisador a constatar o vetor, o agente etiológico e a doença causada por ele (MASCARANI, 2003).

A suposição mais comum é que a doença de Chagas tenha surgido na pré-história quando se começou a domesticar animais, plantar os alimentos. Essas mudanças de vida ocorreram a 6.000 anos atrás. Contudo dados paleoparasitológicos revelam que a doença e o parasita eram comuns entre as populações pré-históricas muito antes desse período. Propondo que a doença é tão antiga quanto a presença humana no continente, que a entrada dos humanos no ciclo de transmissão começou assim que chegaram ao continente americano (FERREIRA *et al*, 2011).

O barbeiro pode ser encontrado no ambiente silvestre (na mata) local apropriado para o seu desenvolvimento, ocupam ninhos de pássaros, buracos de arvores e palmeiras. Os animais

1. Acadêmico de graduação de Ciências Biológicas, licenciatura do centro universitário FAG.
milenadeabreu@hotmail.com

2. Orientador. Especialista em docência do ensino superior, FAG. Docente do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário FAG. alessiobio@hotmail.com

como pássaros, lagartos e mamíferos de pequeno e médio porte servem de alimentação para os triatomíneos. Quando seu ambiente natural é alterado esses insetos podem colonizar o ambiente peridomiciliar, como os galinheiros, currais, amontoados de madeira ou paióis, ou locais de armazenamento de grãos, outro ambiente é o intradomicílio, ou seja, dentro das casas (MEIS e CASTRO, 2017).

Existem vetores do *Trypanosoma cruzi* dos Estados Unidos até a Argentina. A doença ou o protozoário eram limitados ao ambiente silvestre e contaminaram o ser humano devido ao seu avanço nesse ambiente e suas moradias precárias, dividindo então espaço e ofertando alimento ao vetor (VINHAES e DIAS, 2000). O continente americano apresenta mais de 140 espécies do vetor, por isso a doença é também conhecida como “tripanossomíase Americana”. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que o número de infectados no mundo é de 7 milhões de pessoas, sendo a maioria da América latina. Considerado um problema de saúde pública no Brasil, a dificuldade encontrada é o pouco estudo a respeito do assunto e de seu histórico no Brasil (DIAS et al., 2015).

“Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a doença de Chagas está entre as dezessete doenças tropicais negligenciadas, atingindo cerca de 6 a 7 milhões de pessoas no mundo. Na América Latina há cerca de 5 milhões e no Brasil há 2 milhões de chagásicos, ocorrendo 50.000 novos casos ao ano e 12.000 mortes ao ano, especialmente nos 21 países endêmicos da América Latina (OPAS/OMS, 2016). Os países Argentina, Brasil e México concentram mais de 60% dos casos, seguidos pela Bolívia e Colômbia” (Schmunis e Yadon, 2010; WHO, 2015 apud MATTOS, 2017).

Os casos da doença de Chagas vêm aumentando de forma relevante devido à ingestão de alimentos contaminados. Estima-se que 72% dos casos tenham sido gerados pela transmissão oral. Presume-se que existam aproximadamente 12 milhões de portadores da doença na fase crônica nas Américas e que exista no Brasil pelo menos um milhão de pessoas infectadas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

Na década de 70, o número de contaminações nos estados e municípios era vasto. A partir de iniciativas de campanhas de saúde pública dos países envolvidos, houve ampla melhora em relação a transmissões vetoriais, ou seja, por meio do contato direto com o vetor, que pica o ser humano para se alimentar. Após a ingestão do sangue, o inseto defeca e urina no

1. Acadêmico de graduação de Ciências Biológicas, licenciatura do centro universitário FAG.
milenadeabreu@hotmail.com

2. Orientador. Especialista em docência do ensino superior, FAG. Docente do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário FAG. alessiobio@hotmail.com

local, liberando assim *trypanosomas*. O hospedeiro coça o local da picada, ajudando assim os parasitas a entrarem na corrente sanguínea e contaminarem o indivíduo (COSTA et al., 2013).

O protozoário apresenta três formas evolutivas, qual podem ser identificadas na microscopia óptica: Amastigota, epimastigota e tripomastigota. A forma amastigota mede entre 2 e 6,5 μm , forma arredondada, pouco citoplasma, núcleo grande, cinetoplasto (organela que contem DNA) bem visível, não possui flagelo exteriorizado e nem membrana ondulante, devido a isso seu único movimento é rotação. É a forma encontrada dentro das células, ou seja, intracelular, multiplica-se por divisão binária, transformando-se novamente em tripomastigota antes da ruptura da célula infectada. A forma epimastigota mede entre 20 a 40 μm , flagelo livre, cinetoplasto anterior ao núcleo, membrana ondulante pouco desenvolvida, nessa fase não é capaz de penetrar o hospedeiro vertebrado, sendo encontrada no tubo digestivo do vetor. A forma tripomastigota é a forma infectante extracelular, circula no sangue, encontra-se em ambos hospedeiros, núcleo grande e central, apresenta flagelo membrana ondulante, mede por volta dos 15 e 20 μm , é a forma infectante para os vertebrados (MATTOS, 2017).

O barbeiro se alimenta do sangue de um animal ou ser humano contaminado, contendo as formas tripomastigotas sanguíneas, no estomago do inseto, se diferenciam para as formas epimastigotas, que se multiplicam por divisão binária, na porção final do intestino do inseto, se transformam nas formas tripomastigotas metacíclicas que serão liberadas na próxima hematofagia, juntamente com as fezes (MEIS e CASTRO, 2017).

Após a entrada do *Trypanosoma cruzi* em forma de tripomastigota na corrente sanguínea, ele penetra uma célula e, dentro dela, se transforma em amastigota, que se multiplica por fissões binárias sucessivas. Após a divisão, se diferenciam em tripomastigotas, com movimentação intensa, rompem a célula e retornam ao sangue, podendo assim infectar novas células, tecidos e órgãos. Alimentos contaminados também podem iniciar uma infecção, pois os parasitas podem infectar as células da boca ou do estomago se transformando em epimastigotas e posteriormente em tripomastigotas na corrente sanguínea (COSTA et al, 2013).

A doença de Chagas possui três fases: aguda, crônica assintomática (indeterminada) crônica sintomática (cardíaca e/ou digestiva). Essas formas clinicas tem a ocorrência no Brasil de: aguda assintomática (90 a 98%); Sintomática (2 a 10%). Crônica indeterminada (50 a 65%); forma cardíaca (13%); digestiva (10%); formas mistas (8%). A fase aguda, é a fase inicial, leva de 7 a 10 dias para aparecer os primeiros sintomas. É uma fase de difícil identificação, os sinais

1. Acadêmico de graduação de Ciências Biológicas, licenciatura do centro universitário FAG.
milenadeabreu@hotmail.com

2. Orientador. Especialista em docência do ensino superior, FAG. Docente do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário FAG. alessiobio@hotmail.com

como febre prolongada, mal-estar, fraqueza, anorexia ou alguma manifestação cutânea como chagoma de incubação ou sinal de romanã, acabam passando batido confundidos com um mal-estar ou alguma doença comum. Pode ocorrer a morte do paciente devido a alterações cardíacas ou neurológicas, normalmente ocorre em pacientes imunossuprimidos ou crianças. Após muitos anos ou meses, o paciente evolui para uma ‘‘ aparente cura’’ da doença, passando assim para uma fase indeterminada, ou seja, fase crônica assintomática. Nessa fase o paciente pode viver normalmente de 20 a 30 anos. Apesar da aparente normalidade, o paciente pode ter miocardite discreta, intensa denervação do sistema nervoso e intensa atividade imunológica, isso pode explicar as raras mortes súbitas nessa fase. Fase cardíaca ou cardiopatia chagásica crônica: é a insuficiência cardíaca congestiva, altera o ritmo cardíaco, é provocada pela redução de massa muscular e pelas arritmias, vai ocorrendo o retardamento da circulação sanguínea, responsável pelo baixo teor de oxigênio de vários órgãos, dispneia, congestão visceral e edema de membros inferiores, cardiomegalia acentuada. Outra manifestação é os fenômenos tromboembólicos, no coração e nos membros inferiores, que desprendidos formam êmbolos causadores por infartos, levando o paciente a morte súbita. Forma digestiva crônica, manifestação digestiva pode acometer o esôfago e o colón. Essas alterações podem aparecer de formas variadas e progressivas, como formação de granuloma, arterites necrosantes e destruição dos plexos nervosos, destruição dos neurônios ganglionares formadores do peristaltismo, assim alterando a progressão do bolo alimentar ou fecal, que fica cada vez mais lento, levando a hipertrofia muscular, dilatação, levando ao quadro de megaesôfago ou megacólon (NEVES, 2009).

O tratamento para Doença de Chagas aguda, é realizado com benzenidazol, o nifurtimox pode ser utilizado como alternativa, caso ocorra intolerância ao benzenidazol. O tratamento na fase aguda deve ser realizado o mais rápido possível após a confirmação do diagnóstico. Eficaz na maioria dos casos. Agudo mais que 60%, congênito mais que 95%, mostra eficácia em 50% a 60% dos casos crônicos recentes. Para as pessoas na fase crônica esse medicamento deve ser avaliado caso a caso (OPAS, 2009).

Tendo em vista os riscos à saúde humana, este trabalho tem como objetivo verificar se o caldo de cana comercializado e consumido pela população da cidade de Capanema no Paraná está ou não contaminado pelo *T. cruzi*.

1. Acadêmico de graduação de Ciências Biológicas, licenciatura do centro universitário FAG. milenadeabreu@hotmail.com

2. Orientador. Especialista em docência do ensino superior, FAG. Docente do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário FAG. alessiobio@hotmail.com

ENCAMINHAMENTO METODOLÓGICO

A pesquisa foi realizada em outubro de 2019. As amostras A e B, foram compradas de forma aleatória nas vias públicas da cidade de Capanema (apêndice A), situada no estado do Paraná. Todas foram armazenadas em recipientes esterilizados e mantidas em caixa de isopor em temperatura ambiente. Posteriormente, foram levadas para o laboratório de microscopia I (apêndice B), do Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz, na cidade de Cascavel-PR. Para análise foi adaptado um método laboratorial de Mattos (2017).

Inicialmente, foi medido no Phmetro, o pH das amostras do caldo de cana, sendo A - determinado ponto de venda - e B - outro ponto de venda (apêndice C e D). Das amostras de 300mL, foi retirado 1mL de cada amostra, extraídas subamostras 5 µL por meio da micropipeta e aplicadas em uma lâmina, cobrindo-se com uma lamínula de 22 x 22 mm (apêndice E). O procedimento foi repetido 20 vezes para cada 1mL. As lâminas foram analisadas em microscopia comum no aumento de 40x. As coletas e as análises foram realizadas nos dias dezesseis, dezoito e vinte e um de outubro de 2019. pHs pouco ácidos ou alcalinos favorecem a morte celular do parasita.

Tendo em vista a investigação em prol de riscos à saúde, o projeto realizou-se de forma qualitativa, tendo como objetivo resultados precisos e eficazes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.1 Análise do pH das amostras de caldo de cana.

Os dados obtidos na primeira amostragem revelaram na amostra A: 5,26 e para a amostra B: 5,09. No segundo dia de amostragem, o resultado obtido foi para a amostra A: 5,38 e 5,04 para a amostra B. No terceiro dia de amostragem, apontou-se para A: 5,17 e para B: 4,90. O pH - potencial hidrogeniônico - uma escala logarítmica na qual mede-se o grau de acidez, de neutralidade ou de alcalinidade. A escala é composta de 0 a 14. O valor 0 apresenta a acidez máxima e o valor 7 é neutro. Assim, os valores abaixo de 7 são considerados ácidos e, entre 7 e 14, alcalinos. O caldo de cana é uma bebida abundante em açúcares e de baixa acidez,

1. Acadêmico de graduação de Ciências Biológicas, licenciatura do centro universitário FAG. milenadeabreu@hotmail.com

2. Orientador. Especialista em docência do ensino superior, FAG. Docente do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário FAG. alessiobio@hotmail.com

tornando-se favorável ao crescimento microbiano e ao aparecimento de leveduras devido à sua fermentação.

De acordo com Dias (2006), pHs fracamente ácidos ou alcalinos propiciam morte celular do *tripanosoma*; o pH propício para o parasita é de 7,2 ou 7,3. Para Oliveira et al. (2006), o caldo de cana possui um pH entre 5,0 e 5,5, considerado ideal para o crescimento de microrganismos. Mattos (2017) detectou, em seu estudo, o pH de 5,1 para o caldo de cana e 4,8 para o açaí. Em temperatura ambiente, foram encontrados parasitas móveis e ativos até 48 horas depois e perante refrigeração em um período superior a 7 dias. Entretanto, a polpa de açaí, após 4 horas, apresentou modificação no movimento. Em comparação à sua pesquisa em relação ao açaí, concluiu que o caldo de cana é mais favorável à sobrevivência do parasita. Em vista disso, o presente trabalho pode ter obtido resultados negativos devido ao pH das amostras de caldo de cana estarem pouco ácidas.

1.2 Análise de microscopia óptica para verificação das diferentes formas de *Trypanosoma cruzi*.

Verificou-se, por meio das análises das amostras, realizadas nos três dias alternados do mês de outubro de 2019, que o caldo de cana comercializado e consumido pela população da cidade de Capanema, no Paraná, não está contaminado pelo *T. cruzi*, resultado negativo para *trypanosoma*, segundo essa metodologia adaptada. Talvez possa haver mais esclarecimento quando publicados resultados de estudos semelhantes ao que foi desenvolvido neste trabalho.

Mattos (2017) realizou um estudo a respeito da Análise da morfologia das formas tripomastigotas após o contato com os alimentos. Nesse experimento, foi inserida uma alíquota de tripomastigotas, em que verificou-se que a constatação apenas foi viável quando aplicada a uma porção de 500 µl do caldo de cana infectado contendo em torno de 10^6 formas tripomastigotas. Isso posto, explicam-se os resultados negativos do presente trabalho de acordo com a metodologia utilizada nesta pesquisa.

Cardoso *et al.* (2006) produziu uma pesquisa acerca de Avaliação da sobrevida de *Trypanosoma cruzi* em cana-de-açúcar utilizada no preparo do caldo. Foram contaminados 30 triatomíneos com *T. cruzi* e, 45 dias após, foram contaminados pedaços de cana de açúcar com o conteúdo intestinal dos insetos. Em seguida, foram triturados em tempos diferentes - 0, 1, 4, 6, 12 e 24 horas - e o suco (caldo de cana) analisado por diferentes métodos: direto,

1. Acadêmico de graduação de Ciências Biológicas, licenciatura do centro universitário FAG.
milenadeabreu@hotmail.com

2. Orientador. Especialista em docência do ensino superior, FAG. Docente do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário FAG. alessiobio@hotmail.com

centrifugação e QBC (quantitative buffy coat). Os resultados obtidos na análise direta e QBC foram de positivos até 12 horas após e até 4 horas na técnica de centrifugação. E, em cana não processada, o parasita sobreviveu até 24 horas após a contaminação.

De acordo com Pinto *et al* (1990), o parasita apresentou sobrevivência de até 4 horas após a contaminação no líquido mantido em temperatura ambiente. O estudo foi realizado da seguinte forma: foram colocados 2,0 ml de caldo de cana em oito frascos esterilizados e dotados de tampa. Em seguida, foram retirados os intestinos de cinco ninfas de *Triatoma* intensamente infectadas pelo *T. cruzi* e colocados 0,2ml em todas as amostras de caldo de cana, mantidas em temperatura ambiente. Após 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 24 horas, foram centrifugadas a 1.500 r.p.m. durante 3 minutos, sendo examinadas microscopicamente na sequência.

Os trabalhos realizados por Batista *et al* (2016), em forma de questionários e visitas aos vendedores de caldo de cana em Betim e Contagem em Minas Gerais, revelaram que os entrevistados afirmaram conhecer a doença, os seus sintomas e a forma de transmissão. Apresentaram fazer a higiene do local e da matéria prima, contudo a vistoria visual não comprovou a afirmativa. Dos entrevistados, 70% não souberam informar sobre a transmissão oral. ANVISA (vigilância sanitária) municipal esteve presente em 50% dos locais. Percebe-se a carência de orientações aos comerciantes nesse sentido.

CONCLUSÃO

Com base nos estudos realizados e de acordo com os resultados do presente trabalho, é possível perceber que o caldo de cana comercializado e consumido pela população de Capanema-PR não apresentou contaminação por *Tripanosoma cruzi*, causador da doença de Chagas.

1. Acadêmico de graduação de Ciências Biológicas, licenciatura do centro universitário FAG.
milenadeabreu@hotmail.com

2. Orientador. Especialista em docência do ensino superior, FAG. Docente do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário FAG. alessiobio@hotmail.com

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA. **Resolução-rdc nº 12, de 02 de janeiro de 2001.** Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b. Acesso em: 07/11/2019.

BATISTA, H.F.S; SANTOS, C; GABRIELLE, I; RODRIGUES, J; SILVA, M; MARIA, N; VIERA, T; CUNHA, M.C.M. Avaliando as práticas de higiene e o conhecimento de manipuladores de alimentos sobre a doença de chagas no manejo do caldo de cana. **Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais**, 2016.

CARDOSO, A.V.N; LESCOANO, S.A.Z; NETO, V.A; GAKIYA, E; SANTOS, S.V. Avaliação da sobrevivência de *Trypanosoma cruzi* em cana de açúcar utilizada no preparo do caldo. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, 2006.

COSTA, M et al. Doença de chagas: uma revisão bibliográfica. **Revista Facer Ceres**, 2013.

DIAS, J.C.P. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2015. **Epidemiol. Serv. Saúde**, 7 Brasília, 25, p.7-86, 2016.

DIAS, J.C.P. Notas sobre o *Trypanosoma cruzi* e suas características bio-ecológicas, como agente de enfermidades transmitidas por alimentos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2006.

FERREIRA, L.F; JANSEN, A.M; ARAÚJO, A. Doença de Chagas na pré-história. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. Rio de Janeiro, 2011.

FIOCRUZ. Carlos Chagas: infância, primeiros estudos e formação médica. **Portal da doença de Chagas**. Disponível em: <http://chagas.fiocruz.br/carlos-chagas/>. Acesso em: 04 de dezembro 2019.

MANUAL DA QUÍMICA. **Conceito de pH.** Disponível em: <https://www.manualdaquimica.com/fisico-quimica/conceito-ph.htm>. Acesso em: 07/11/2019.

MASCARINI, L.M. Uma abordagem histórica da parasitologia. **SciELO Ciência e saúde coletiva**, 2003.

MATTOS, E.C. Associação de métodos para detecção de *T.cruzi* em alimentos. **Secretaria de estado da saúde de São Paulo**. São Paulo, 2017.

MEIS, J; CASTRO, R.S.S. Manual para diagnóstico em doença de Chagas. **Biblioteca de ciências Biomédicas**. Rio de Janeiro, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Doença de Chagas: o que é, causas, sintomas, tratamento e prevenção**. Disponível em : <http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/doenca-de-chagas>. Acesso em: 22/08/2019.

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

VINHAES, M.C; DIAS, JOÃO CARLOS P. Doença de Chagas no Brasil. **Revista scielo**. P.7-12, 2000.

OLIVEIRA, A.C.G; NOGUEIRA, F.A.G; ZANÃO, C.F.P; SOUZA, C.W.O; SPOTO, M.H.F. Análise das Condições do Comércio de Caldo de Cana em Vias Públicas de Municípios Paulistas. **Segurança alimentar e nutricional**. Campinas, 2006.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE (OPAS). **Doença de Chagas: guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de Chagas transmitida por alimentos**. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_prevencao_doenca_chagas.pdf. Acesso em: 06/12/2019.

PINTO, P.L.S; NETO, V.A; NASCIMENTO, S.A.B; SOUZA, H.BW.T; MYAMOTO, A; MOREIRA, A.A.B; BRAZ, L.MA. Observations on the viability of *Trypanosoma cruzi* in sugar cane juice. **Revista do instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, 1990.

APÊNDICES

Apêndice A- coleta e titulação das amostras.



Apêndice B- Extração das subamostras.



Apêndice C e D - medição do pH das amostras.





Apêndice E - medição do pH das amostras

