

DETECÇÃO DA DOENÇA DE CHAGAS CRÔNICA ATRAVÉS DA TÉCNICA DE PCR EM TEMPO REAL

**Adriny dos Santos Miranda Lobato¹, Adriane dos Santos Miranda Lobato²,
Marcos Benetito Adão³, Adriane Queiroz Gomes⁴, Luiza Giovana Sousa Corrêa⁵,
Jhonata Gomes de Oliveira⁶**

¹ Faculdade Cosmopolita, (adrinysantos2@gmail.com)

² Faculdade Cosmopolita, (adrianelobato31@gmail.com)

³ Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG), (marcosbenetido.mba@gmail.com)

⁴ Universidade da Amazônia (UNAMA), (adrianequeiroz123@outlook.com)

⁵ Escola Superior Madre Celeste (ESMAC), (lugios@gmail.com)

⁶ Universidade da Amazônia (jhonatagomesdeoliveira@gmail.com)

Resumo

Objetivos: evidenciar a detecção da Doença de Chagas na fase crônica da doença, através da técnica com alta especificidade e sensibilidade, a PCR em tempo real. **Método:** o desenvolvimento da pesquisa é por meio da revisão bibliográfica de artigos reconhecidos, pela PubMed e Google Acadêmico, além da leitura de livros acadêmicos, em que foram encontrados 36 artigos presentes com os descritores de inclusão, porém somente 12 estudos científicos estavam de acordo com a data de 2016 a 2021 e os objetivos do trabalho. **Resultados:** logo, a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR) possui alta sensibilidade e especificidade, no qual há a amplificação do gene específico do parasita, com o intuito da identificação do mesmo e do seu agente etiológico, assim, liberando diagnósticos confiáveis para o tratamento da doença. **Considerações finais:** portanto, é constatado que a qPCR, utilizada por ser padrão ouro, pode ser feita para o diagnóstico da infecção pelo hemoprotozoário *Trypanosoma cruzi*, assim como, para a identificação em hospedeiros e em produtos alimentícios, evitando possíveis contaminações.

Palavras-chave: Doença de Chagas; *Trypanosoma cruzi*; Crônica; Reação em Cadeia da Polimerase.

Área Temática: Temas livres.

Modalidade: Resumo expandido.

1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas, também chamada pelas siglas DC, é infecção recorrente no homem gerada a partir do protozoário *Trypanosoma cruzi*, em que apresenta como vetores os triatomíneos hematófagos. Sendo que sua transmissão é feita de forma vetorial (devido os triatomíneos), transfusional, transplante, congênita e oral (DA EPIDEMIOLOGIA, 2017).

Esta doença causada pelo hemoprotozoário *Trypanosoma cruzi*, é relatada há 110 anos, porém a mesma ainda continua sendo um problema de saúde pública, no qual mais de oito milhões de indivíduos infelizmente são contaminados pela esta patologia considerada endêmica em países da América Latina (ECHEVERRIA; MORILLO, 2019). A DC é considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), com uma das dezoito doenças tropicais negligenciadas na América Latina em aspecto atual, em que locais como o Brasil são países que na sua história já tiveram e tem um número grande de infecções (OMS, 2012).

A DC é considerada na literatura com uma doença presente em locais com baixa qualidade de vida, como a zona rural e em regiões que apresentam um padrão socioeconômico baixo. A mesma tem como características marcantes os seus estágios, como a sua fase aguda que dura em média de seis a oito semanas e uma outra fase chamada crônica, no qual tem como durante característica a vida toda do infectado (CONNERS, 2016).

1.1 TRYPANOSSOMA CRUZI

O agente etiológico da doença de chagas é chamado de *Trypanossoma cruzi* (*T. cruzi*), em que é um protozoário unicelular flagelado, transmitido por meio da inserção das fezes (contaminadas) e urina do triatomíneo em uma porta de entrada, conhecido popularmente como Barbeiro, por via oral (alimentos contendo as fezes do triatomíneo), transfusão de sangue, transplante de órgãos e a transmissão congênita (PÉREZ-MOLINA J. A., MOLINA I, 2018., NEVES, 2016., FILIGHEDDU; GÓRGOLAS; RAMOS, 2017).

1.2 DOENÇA DE CHAGAS CRÔNICA

A Secretária de Vigilância em saúde pontua que 30% das pessoas cronicamente infectadas podem vir a ter algumas alterações cardíacas e que até 10% das mesmas poderão verificar alguma alteração neurológica, digestivas ou até mesmo mistas, (BRASIL, 2014). Muitos pacientes não apresentam sintomas chamando-os de assintomáticos, o que é uma situação na maioria das vezes preocupante, pois muitas pessoas só suspeitam de alguma doença e vão para o médico devido a detecção de algum sintoma conhecido.

1.3 PCR EM TEMPO REAL

Com os avanços da ciência e da tecnologia foi possível ampliar as pesquisas interligadas às doenças infecto-parasitárias, como a Doença de Chagas, tornando-se possível detectar mais

facilmente diversos patógenos e fornecer dados epidemiológicos mais precisos (SCHIJMAN, 2018). Além disso, as técnicas de biologia molecular como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) possibilitam não só o diagnóstico de forma mais precisa como também o monitoramento de pacientes chagásicos (D'ÁVILA, 2018).

Com isso, a utilização da PCR em tempo real (qPCR) atualmente mostra-se com uma boa ferramenta para a pesquisa desta parasita, isto porque a mesma possibilita a quantificação do mesmo no material biológico amostrado (SCHIJMAN, 2018). Assim, a partir da seguinte pergunta de pesquisa: “Quais são as aplicações da técnica de PCR na detecção de microrganismos responsáveis por doenças infecto-parasitárias?,” foi desenvolvida uma revisão da literatura, com o intuito de contribuir com a literatura existente, compreender como a técnica de PCR, reconhecida como padrão ouro, pode ser utilizada na detecção do microrganismo na DC em diferentes vertentes, como: na detecção do parasito presente no sangue, em alimentos e por sua vez no monitoramento de pacientes em tratamento da DC.

2 MÉTODOS

Este estudo trata-se de uma revisão bibliográfica da literatura, consolidada por meio da leitura de livros e a busca e análise de artigos científicos, disponibilizados pela base de dados eletrônicos: PubMed e Google acadêmico, em que foram encontrados respectivamente 23 e 13 resultados. A partir da utilização dos seguintes descritores: “Chagas disease”, “*doença de chagas crônica*”, “PCR” e “Monitoring,” todos devidamente cadastrados no DeSC (Descritores de Ciência e Saúde) e no MeSH (Medical Subject Headings), interligados pelo operador booleano AND.

Além disso, foram inclusos na pesquisa estudos científicos nacionais e internacionais, completos e gratuitos, disponíveis nas línguas: inglês, português e espanhol, seguintes publicados entre os anos de 2016 e 2021. A princípio os estudos foram pré-selecionados com base na análise de seus títulos, em um segundo momento foi realizada a leitura e análise dos estudos com o objetivo de selecionar os estudos que iriam compor esta revisão bibliográfica.

Em contrapartida, os critérios de exclusão utilizados na pesquisa foram: as palavras descritoras não encontradas em artigos científicos, também, estudos antes do período de 2016 e que não se encontram nos idiomas escolhidos. Foram encontrados 36 artigos presentes com os descritores de inclusão, porém somente 12 estudos científicos estavam de acordo com a data proposta e os objetivos do trabalho.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O diagnóstico de doenças infecto-parasitárias, como da DC, no geral é realizado por métodos sorológicos, entretanto muitas vezes estes exames podem apresentar resultados falsos negativos ou positivos. Com os avanços da ciência e da tecnologia na área da genética e biologia molecular foi possível criar técnicas que se baseiam na detecção de marcadores genético do agente etiológico (MARQUES; HECHT., 2016).

A técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) apresenta alta sensibilidade e especificidade na detecção do parasito. A partir de um iniciador pode-se realizar a amplificação *in vitro* de quantidades ínfimas de material genético, estejam estes presentes na amostra analisada (HASS; TORRES., 2016). As reações de PCR podem ser utilizadas como forma de diagnóstico da DC a partir das técnicas de PCR em tempo real (qPCR) método que identifica o material genético do agente etiológico e a PCR convencional (cPCR) que além de detectar a presença do parasito torna-se possível calcular o número aproximado de parasitos (MARQUES, HECHT, 2016).

Além disso, a qPCR também permite a detecção do agente etiológico em alimentos contaminados, impedindo a transmissão oral (TO) do *Trypanosoma cruzi*. Os alimentos se contaminam quando o triatomíneo infectado deposita suas fezes sobre alimentos que serão processados, ingeridos sem os devidos procedimentos de higienização ou ingredientes a serem utilizados. Os estudos analisados dissertam ressaltam principalmente a presença do parasito no açaí e a cana-de-açúcar (MATTOS et al, 2017., SOUZA GODOI *et al*, 2017., ROCHA *et al*, 2020).

Ademais, os estudos analisados demonstram que a qPCR também pode ser aplicada no monitoramento de pacientes com acometidos pela DC na fase crônica em uso benznidazol (medicamento preconizado no tratamento da infecção por *T. cruzi*) no geral apresentam a PCR não reagente. Contudo, em casos de uso incorreto ou descontínuo e até mesmo abandono de tratamento, tendo PCR foi reagente, evidenciado a falha do uso do tratamento (MURCIA *et al*, 2016., SULLEIRO *et al*, 2020).

Foi possível observar também que a qPCR também pode ser aplicada no monitoramento de pacientes com acometidos pela DC (MURCIA *et al*, 2016). O tratamento para a DC pode ser realizado a partir da administração de fármacos como: nifurtimox e com benznidazol (KRATZ, 2019). Vale salientar que o uso de benznidazol está correlacionado a redução da progressão da DC (HASSLOCHER-MORENO *et al.*, 2020). Foi possível constatar que os pacientes em uso regular de fármacos contra *T. cruzi* podem apresentar carga parasitária não-quantificável e até mesmo não detectável com o tratamento (PAVAN, ALMEIDA., 2018).

Pacientes em uso de benznidazol e/ou após o tratamento no geral apresentam a PCR não reagente. Contudo, em casos de uso incorreto ou descontínuo e até mesmo abandono de tratamento, tendo PCR foi reagente, evidenciado a falha do uso do tratamento (MURCIA *et al*, 2016., SULLEIRO *et al*, 2020). Vale salientar que a análise sorológica qualitativa obteve resultado não-reagente para pacientes em uso do medicamento (TORRICO *et al.*, 2018).

4 CONCLUSÃO

Portanto, é possível constatar que a técnica de qPCR pode ser utilizada não apenas dirigida ao diagnóstico da infecção, como também para o rastreamento de hospedeiros e sua detecção em produtos alimentícios. Deste modo, pode-se concluir que através da técnica pode-se levantar dados epidemiológicos mais precisos, e a partir da detecção do parasita, elaborar novas estratégias de promoção e prevenção à saúde. Assim como monitorar o tratamento dos indivíduos contaminados, constatando o sucesso ou a falha da terapia, de modo a investigar possíveis novos surtos da DC.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2014.

CONNERS, E. E. et al. A global systematic review of Chagas disease prevalence among migrants. *Acta Tropica*, v. 156, p. 68–78, 2016.

D'ÁVILA, Daniella Alchaar *et al*. Monitoring the parasite load in chronic Chagas disease patients: comparison between blood culture and quantitative real time PCR. *PloS one*, v. 13, n. 11, p. e0208133, 2018.

DA EPIDEMIOLOGIA, Coordenação-Geral de Desenvolvimento. em Serviços, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. **Guia de vigilância em saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.**

ECHEVERRIA, Luis E.; MORILLO, Carlos A. American trypanosomiasis (Chagas disease). *Infectious Disease Clinics*, v. 33, n. 1, p. 119-134, 2019.

FERREIRA, J. J. G.; *et al*. Quantificação da carga parasitária do *Trypanosoma cruzi* pela PCR em tempo real em portadores da doença de Chagas submetidos ao transplante renal atendidos no Hospital de Clínicas da Unicamp. 2018.

FILIGHEDDU, M. T.; GÓRGOLAS, M, RAMOS, J. M. Orally-transmitted Chagas disease. *Med Clin (Barc)*, v. 148, p. 125-131, 2017.

HAAS, D. J.; TORRES, A. C. D. Aplicações das técnicas de PCR no diagnóstico de doenças infecciosas dos animais. *Rev. Científica de Medicina Veterinária*, v. 14, n. 26, 2016.

HASSLOCHER-MORENO, A. M.; *et al.* Benznidazole decreases the risk of chronic Chagas disease progression and cardiovascular events: A long-term follow up study. **EClinicalMedicine**. 2020.

KRATZ, Jadel Müller. Drug discovery for chagas disease: A viewpoint. **Acta tropica**, p. 105107, 2019.

MARQUES, A. L. P; HECHT, M. M.. Uso da biologia molecular no diagnóstico da doença de Chagas: uma abordagem teórico-experimental com foco em qPCR. 2016.

MATTOS, E. C; *et al.* Molecular detection of *Trypanosoma cruzi* in acai pulp and sugarcane juice. **Acta Trop**, v. 176, p. 311-315, 2017.

MURCIA, L.; *et al.* Success of benznidazole chemotherapy in chronic *Trypanosoma cruzi*-infected patients with a sustained negative PCR result. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**. 2016.

NEVES, D.P.; *et al.* Parasitologia Humana. 13ª Edição, Ed. Atheneu, Rio de Janeiro, 2016.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Avanços para superar o impacto global de doenças tropicais negligenciadas. Primeiro relatório da OMS sobre doenças tropicais negligenciadas. Brasília: OMS; 2012.

PAVAN, Tycha Bianca Sabaini *et al.* Avaliação da parasitemia pelo *Trypanosoma cruzi* por qPCR em portadores da fase crônica da doença de Chagas tratados com benznidazol. 2018.

PÉREZ-MOLINA J. A., MOLINA I. Chagas disease. **Lancet**, v. 391, p. 82-94, 2018.

ROCHA, AFNL *et al.* Doença de Chagas e a transmissão por alimentos contaminados. Revista Brasileira de Educação e Saúde, v. 10, n. 1, p. 130-135, 2020.

SCHIJMAN, A. G. Molecular diagnosis of *Trypanosoma cruzi*. **Acta Tropica**, v. 184, p. 59-66, 2018.

SOUZA GODOI, P. A.; *et al.* qPCR for the detection of foodborne *Trypanosoma cruzi*. **Parasitol Int**. ed. 5, v. 66, p. 563-566, 2017.

SULLEIRO, E., *et al.* Usefulness of real-time PCR during follow-up of patients treated with Benznidazole for chronic Chagas disease: Experience in two referral centers in Barcelona. **PLoS Negl Trop Dis**. 2020.

TORRICO, F.; *et al.* Treatment of adult chronic indeterminate Chagas disease with benznidazole and three E1224 dosing regimens: a proof-of-concept, randomised, placebo-controlled trial. **Lancet Infect Dis**. 2018 Apr;18(4):419-430. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30538-8. Epub 2018 Jan 16. PMID: 29352704.