

**FACULDADE PATOS DE MINAS
CURSO DE BIOMEDICINA**

RAFAELA DA SILVA VASCONCELOS

**IMUNOPATOLOGIA DO *TRYPANOSOMA CRUZI* E
DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE CHAGAS**

**PATOS DE MINAS
2014**

RAFAELA DA SILVA VASCONCELOS

**IMUNOPATOLOGIA DO *TRYPANOSOMA CRUZI* E
DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE CHAGAS**

Artigo apresentado à Faculdade Patos de Minas como requisito parcial do Curso de Biomedicina.

Orientador: Prof.^a Dra. Sandra Regina Cardoso.

**PATOS DE MINAS
2014**

Imunopatologia do *Trypanosoma cruzi* e diagnóstico da doença de chagas

Rafaela da Silva Vasconcelos¹

Sandra Regina Cardoso²

RESUMO

A doença de Chagas (DC) é uma parasitose causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), que apresenta ciclo biológico heteroxênico e o triatomíneo como vetor. A DC pode ser transmitida de diversas formas, através do vetor, de ingestão do *T. cruzi*, transfusão de sangue, via congênita entre outras. A parasitose tem três fases: aguda, indeterminada e crônica; onde a fase aguda, na maioria das vezes se apresenta de forma assintomática, podendo, no entanto, apresentar sintomas clássicos como, sinal de Romaña e chagoma de inoculação, já na fase crônica, pode-se desenvolver a doença na forma cardíaca, digestiva e indeterminada. Acredita-se que a reação imunológica tem influencia sobre desenvolvimento da doença, pois durante a fase crônica o organismo do hospedeiro já não consegue combater os parasitos que conseguem se replicar sem intervenção causando danos aos tecidos. Estudos realizados mostram que as células T já não conseguem se diferenciar e perdem sua função dando assim oportunidade para a evolução da doença. O diagnóstico laboratorial da parasitose é realizado utilizando-se diferentes metodologias como o xenodiagnóstico, hemocultura, teste de ELISA

1 Acadêmico do curso de Biomedicina da Faculdade de Patos de Minas -Email: rafaelavasconcelosbiomedica@gmail.com

2 Graduada em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Uberlândia, Mestrado em Parasitologia pela Universidade Federal de Minas Gerais, Doutorado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas pela Universidade Federal de Uberlândia e Pós Doutorado em Biofísica pela Universidade Federal de Minas Gerais, professora na Faculdade de Patos de Minas. Email: sandraracardoso@hotmail.com

(ensaio imunoenzimático), RIFI (reação de imunofluorescência indireta), HI (hemaglutinação Indireta) e PCR (Reação em cadeia da Polimerase). Nesse trabalho foi mostrado em qual fase da doença os testes de diagnóstico são mais eficazes e as reações cruzadas que ocorrem durante os exames sorológicos. Isso mostra que há uma ampla lacuna nas pesquisas e estudos realizados nessa área, já que a doença de Chagas é uma doença negligenciada, mas ainda endêmica em nosso país.

Palavras chave: *Trypanosoma cruzi*, doença de Chagas, diagnóstico, imunopatologia

1 Introdução

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver um estudo sobre doença de chagas (DC) e o *Trypanosoma cruzi* ampliando o conhecimento de sua ação sobre o sistema imunológico. Além disso, avaliou-se as diversas formas de diagnóstico da doença, expondo as vantagens e desvantagens dos métodos utilizados atualmente.

A DC é uma infecção parasitária crônica causada pelo *Trypanosoma cruzi* e representa uma das principais causas de morte em diversos países da América Latina. Esta doença tem o ciclo heterogênico envolvendo um vetor (barbeiro) e um hospedeiro definitivo (mamíferos) (1, 2,3)

O barbeiro não nasce infectado pelo *T. cruzi*, tornando-se um vetor após realizar o repasto sanguíneo em um animal infectado. Inicialmente o *T. cruzi* através da divisão binária se reproduz no intestino do inseto, onde assume a forma epimastigota. Após se locomover, na região posterior do vetor, o parasita se adere a toda a parede intestinal do mesmo, tornando-se um tripomastigota, então esta forma se desagrega da parede intestinal e migra para o reto do inseto. Estando no reto o protozoário é eliminado juntamente com as fezes do barbeiro durante o repasto sanguíneo, se houver uma porta de entrada após o repasto, podendo ser essa através de mucosas e lesões, as formas tripomastigotas deslocam-se para na

corrente sanguínea até encontrarem uma célula hospedeira, sofrendo uma nova transformação, tornando-se amastigotas. Estas amastigotas se replicam e passam a ocupar toda a célula e novamente se diferenciam em uma forma semelhante a epimastigota e posteriormente em tripomastigotas induzindo a lise celular sendo liberadas na corrente sanguínea a procura de uma nova célula hospedeira disseminando a doença. A DC é observada nas fases aguda e crônica. (3,4)

O *T. cruzi* foi descoberto por Carlos Chagas em 1909, sendo a doença causada por ele um grave problema de saúde pública na América Latina. Hoje existem pelo menos 12 milhões de pessoas infectadas pela doença, que representa uma das principais causas de morte em áreas endêmicas. As formas mais frequentes de transmissão da doença é a natural (através do vetor), transfusão sanguínea, via congênita, transplante de órgãos e via oral. A DC começa com uma fase aguda que caracteriza-se por uma parasitemia intensa, tendo duração entre 2 a 3 meses esta fase pode apresentar sintomas relacionados com o local de picada do inseto, como sinal de Romaña ou chagoma de inoculação, após a fase aguda inicia-se um período primeiramente assintomático, a fase crônica. O período inicial da fase crônica onde o paciente encontra-se assintomático é chamado indeterminado, então lesões teciduais de intensidade variável caracterizam as formas digestivas ou cardíacas da fase crônica. (5,3, 2, 6, 7, 8, 4,9).

É proposto em estudos que a relação da resposta imune do hospedeiro com o parasita tem papel fundamental no desenvolvimento da doença, sendo a cepa do parasita e a fase em que se encontra o paciente, responsáveis pela eficiência da resposta imune. Durante a fase aguda as respostas imune inata e adaptativa são mediadas por macrófagos, linfócitos B, linfócitos T e citocinas e mediadores como o óxido nítrico são os responsáveis por controlar a parasitemia. Durante a fase crônica o paciente é considerado incapaz de controlar a resposta imune contra o parasito tendo células reguladoras insuficientes em relação ao aumento sérico de células T, influenciando as interações parasito/hospedeiro e beneficiando o desenvolvimento da doença. (10, 11, 9, 10, 12)

O diagnóstico de indivíduos infectados pelo *Trypanosoma cruzi* é realizado principalmente por testes sorológicos, como Hemaglutinação indireta, imunofluorescência indireta e ELISA, o método de PCR apesar de apresentar bons resultados ainda é empregado apenas para pesquisas. Nos testes imunoenzimáticos, muito utilizados atualmente, podem ocorrer reação cruzada,

principalmente entre anticorpos contra antígenos do *T. cruzi* e *Leishmania sp.* É recomendado que para um diagnóstico mais preciso seja realizado duas técnicas com alta sensibilidade e especificidade. (9,13)

METODOLOGIA

Este trabalho é uma revisão bibliográfica, fundamentada em artigos científicos relacionados com o tema imunopatologia do *Trypanosoma cruzi* e DC, também foram utilizados livros de parasitologia humana, monografias, revistas científicas, localizados no acervo digital e da Faculdade de Patos de Minas.

[...] a pesquisa bibliográfica permite compreender que, se de um lado a resolução de um problema pode ser obtida através dela, por outro, tanto a pesquisa de laboratório quanto à de campo (documentação direta) exigem, como premissa, o levantamento do estudo da questão que se propõe a analisar e solucionar. A pesquisa bibliográfica pode, portanto, ser considerada também como o primeiro passo de toda pesquisa científica. (14)

O período de realização da pesquisa foi de Julho de 2014 a Outubro de 2014 e o período de publicação dos artigos utilizados variou entre os anos de 2008 e 2013. O levantamento bibliográfico constituiu-se através de buscas em sites como Scielo, PubMed e bibliotecas de universidades como Unicamp, Ufu, Ufg, UFBA, entre outras.

2 *TRYPANOSOMA CRUZI* E DC

A DC é uma moléstia parasitária de caráter crônico causada pelo *Trypanosoma cruzi* e sua principal via de transmissão é a vetorial. Este parasita foi

descrito pela primeira vez por Carlos em 1909, quando com Oswaldo Cruz descobriu praticamente tudo sobre a doença. (15)

2.1 – *Trypanosoma cruzi*

O *Trypanosoma cruzi*, é um protozoário flagelado o qual em seu ciclo biológico possui hospedeiro vertebrado e invertebrado e diversas formas evolutivas. (16)

Como todos os membros da família Trypanosomatidae, o *T. cruzi* apresenta como característica a presença de cinetoplasto que é a concentração de DNA citoplasmático (17); esta organela é observada em todas as formas evolutivas desse parasito (16).

As três principais formas evolutivas apresentadas pelo parasito são: tripomastigota é a forma infectante do parasito. Esta forma é alongada e apresenta cinetoplasto posterior ao núcleo, podendo ser encontrada na corrente sanguínea do hospedeiro vertebrado e nas porções mais distais do tubo digestivo do vetor. Epimastigota é a forma do parasito encontrada no intestino médio do vetor ou em meios de cultura. Apresenta forma alongada e cinetoplasto na posição justa nuclear. A forma amastigota possui formato esférico a ovoide não apresentando flagelo livre. Esta forma é encontrada somente no hospedeiro vertebrado e estabelece o período de multiplicação intracelular. (18)

O ciclo biológico da DC é heteroxênico, ou seja, se desenvolve em dois hospedeiros, são eles: vertebrado, onde há uma multiplicação intracelular. E o hospedeiro invertebrado onde se encontram várias formas do *T. cruzi* no tubo digestivo (estômago, intestino e reto). (16) O hospedeiro invertebrado (vetor) se infecta ao ingerir as formas tripomastigotas sanguíneas presentes na corrente sanguínea do vertebrado chagásico durante o hematofagismo. No intestino médio do inseto vetor elas se evoluem para formas esferomastígotas que são formas arredondadas com pequeno flagelo que se movimenta pouco e se aderem parcialmente a parede do órgão produzindo epimastigotas. Estas se multiplicam abundantemente por divisão binária o que também ocorre no intestino posterior,

onde há diferenciação da forma epimastigota em tripomastigotas metacíclicas, que são eliminadas pelas fezes ou urina do vetor, esta é a forma infectante. (17)

No hospedeiro vertebrado, logo após o repasto sanguíneo, o vetor elimina a tripomastigota metacíclica que penetra na pele ou mucosa atingindo a corrente sanguínea. No organismo hospedeiro ocorre fagocitose induzida onde os parasitos se aderem aos macrófagos ou outras células provocando a fagocitose. O parasito permanece no interior das células hospedeiras e rapidamente se diferencia em amastigota, perdendo o flagelo, reduzindo seu tamanho e arredondando-se. (16)

Aproximadamente 36 horas após a penetração as formas amastigotas começam a se reproduzir por divisão binária simples, processo que se repete a cada 12 horas deixando a célula hospedeira carregada de formas amastigotas. Essas amastigotas se diferenciam em tripomastigotas. Após cinco dias da formação da primeira amastigota, as formas tripomastigotas concluem o ciclo intracelular rompendo o macrófago e caem na corrente sanguínea onde atingem outras células recomeçando o ciclo celular ou tecidual. (18)

O mecanismo de transmissão natural ou vetorial, considerado o principal meio de transmissão no Brasil, se dá pela penetração de formas tripomastigotas metacíclicas através da pele ou mucosas do hospedeiro vertebrado. Outros mecanismos de transmissão observados são: transfusão sanguínea, congênita, oral podendo ocorrer por meio de amamentação durante a fase aguda da doença ou ingestão de triatomíneos infectados, além de acidentes de laboratório e transplante de órgãos. (19)

2.2 Tripanossomíase

A DC usualmente passa pelas seguintes fases clínicas: aguda, crônica assintomática (ou indeterminada) e crônica sintomática (cardíaca e / ou digestiva). (17)

2.2.1-Fase Aguda: Após a infecção as formas tripomastigotas penetram e apresentam tropismo por células do sistema mononuclear fagocitário onde realizam os primeiros ciclos intracelulares. O período de incubação varia de cinco a sete dias,

sendo também apontando por outras literaturas em até dez dias. Logo após grande quantidade de novos tripomastigotas caem na corrente sanguínea e linfática e se disseminam por todo organismo, com predileção pelas células cardíacas. (17)

O diagnóstico da fase aguda é mais complexo, pois apenas 2 a 8% dos indivíduos são sintomáticos. Mais frequentemente os sintomas são inespecíficos como febre prolongada, mal estar, anorexia, fraqueza e manifestações cutâneas como chagoma de inoculação ou ocular como sinal de romaña estejam relacionados com um distúrbio comum. Quando o caso se agrava o paciente já está na fase crônica da doença. Surgem miocardites difusas, com acentuado parasitismo e lesões mais relevantes nas miocélulas e no sistema de condução, alterações como hepatomegalia, esplenomegalia, poliadenia e parasitemia em progressão constante. Alguns dias após a infecção o indivíduo manifesta melhora dos sintomas, incluindo redução da parasitemia e o eletrocardiograma e outros exames apresentam-se sem alterações, com exceção dos exames sorológicos. (18, 16)

2.2.2 Fase crônica assintomática ou fase indeterminada: durante a fase aguda o paciente pode vir a óbito por alterações cardíacas ou neurológicas, porém a maioria progride para a suposta cura da doença. Na fase crônica assintomática o paciente chagásico pode viver décadas normalmente; No Brasil 50 a 69% dos pacientes chagásicos crônicos são assintomáticos; as principais características dessa fase são: positividade para exames sorológicos e/ou parasitológicos específicos; não manifesta sintomas e/ou sinais da doença, ou seja, os exames clínicos, os exames radiológicos cardíacos e digestivos, eletrocardiograma se apresentam sem alterações, contudo o paciente expressa miocardite discreta, intensa deservação do sistema nervoso autônomo e excessiva atividade imunológica com presença de anticorpos líticos, os achados anatomopatológicos esclarecem as incomuns mortes súbitas na fase indeterminada.(17, 18)

2.2.3 Fase Crônica Sintomática ou determinada: Alguns chagásicos após permanecerem assintomáticos por vários anos, com o decorrer do tempo demonstram sintomatologia relacionada com as formas de manifestação da doença mais comuns, podendo ser elas cardíaca, digestiva ou forma cardiodigestiva (mista). (16)

A forma cardíaca foi avaliada como a forma mais grave da doença. a insuficiência cardíaca congestiva é progressiva, gerado por uma miocardite crônica, difusa, progressiva e fibrinosante, pois há troca do tecido muscular cardíaco por fibrose que simultaneamente com o exsudado inflamatório interrompe e distanciam as miofibrilas, também destruindo o sistema nervoso central simpático e parassimpático, onde ocorre aneurisma de ponta, o qual modificam os batimentos cardíacos, dito isso conclui-se que a insuficiência congestiva cardíaca é consequência da perda de massa muscular e das arritmias.(16,17)

A insuficiência cardíaca crônica tem como seqüela a hipóxia de vários órgãos atribuído a contenção da circulação sanguínea, dispneia, congestão visceral e edema dos membros inferiores. Frequentemente a cardiomegalia acentuada é observada nessa fase. (16, 15)

A forma digestiva crônica pode afetar o esôfago e o colón, as manifestações dessas variações digestivas são progressivas, ao nível muscular nota-se miosite usualmente focal, com fibrose em diversos graus e supressão de unidades funcionais, macroscopicamente não é observada nenhuma alteração no, podendo estar íntegro ou gradativamente dilatado e alongado. Já no começo dos distúrbios motores o esfíncter inferior do esôfago apresenta hipertrofia e disfunção. Em casos mais comuns e graves megacolon observa-se torção obstrutiva da alça no sigmoide (16, 17, 18). As alterações do esôfago são sempre precedentes as do cólon. (15)

2.2.4 Forma nervosa crônica: Nessa forma observa-se disfunções motoras e secretórias periféricas, comumente pouco visíveis, podendo ser evidenciadas em relatos de desnervação comprovada no sistema nervoso central. São encontradas desordens difusas e focais, em grau inconstante, congestão e edema, produção de nódulos difundidos pelo cérebro e existência de amastigotas em células nervosas podendo acarretar uma meningoencefalite. (16, 17, 18)

O controle do triatomíneo é o método profilático mais eficaz para a prevenção da DC, pois este reduz o risco de transmissão congênita e oral. Com a eliminação do triatomíneo *Triatoma Infestans*, certificada em 2006 pela OPAS/OMS, a infecção natural domiciliar se tornou menos efetiva, porém acredita-se que vetores autóctones como *Panstrongylus megistus*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata* e *Triatoma sordida* ainda mantém a transmissão domiciliar de *T. cruzi* em áreas onde são nativos. Considerado que o agente etiológico possui como

reservatórios mamíferos silvestres e domésticos em condições socioepidemiológicas, podem ocorrer a infecção do homem através do manuseio desses animais, até mesmo ingestão de carne mal cozida do mesmo, fato já comprovado em São Paulo. (19,20)

À medida que foram se esgotando as formas de transmissão através do vetor, a transfusão sanguínea se tornou mais aparente, mas também reduziu após a utilização dos métodos de triagem do material doado. É importante ressaltar que a educação e conscientização sobre a doença é um dos principais e mais eficazes métodos de prevenção da mesma. (21,19, 20)

3 IMUNOPARASITOLOGIA DO *TRYPANOSOMA CRUZI*

As manifestações clínicas da DC humana estão associados a interações parasita/hospedeiro e complexos que envolvem diretamente o anfitrião do sistema imunitário. (23)

A DC se inicia assintomática ou aguda a qual pode-se encontrar uma grande contaminação parasitária, levando em consideração que a resposta imune exerce uma atribuição crucial para a progressão da doença, sendo demonstrados por estudos que o infiltrado inflamatório se aparenta mais prejudicial que os próprios parasitos. (23, 10, 24)

Dentre os fatores relacionados ao hospedeiro, a resposta imunológica é um parâmetro de especial interesse. Estudos em camundongos apontam que são relevantes fatores como a variabilidade da cepa, tropismo, antigenicidade e tamanho do inoculo, sendo a maior parte dos manifestos clínicos intimamente ligados a resposta imunológica contra o parasito, mas tanto o paciente assintomático quanto o sintomático desenvolve resposta imunológica durante a infecção. A resposta imunológica é um parâmetro de grande valor, pois acredita-se que a interação parasito-hospedeiro são responsáveis pela patogênese da doença em sua fase. (25, 3)

A imunidade inata age na resistência do hospedeiro contra o parasito, sendo as células natural killer (NK) as que agem no início da infecção reduzindo o

crescimento do *T. cruzi*. e/ou produzindo a imunidade adquirida. A resistência do *T. cruzi* ao complemento se dá a sua capacidade de resistir à ação lítica da célula como já citado anteriormente, essa resistência do parasito ocorre em sua forma tripomastigota, mas as formas epimastigotas as quais induzem a ativação das proteínas e enzimas da cascata de complemento são suprimidas. Considerando também a implicação da imunidade inata é constatada a ativação inespecífica do sistema imunológico humoral, resultante de uma resposta de linfócitos T e B. As células T reguladoras têm sido descritas como uma única população de CD25⁺ CD4⁺. (3, 12)

As células CD4⁺ são fundamentais, tendo como papel a produção de citocinas como IFN- γ as quais tem participação na destruição de formas intracelulares do parasito, sendo as células CD4⁺ também responsáveis por provocar produção de anticorpos líticos. Estudos indicam que o IFN- γ pode ser considerado como uma citocina protetora, já que induzem a produção de metabólitos tóxicos ao estimular macrófagos que produzem as substâncias lesivas para os parasitas, mas em resposta a produção dos metabólitos a IL-4, IL-10 e TGF- β suprimem a ativação dos macrófagos, inibindo tanto a produção de metabolitos quanto a diferenciação das células T. (3, 12)

Pesquisas mostram que em complemento as citocinas, intermediários como o óxido nítrico tem sido relatados como moléculas necessárias durante a resistência à infecção do *T. cruzi*, durante a fase aguda da moléstia. Enquanto na fase crônica foram observados altos níveis de óxido nítrico na forma cardíaca em casos de cardiopatia dilatada. Pode-se dizer que possivelmente o óxido nítrico é um dos mais importantes mediadores produzidos pelas células da imunidade inata. (22, 11). O óxido nítrico é produzido por células apresentadoras de antígenos (APC), podendo estas células desenvolverem várias funções como inibição do complexo de histocompatibilidade, inibição da síntese de IL-12 que contribui para dessensibilização de macrófagos depois dos estímulos inflamatórios. (10)

De acordo com estudos há uma resposta imune específica para o *T. cruzi*, relacionando assim a ausência de sintoma dos pacientes em fase intermediária com a capacidade de controlar o sistema imunitário em resposta ao parasita, porém o paciente durante a fase crônica incapaz de exercer esse controle imunológico. Pesquisas propõem que as células T através da IL-10, auxiliam positivamente os pacientes da forma intermediária mantendo um equilíbrio entre células que matam o

parasito e evitando a imunopatologia no tecido, em contrapartida os pacientes da forma crônica não tem essas células e / ou reguladores do processo inflamatório suficiente em relação ao seu nível sérico de células T elevado, dito isto observamos que as células T usa diversas formas para regular a resposta imune da DC, mas as interações parasito hospedeiro podem ser influenciadas pela mesma. (10, 12)

A redução da parasitemia, associado com o aparecimento de imunoglobulinas específicas, caracteriza o início da fase crônica (8), sendo que, com o passar do tempo, as células T de memória específicas demonstram sinais de senescência e perda de diferenciação celular, levando a progressão para o envolvimento cardíaco mais grave (10), já indivíduos com a forma digestiva apresentam níveis mais elevados de IgG4 e IL-10. (25)

Pesquisas respaldam a idéia de que a permanência do parasito nos tecidos induz uma continua estimulação do sistema imune que tem como conseqüência o esgotamento de células T específicas e CD4⁺, podendo acarretar uma falha no sistema imunológico do hospedeiro que já não conseguirá controlar a replicação do parasito e resultará nos sintomas graves da doença. (10)

4 DIAGNÓSTICO DA DC

Para o diagnóstico da DC são utilizados vários métodos, sendo alguns mais eficazes quanto à sensibilidade e especificidade ou a fase em questão da doença, ou seja, em cada fase há um exame mais efetivo para o diagnóstico. Os métodos mais utilizados são: parasitológicos (xenodiagnóstico, gota espessa e esfregaço em camada delgada), sorológicos (ELISA, RIFI e HI) e molecular (PCR). (26)

Os exames sorológicos são normalmente utilizados para diagnosticar a doença em sua fase crônica, estudos mostram que no estado do Pará alguns exames também demonstraram eficácia quanto à sensibilidade para diagnóstico durante a fase aguda, representados pelos seguintes percentuais 45,6% em hemocultura, 47,5% gota espessa, 61,6% xenodiagnóstico e 86,7% para exames de IgM anti *T. cruzi*. (27, 28)

Os primeiros métodos diagnósticos desenvolvidos foram os parasitológicos, vindo em seqüência o xenodiagnóstico e o hemocultivo que após aperfeiçoamento foi utilizado com maior periodicidade, apresentando resultados parecidos com o xenodiagnóstico e também permitindo o isolamento do parasito, esses métodos não são indicados para a fase crônica da doença, pois são considerados com baixa sensibilidade. Também é de destaque o método de gota espessa que é utilizado com maior freqüência durante a fase aguda tendo menos sensibilidade em relação aos métodos citados anteriormente. (29, 27)

Considerando a baixa parasitemia durante a fase crônica os exames sorológicos são os mais indicados para o diagnóstico, podendo ser citado entre eles o ELISA, onde através de uma proteína encontrada na superfície dos tripomastigotas e amastigotas é utilizado um anticorpo monoclonal que se liga a esse, desenvolvendo assim a técnica para detecção da DC. Essa técnica é sensível, porém não muito específica, podendo ocorrer reação cruzada durante sua execução. Esse fenômeno pode ser explicado devido a um grupo de proteínas vinculadas ao cálcio flagelar, o claflagin, que está presente em grande maioria dos tripanossomídeos, ela aparenta ser responsável pela reação cruzada entre o *T. cruzi* e *Leishmania braziliensis*, causando positividade para chagas em soros de pacientes com Leishmaniose. (30, 76, 29)

A técnica de RIFI tem como princípio a ligação dos anticorpos aos epítomos antigênicos das células, mas a detecção feita por um segundo anticorpo marcado com substâncias fluorescentes e analisados em microscópio de fluorescência. Porém assim como o método de ELISA o método de RIFI tem limitações relacionadas com a reação cruzada, pois os antígenos utilizados durante a técnica podem apresentar essa reação com outras espécies da família *Trypanosomadae* até mesmo com microrganismos filogeneticamente distantes. O RIFI é um teste de elevada sensibilidade que pode ser usado como diagnóstico da fase aguda e crônica da doença.(31, 32)

O teste de HI é uma técnica prática e de fácil manipulação com baixo custo, ela é utilizada para diagnóstico durante a fase crônica e aguda da doença. A realização da técnica consiste em fixar hemácias ao antígeno do *T. cruzi* com o soro do paciente, que na presença de anticorpos específicos ocorre a aglutinação da amostra. (33, 34)

O PCR é um método molecular que além da grande sensibilidade diagnóstica é rápido e pode ser realizado em grande variedade de amostras como: biópsia, amostras fixadas em formol ou etanol, aspirado de linfonodos, baço, sangue periférico entre outros, que o torna mais proficiente em relação aos exames sorológicos. É uma técnica molecular moderna que permite a análise direta de ácidos nucléicos a partir da amplificação de um fragmento do agente etiológico os quais as seqüências de DNA são conhecidas, sendo esse um método baseado no emprego de oligonucleotídeos sintéticos que amplificam seqüências de DNA específicas dos parasitos. É utilizada atualmente para diagnóstico e acompanhamento do tratamento da doença. (35, 33)

Mesmo sendo relevante a ocorrência de reação cruzada em foco entre *T. cruzi* e *Leishmania braziliensis*, a possibilidade de duas sorologias positivas não podem ser descartadas, ou em uma pesquisa para um dos parasitos for achado o outro não pode desconsiderar a possibilidade de uma real infecção do agente pesquisado. (36, 37)

A diversidade genética do *T. cruzi* pode influenciar na realização dos testes sorológicos. Sendo então o diagnóstico da infecção pelo *T. cruzi* realizando através de pelo menos dois métodos diagnósticos com princípios diferentes, os mais empregados são: ELISA, RIFI, HI. De acordo com estudos realizados a hemocultura e o PCR têm bom potencial para confirmação do diagnóstico da DC e também com embasamento nesses estudos pode-se afirmar que o exame de ELISA tem confiabilidade esperada para o diagnóstico correto da doença. (13, 38, 30, 13)

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que as reações imunológicas ocorridas em nosso organismo durante a infecção com a DC contribuem para o desenvolvimento da doença, sendo a interação parasito/hospedeiro de extrema importância para a continuidade do ciclo biológico do *T. cruzi*.

Baseado na pesquisa desenvolvida é possível afirmar que os atuais exames realizados para diagnóstico da DC são muito mais sensíveis que específicos levando

à possibilidade de reações cruzadas, resultando em exames falsos positivos e falsos negativos no diagnóstico. Isso mostra que há uma ampla lacuna nas pesquisas e estudos realizados nessa área, já que a DC é uma doença negligenciada, mas ainda endêmica em nosso país.

ABSTRACT

IMMUNOPATHOLOGY OF *TRYPANOSOMA CRUZI* AND CHAGAS DISEASE

The Chagas Disease (CD) is a parasitosis caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), which presents heteroxenic biological cycle and have the triatomine as a vector. The DC can be transmitted in several ways, through the vector, ingestion of *T. cruzi*, blood transfusion, congenital among others. The illness has three stages: acute, indeterminate and chronic. The acute phase, in most cases presents itself asymptotically, however can present classic symptoms such as Romaña and chagoma inoculation. The chronic stage the disease can develop in both cardiac and digestive forms and also undetermined. It is believed that the immune response has an influence on disease development, because during the chronic phase the host organism is no longer able to combat parasites that replicate without intervention causing tissue damage. Studies have shown that T cells can no longer differentiate, losing their function and providing the opportunity for progression of the disease. The laboratory diagnosis of schistosomiasis is conducted using different methods such as xenodiagnosis, ELISA (enzyme immunoassay), IFAT (indirect immunofluorescence assay), HI (hemagglutination Indirect) and PCR (Polymerase Chain Reaction). In this review it was shown in which phase of the disease diagnostic tests are more effective and cross-reactions that occur during the blood tests. This demonstrates that there is a wide gap in the researches and studies in this area, since Chagas disease is a neglected disease, but remains endemic in our country.

Keywords: Trypanosoma cruzi, Chagas Disease, Diagnosis.

REFERÊNCIAS

- 1 SANTO, A. H. et al. Tendência da mortalidade relacionada à doença de Chagas, Estado de São Paulo, Brasil, 1985 a 2006: estudo usando causas múltiplas de morte. **Rev Panam Salud Publica**, v. 26, n. 4, p. 299-309, 2009. Disponível em: < <http://www.scielosp.org/pdf/rpsp/v26n4/v26n4a03.pdf>>. Acesso em: 21 out. 2014.
- 2 BARROS, M. L. et al. Associação entre dissinergia miocárdica e arritmia ventricular na forma indeterminada da doença de Chagas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 2, p. 213-216, 2011. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v44n2/aop16-11.pdf>>. Acesso em: 21 out. 2014
- 3 OLIVEIRA, L. S.. **Modelando a interação entre o sistema imunológico humano eo Tripanossoma cruzi.** 2010. Disponível em: < <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=000477485>> . Acesso em: 06 out. 2014
- 4 COURA, J. R.; BORGES-PEREIRA, José. Chronic phase of Chagas disease: why should it be treated? A comprehensive review. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 6, p. 641-645, 2011. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S007402762011000600001&script=sci_artt_ext&tlng=pt> . Acesso em: 06 out. 2014.
- 5 SILVA, E. M. et al. Estudo clínico-epidemiológico da doença de Chagas no distrito de Serra Azul, Mateus Leme, centro-oeste do Estado de Minas Gerais. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 43, n. 2, p. 178-181, 2010. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v43n2/14.pdf>>. Acesso em: 23 out. 2014.
- 6 DIAS, J. C. P.; AMATO N. V. Prevenção referente às modalidades alternativas de transmissão do Trypanosoma cruzi no brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 44, p. 68-72, 2011. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v44s2/a11v44s2.pdf>>. Acesso em: 23 out. 2014.
- 7 FILHO, J. C. R. F. et al. Soropositividade para doença de Chagas entre doadores de sangue em Araraquara, Estado de São Paulo, no período de 2004 a 2008. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 1, p. 110-112, 2011. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v44n1/25.pdf>>. Acesso em: 23 out. 2014.
- 8 LORENA, V. M. B. et al. Cytokine levels in serious cardiopathy of Chagas disease after in vitro stimulation with recombinant antigens from Trypanosoma

cruzi. **Scandinavian journal of immunology**, v. 72, n. 6, p. 529-539, 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21044127>> . Acesso em: 31 ago. 2014

9 MESSIAS, F. F. **Avaliação do perfil imunorreativo de peptídeos recombinantes selecionados por Phage Display contra IgG humana de pacientes com a doença de Chagas crônica**. 2010. Disponível em: < <http://repositorio.ufu.br/handle/123456789/2684>> . Acesso em: 23 out. 2014.

10 DE MELO, A. S. et al. IL-10 and IFN- γ gene expression in chronic Chagas disease patients after in vitro stimulation with recombinant antigens of *Trypanosoma cruzi*. **Cytokine**, v. 58, n. 2, p. 207-212, 2012. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043466612000233>> . Acesso em: 31 ago. 2014.

11 GUTIERREZ, F. RS et al. The effects of nitric oxide on the immune system during *Trypanosoma cruzi* infection. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 236-245, 2009. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762009000900030&script=sci_arttext&lng=pt> . Acesso em : 06 out. 2014.

12 DE ARAUJO, F. F. et al. Regulatory T cells phenotype in different clinical forms of Chagas' disease. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 5, n. 5, p. e992, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3104959/>> . Acesso em: 31 ago. 2014.

13 KINOSHITA-YANAGA, A. T. et al. Polymerase chain reaction and blood culture in blood donors screened by ELISA test for Chagas' disease. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 1, p. 53-61, 2011. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1984-82502011000100007&script=sci_arttext> . Acesso em 23 OUT. 2014.

14 MARCONI, M. de A.; LAKATOS, E. M. Fundamentos de metodologia científica. 6.ed. São Paulo: Atlas, 2007. p. 261-265. Disponível em: < https://portal.metodista.br/biblioteca/servicos/manual_referencias_2014.pdf> . Acesso em 15 jul. 2014

15 PEDRA, R., DE OLIVEIRA, R., PRESTES BEYRODT, C., FRANÇA, H.. Desafio em saúde pública: tratamento etiológico da doença de Chagas na fase crônica / A challenge in public health: the etiological treatment of chronic Chagas' disease. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba. ISSN (impresso) 1517-8242 (eletrônico) 1984-4840**, Local de publicação (editar no plugin de tradução o arquivo da citação ABNT), 13, jun. 2011. Disponível em:

<<http://revistas.pucsp.br/index.php/RFCMS/article/view/3404>>. Acesso em: 15 Set. 2014..

16 NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**, 11ª Edição, Ed. Atheneu.

17 NEVES, D. P. **Parasitologia dinâmica**. São Paulo: Atheneu, 2003.

18 CIMERMAN, B.; CiMERMAN, S. **Parasitologia humana e seus fundamentos gerais**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

19 DE ANDRADE, J. P. et al. I Diretriz Latino-Americana para o Diagnóstico e Tratamento da Cardiopatia Chagásica. Resumo Executivo. **Arq Bras Cardiol**, v. 96, n. 6, p. 434-442, 2011. Acesso em: <<http://www.scielo.br/pdf/abc/v96n6/v96n6a02.pdf>>. Acesso em 20 out, 2014.

20 DA SILVA, R. A.; WANDERLEY, D. M. V. Programa de Controle da Doença de Chagas no Estado de São Paulo, Brasil: o controle e a vigilância da transmissão vetorial. 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v44s2/a12v44s2.pdf>>. Acesso em 20 out, 2014.

21 SILVEIRA, Antônio Carlos. Os novos desafios e perspectivas futuras do controle. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 44, n. supl II, p. 122-124, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v44s2/a16v44s2.pdf>>. Acesso em: 20 out. 2014

22 OSTERMAYER, A. L. et al. O inquérito nacional de soroprevalência de avaliação do controle da doença de Chagas no Brasil (2001-2008). **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 44, n. supl II, p. 108-121, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v44s2/a15v44s2.pdf>>. Acesso em: 20 out, 2014.

23 REY, L. **Bases da parasitologia médica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

24 BORGES, C. R. B. et al. Papel do óxido nítrico no desenvolvimento de lesões cardíacas na fase aguda da infecção experimental pelo *Trypanosoma cruzi*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 2, p. 170-174, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v42n2/v42n2a15.pdf>>. Acesso em: 06 out. 2014

25 PISSETTI, C. W. et al. Associação entre os níveis plasmáticos de TNF-, IFN-, IL-10, óxido nítrico e os isotipos de IgG específicos nas formas clínicas da doença de Chagas crônica. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n.

4, p. 425-430, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v42n4/a13v42n4.pdf>>. Acesso em: 06 out. 2014

26 ALMEIDA, E. A. de et al. Evolução fatal da co-infecção doença de Chagas/Aids: dificuldades diagnósticas entre a reagudização da miocardite ea miocardiopatia chagásica crônica. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 2, p. 199-202, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v42n2/v42n2a21.pdf>. Acesso em: 14 out. 2014.

27 Recomendações sobre o diagnóstico parasitológico, sorológico e molecular para confirmação da doença de chagas aguda e crônica, **Ministério da saúde Secretaria de vigilância em saúde Departamento de vigilância epidemiológica Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis Unidade Técnica de Zoonoses Vetoriais e Raiva**, 2013. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/iptsp/article/download/28060/15821>>. Acesso em: 14 out. 2014.

28 MONTEIRO, W. M. et al. Série de casos agudos de doença de Chagas atendidos num serviço terciário de Manaus, Estado do Amazonas, de 1980 a 2006. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 2, p. 207-210, 2010. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v43n2/21.pdf>>. Acesso em: 14 out. 2014.

29 AGUIAR, C. S. **Aplicações dos sorotestes ELISA e WESTERN BLOTTING na avaliação de reatividade cruzada no diagnóstico diferencial de infecções causadas por Trypanosoma cruzi e Leishmania chagasi em soros caninos de área endêmica da Bahia**. 2008. Disponível em: < <http://www.mevtropical.ufba.br/arquivos/dissertacoes/2006/Cristiane%20Silva%20Aguiar1.pdf>>. Acesso em: 14 out. 2014.

30 DE ANDRADE, J. P. et al. I Diretriz Latino-Americana para o Diagnóstico e Tratamento da Cardiopatia Chagásica. Resumo Executivo. **Arq Bras Cardiol**, v. 96, n. 6, p. 434-442, 2011. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/abc/v96n6/v96n6a02.pdf>>. Acesso em 14 out. 2014.

31 LAURINO, C. C. F. C. et al. Experiência da adoção do I e II Consensos Brasileiros de Fator Antinuclear por Imunofluorescência Indireta em Células HEP-2 em um hospital universitário. **Rev Bras Reumatol**, v. 49, n. 2, p. 110-20, 2009. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rbr/v49n2/03.pdf>>. Acesso em: 14 out, 2014.

32 LUCIANO, R. M. et al. Avaliação da reatividade cruzada entre antígenos de Leishmania spp e Trypanosoma cruzi na resposta sorológica de cães pela técnica de

imunofluorescência indireta (RIFI). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 3, p. 181-187, 2009. Disponível em: < <http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/26765/0>>. Acesso em: 14 out, 2014.

33 SIQUEIRA, D. S. R. L.; PEDROSO, D. Transmissão congênita da Doença de Chagas: Uma revisão. Disponível em: < [http://www.cienciasdasaude.famerp.br/racs_ol/vol-20-4/ID-528-out-dez-2013-20\(4\).pdf](http://www.cienciasdasaude.famerp.br/racs_ol/vol-20-4/ID-528-out-dez-2013-20(4).pdf)>. Acesso em: 14 out, 2014.

34 COSTA, Milce et al. DOENÇA DE CHAGAS: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. **REFACER-Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres**, v. 1, n. 2, 2013. Disponível em: < <http://ceres.facer.edu.br/revista/index.php/refacer/article/view/42>>. Acesso em: 14 out, 2014.

35 COSTA, J. M. et al. Modalidades clínicas, diagnóstico e abordagem terapêutica da leishmaniose tegumentar no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, n. 79, 2009. Disponível em: < <http://www.gmbahia.ufba.br/index.php/gmbahia/article/viewFile/1033/1009>>. Acesso em 14 out, 2014.

36 URIAS, Elaine VR et al. Prevalência de adultos infectados por *Leishmania leishmania chagasi* entre doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**, v. 31, n. 5, p. 348-354, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v31n5/7409.pdf>>. Acesso em 14 out, 2014.

37 BRAZ, Lucia Maria Almeida et al. Análise de técnicas parasitológicas utilizadas no seguimento de pacientes com doença de chagas e tratados por meio do transplante cardíaco. **Revista de Patologia Tropical**, v. 42, n. 1, 2013. Disponível em: < <http://www.revistas.ufg.br/index.php/iptsp/article/view/23594>>. Acesso em: 14 out, 2014.

38 COURA, Jose Rodrigues et al. A new survey of the serology of human *Trypanosoma cruzi* infection in the Rio Negro microregion, Brazilian Amazon: a critical analysis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, n. AHEAD, p. 1-5, 2013. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762013005030303&script=sci_arttext>. Acesso em: 14 out. 2014.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me fortalecer durante essa etapa da minha vida. Agradeço aos meus pais Vera Lúcia da Silva e José Leite de Vasconcelos, as minhas irmãs Gabriela Vasconcelos e Érika Vasconcelos, por me ensinar ser quem sou e sempre me apoiar em todas minhas decisões e desafios. Sou grata aos meus amigos Thiago Magalhães, Rodrigo Magalhães, Fabrício Vieira, Sabrina Gonçalves, Alyne Sousa, Misael Amorim e Lucas Silva por me acompanhar e sempre me motivar, me mostrando o melhor caminho para que eu alcançasse meus objetivos. Tenho grande orgulho dos meus companheiros de faculdade, agradeço por tornarem todas as dificuldades em aprendizado e fazerem mais agradável esse caminho, por me “suportarem” em todos os momentos, em todos os humores, em todas as minhas fases, vocês se tornaram minha família. Agradeço imensamente minha orientadora Sandra Regina Cardoso por me apoiar, acreditar em mim, por sua paciência, companheirismo e a tranquilidade que sempre me passava em nossas conversas. Guardo comigo todos os ensinamentos que tive até aqui, pois me fizeram crescer indescritivelmente, todos vocês foram indispensáveis para minhas conquistas. Obrigada!