ANÁLISE DA CARGA PARASITÁRIA POR PCR EM TEMPO REAL CÓLON DE CAMUNDONGOS INFECTADOS POR *Trypanosoma cruzi* ASSOCIADA A VESÍCULAS EXTRACELULARES

Cleverson Ferreira da Silva Junior (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Maria Gabriela Lima da Silva Zussa, Amanda Gubert Alves dos Santos (Coorientador), Gessilda de Alcantara Nogueira de Melo (Orientador). E-mail: ganmelo2@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Parasitologia, Protozoologia de parasitos/Protozoologia Parasitária Humana

Palavras-chave: Doença de Chagas; Vesículas Extracelulares; Carga parasitária.

RESUMO

A Doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, pode apresentar manifestações digestivas associadas ao comprometimento do trato gastrointestinal. As vesículas extracelulares participam da comunicação entre parasito e hospedeiro e podem influenciar a resposta durante a infecção. Este estudo teve como objetivo detectar e avaliar a carga parasitária de *T. cruzi* no cólon de camundongos Balb/c infectados e tratados com vesículas extracelulares. Foram utilizados 30 camundongos machos, distribuídos em seis grupos experimentais. A infecção foi realizada com 1×10^5 tripomastigotas do clone CL Brener e, nos grupos correspondentes, foram administradas vesículas extracelulares. Após 28 dias, fragmentos do cólon foram coletados para extração de DNA e análise por PCR quantitativa em tempo real utilizando SYBR Green. Foi detectado DNA de *T. cruzi* nas amostras dos animais infectados, enquanto o grupo controle não apresentou amplificação correspondente. Entretanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na carga parasitária entre os grupos experimentais. Conclui-se que a qPCR foi eficiente para detectar *T. cruzi* no tecido colônico e que, nas condições avaliadas, as vesículas extracelulares não promoveram alterações detectáveis na quantidade de DNA parasitário aos 28 dias após a infecção.

INTRODUÇÃO

A Doença de Chagas é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, podendo apresentar manifestações cardíacas e digestivas. O comprometimento gastrointestinal está relacionado a alterações inflamatórias, estruturais e neurológicas, podendo contribuir para o desenvolvimento do megacólon chagásico. Nesse contexto, as vesículas extracelulares têm sido investigadas por participarem da comunicação entre parasito e hospedeiro e por seu potencial de modulação das respostas celulares e imunológicas (MOLINA et al., 2018; YÁÑEZ-MÓ et al., 2015).

A avaliação da presença e da quantidade de DNA parasitário no tecido colônico permite caracterizar a infecção experimental. A PCR quantitativa em tempo real apresenta elevada sensibilidade para detecção de *T. cruzi* e é utilizada em diferentes tecidos e modelos experimentais (SCHIJMAN et al., 2011). Assim, o objetivo deste estudo foi analisar a carga parasitária por PCR quantitativa em tempo real no cólon de camundongos Balb/c infectados por *T. cruzi* e submetidos à administração de vesículas extracelulares.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 30 camundongos machos Balb/c, com aproximadamente 60 dias de idade, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UEM (CEUA/UEM), protocolo nº 5864311022. Os animais foram distribuídos em seis grupos: controle não infectado (CG), infectado (IG), infectado tratado com vesículas derivadas de CL Brener/C2C12 (CLC2), CL Brener/Caco-2 (CLCa), Dm28c/C2C12 (DmC2) e Dm28c/Caco-2 (DmCa). A infecção foi realizada por via intravenosa com 1×10^5 tripomastigotas do clone CL Brener de *T. cruzi*. Nos grupos correspondentes, foram administrados 5 µg de vesículas extracelulares obtidas da interação dos clones CL Brener ou Dm28c com as linhagens Caco-2 e C2C12. Após 28 dias, fragmentos do cólon foram coletados e armazenados a –80 °C.
O DNA foi extraído utilizando o kit HiPurA® MB554 (HiMedia Laboratories®). A detecção e quantificação do DNA de *T. cruzi* foram realizadas por PCR quantitativa em tempo real utilizando QuantiNova® SYBR® Green PCR (QIAGEN). A carga parasitária foi expressa como equivalente de parasitos por 100 ng de DNA. Os dados foram submetidos à análise estatística, considerando nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A qPCR permitiu detectar DNA de *T. cruzi* no tecido colônico dos animais infectados, enquanto o grupo controle não apresentou amplificação correspondente, confirmando a presença do parasito no tecido analisado. A detecção de *T. cruzi* no cólon é compatível com o envolvimento do trato gastrointestinal durante a infecção e com a presença de focos parasitários nesse tecido (KHAN et al., 2021).
Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na carga parasitária entre os grupos experimentais ($p > 0,05$). Dessa forma, nas condições avaliadas, a administração das vesículas extracelulares não alterou de maneira detectável a quantidade de DNA de *T. cruzi* no cólon aos 28 dias após a infecção. Entretanto, esse resultado não exclui possíveis efeitos das vesículas sobre outros aspectos da interação parasito-hospedeiro, que podem depender do período analisado ou de características específicas dessas estruturas.
As vesículas extracelulares liberadas durante a interação de *T. cruzi* com células hospedeiras podem apresentar diferentes composições e participar da modulação das respostas do hospedeiro (RIBEIRO et al., 2018). Além disso, a carga parasitária

pode estar associada a alterações inflamatórias e intestinais durante a infecção (VAZQUEZ et al., 2015). Assim, a metodologia empregada constitui ferramenta relevante para estudos posteriores que relacionem a presença do parasito a alterações inflamatórias, histológicas e moleculares.

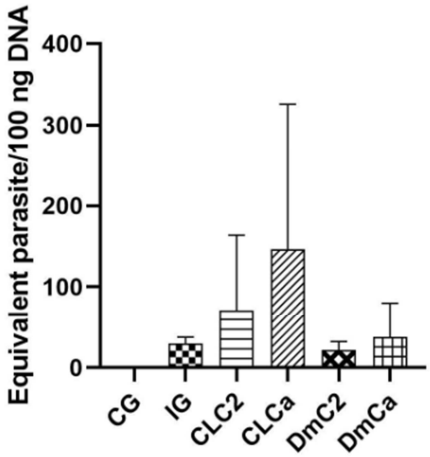


Figura 1 – Carga parasitária no cólon de camundongos Balb/c experimentalmente infectados por *Trypanosoma cruzi*, determinada por PCR quantitativa em tempo real (qPCR) e expressa como equivalente de parasitos por 100 ng de DNA. GC: Grupo controle; GI: Grupo infectado; CLC2: Grupo que recebeu vesículas extracelulares da interação de células C2C12 com CL Brener; CLCa: Grupo que recebeu vesículas da interação de células C2C12 com Caco-2; DmC2: Grupo que recebeu vesículas da interação de células C2C12 com Dm28; DmCa: Grupo que recebeu vesículas da interação de células Caco-2 com Dm28. n=5. Significância $p< 0,05$.

CONCLUSÕES

Nas condições experimentais avaliadas, as vesículas extracelulares não alteraram a carga parasitária de *Trypanosoma cruzi* no cólon dos camundongos infectados aos 28 dias após a infecção. Assim, o efeito imunomodulador das vesículas extracelulares descrito na literatura não refletiu em alterações da carga parasitária no cólon.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação Araucária e à Universidade Estadual de Maringá (UEM) pelo apoio à iniciação científica e à realização deste trabalho, bem como à orientadora, coorientadora e ao grupo de pesquisa Neurogastro UEM pelo acompanhamento e suporte durante o desenvolvimento do projeto.

REFERÊNCIAS

KHAN, A. A. et al. Local association of *Trypanosoma cruzi* chronic infection foci and enteric neuropathic lesions at the tissue micro-domain scale. **PLoS Pathogens**, San Francisco, v. 17, n. 8, e1009864, 2021. Acesso em: 7 ago. 2026.

MOLINA, I. et al. Chagas disease: recent advances and new challenges. **The Lancet Infectious Diseases**, London, v. 18, n. 7, p. 754–768, 2018. Acesso em: 10 ago. 2026.

RIBEIRO, K. S. et al. Proteomic analysis reveals different composition of extracellular vesicles released by two *Trypanosoma cruzi* strains associated with their distinct interaction with host cells. **Journal of Extracellular Vesicles**, Stockholm, v. 7, n. 1, 2018. Acesso em: 8 ago. 2026.

SCHIJMAN, A. G. et al. International study to evaluate PCR methods for detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood samples from Chagas disease patients. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 5, n. 1, e931, 2011. Acesso em: 5 ago. 2026.

VAZQUEZ, B. P. et al. Inflammatory responses and intestinal injury development during acute *Trypanosoma cruzi* infection are associated with the parasite load. **Parasites & Vectors**, London, v. 8, n. 1, p. 206, 2015. Acesso em: 7 ago. 2026.

YÁÑEZ-MÓ, M. et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. **Journal of Extracellular Vesicles**, Stockholm, v. 4, p. 27066, 2015. Acesso em: 7 ago. 2026.