CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA DE *TRYPANOSOMA CRUZI* DE MAMÍFEROS SILVESTRES E PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS DO PARANÁ

Alexandre do Sacramento Alves Anselmo (PIC), Maria Fernanda Lopes, Amanda Regina Nichi de Sá (Coorientadora), Max Jean de Ornelas Toledo (Orientador). E-mail: mjotoledo@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Parasitologia / Protozoologia de parasitos

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*; Propriedades biológicas; Camundongos

RESUMO

Trypanosoma cruzi, agente etiológico da doença de Chagas (DC), é transmitido pelo contato com excretas de insetos triatomíneos. Estima-se que mais de 6 milhões de pessoas estejam infectadas no mundo. É transmitido entre mamíferos, que são considerados "reservatórios naturais" do parasito. *T. cruzi* apresenta grande diversidade genética e biológica, e suas cepas são classificadas em sete unidades discretas de tipagem (DTUs), de TcI-TcVI, e TcBat. A estrutura populacional e o modo de propagação de *T. cruzi* é predominantemente clonal. Com isso, suas propriedades biológicas, como patogenicidade, virulência e suscetibilidade aos fármacos, podem apresentar associação com suas DTUs. O objetivo do projeto foi isolar e caracterizar biologicamente amostras de *T. cruzi* de animais silvestres e de pacientes com DC crônica do estado do Paraná. Dezenas de exemplares de mamíferos silvestres foram avaliadas e nenhum apresentou hemocultura positiva, impossibilitando a obtenção de isolados do parasito para a caracterização. De 20 pacientes com DC avaliados, três apresentaram hemoculturas positivas, o que resultou na obtenção de três isolados (T1, T2 e T3). As taxas de infecciosidade foram de 35%, 60% e 0%, respectivamente para T1, T2 e T3 e as taxas de mortalidade nulas. Os perfis das curvas de parasitemia diferiram principalmente entre T1 e T2, por um lado, e T3 por outro, e para este último, não foi detectada parasitemia patente. Concluiu-se que os isolados de *T. cruzi* obtidos de pacientes com a DC crônica são de baixa virulência para camundongos.

INTRODUÇÃO

Trypanosoma cruzi é um protozoário hemoflagelado, agente etiológico da doença de Chagas (DC), também denominada tripanossomíase americana. Sua transmissão ocorre principalmente pelo contato com excretas de insetos triatomíneos hematófagos, conhecidos como barbeiro, infectados (WHO, 2025). A DC é considerada doença tropical negligenciada, com mais de 6 milhões de pessoas infectadas mundialmente e 12.000 mortes anuais (WHO, 2025). O parasito apresenta diferentes formas evolutivas durante seu ciclo, sendo as formas

amastigota, epimastigota e tripomastigota caracterizadas por diferenças morfológicas, fisiológicas e pelo local em que são encontradas nos hospedeiros vertebrado ou invertebrado (Lana; Machado, 2017).

O ciclo de transmissão silvestre de *T. cruzi* envolve, além de triatomíneos silvestres, uma ampla diversidade de mamíferos silvestres, pertencentes a sete ordens, que podem atuar como reservatórios naturais do parasito (Guhl, 2017). No ambiente doméstico, o parasito circula entre triatomíneos domiciliados e animais domésticos, incluindo o homem.

As cepas de *T. cruzi* são classificadas em sete unidades discretas de tipagem (DTUs), TcI–TcVI e TcBat, que apresentam elevada diversidade genética e biológica (Zingales et al., 2012). Devido à estrutura populacional e à propagação predominantemente clonal do parasito, a classificação em DTUs pode estar relacionada a características biológicas distintas, incluindo patogenicidade, virulência e suscetibilidade aos fármacos.

O presente projeto tem como objetivo isolar e caracterizar biologicamente amostras recém-obtidas de *T. cruzi*, avaliando sua virulência e patogenicidade em camundongos. Busca-se verificar possíveis associações entre as características biológicas dos isolados e sua classificação em DTUs, contribuindo para a compreensão da diversidade do parasito e de seus ciclos de transmissão, com implicações para a epidemiologia e o diagnóstico da DC.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram avaliados isolados de *T. cruzi* obtidos de pacientes com DC, representando o ciclo de transmissão doméstico. Até o presente, não foram obtidas hemoculturas positivas de animais silvestres, impossibilitando a obtenção e caracterização de amostras provenientes do ciclo silvestre.

Para cada isolado foram utilizados 20 camundongos suíços, machos, 21 a 28 dias, e 20 a 25 g, totalizando 60 animais para três isolados obtidos. Os animais foram provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e mantidos em condições controladas, com água e ração disponíveis livremente e ciclo de claro e escuro de 12 h.

Para obtenção dos parâmetros *in vivo*, os camundongos foram inoculados por via intraperitoneal com 2 $x10^6$ tripomastigotas metacíclicos derivados de cultura (TMC) acelular em meio LIT, por animal, em um volume de 0,2 mL de inóculo.

Os seguintes parâmetros foram avaliados: Taxa de infecciosidade (%INF, razão entre o número de animais que apresentavam exame de sangue a fresco (ESF) positivo e o número de animais inoculados x 100); curva de parasitemia; e taxa de mortalidade.

A partir da análise da curva de parasitemia média, obtida por meio do ESF de cada animal, realizado diariamente por cerca de 30 dias, foram obtidos os seguintes parâmetros: período pré-patente (PPP), período patente (PP), pico máximo de parasitemia (Pmax) e dia em que ocorreu o pico (Dpmax). As mortes foram registradas diariamente ao longo do experimento, permitindo calcular a taxa de mortalidade cumulativa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De 20 pacientes com DC crônica avaliados, três apresentaram hemocultura positiva, permitindo a obtenção de três isolados de origem humana e do ciclo doméstico: T1, T2 e T3. As %INF foram de 35%, 60% e 0%, respectivamente para T1, T2 e T3 (Tabela 1) e as taxas de mortalidade foram nulas.

Tabela 1

Infecciosidade e média dos parâmetros derivados da curva de parasitemia de camundongos suíços inoculados com isolados de *Trypanosoma cruzi* obtidos de pacientes com doença de Chagas crônica do Paraná. Inóculo: 2 x 10^6 tripomastigotas metacíclicos derivados de cultura/animal, por via intraperitoneal.

Parâmetros	Abreviação	Isolados de *T. cruzi*		
		T1	T2	T3
Taxa de infecciosidade	%INF	35	60	0
Período pré-patente (em dias)	PPP	11	7	0
Período de patência (em dias)	PP	13	21	0
Pico máximo de parasitemia (x10^3)*	Pmax	8,4	12	0
Dia do pico máximo	Dpmax	15	15	-

* em 0,1 mL de sangue; (-) não determinado.

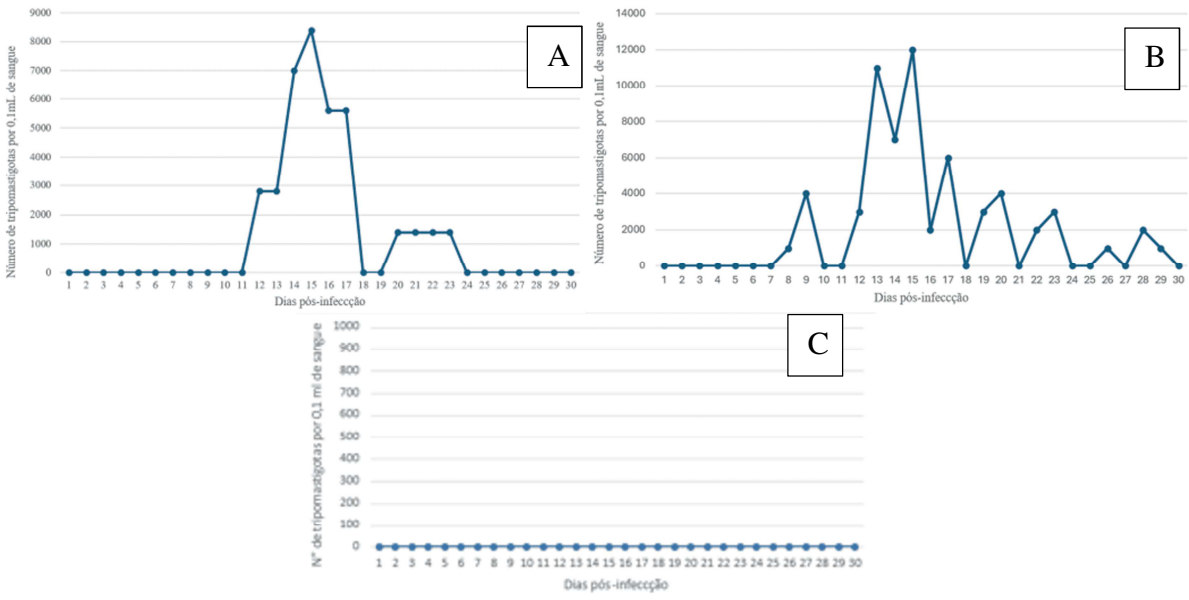


Figura 1 – Curvas de parasitemia média de camundongos suíços inoculados com isolados de *Trypanosoma cruzi* obtidos de pacientes com doença de Chagas crônica do Paraná. Isolados: T1 (A);

T2 (B); e T3 (C). Inóculo: 2 x 10^6 tripomastigotas metacíclicos derivados de cultura/animal, por via intraperitoneal.

Os isolados T1 e T2 apresentaram um PPP de 11 e 7 dias, respectivamente. Ao passo que para o isolado T3, o PPP foi igual a zero, uma vez que os animais inoculados com este isolado não apresentaram o ESF positivo (Tabela 1 e Figura 1). O PP variou de 13 a 21 dias para T1 e T2, respectivamente. O Pmax variou de 8,4 x 10^3 (T1) a 12 x 10^3 (T2) tripomastigotas sanguíneos (TS)/0,1 mL de sangue e ocorreu em torno do 15º dia de infecção (d.i.) para ambos os isolados (Tabela 1 e Figura 1).
O ESF dos animais inoculados com o isolado T3 apresentou resultado negativo. Entretanto, estes animais ainda podem estar infectados, o que poderá ser comprovado pela PCR.

CONCLUSÕES

Os três isolados de *T. cruzi* obtidos de pacientes com a DC crônica do Paraná, até o presente, apresentaram variação na infecciosidade determinada pelo exame direto do sangue, parasitemias baixas ou nula, e taxas de mortalidade nulas sendo, portanto, considerados de baixa virulência para camundongos.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Max Jean de O. Toledo, e à minha coorientadora Profa. Amanda R. N. de Sá, e à toda equipe do Laboratório de Parasitologia da UEM.

REFERÊNCIAS

LANA, M.; MACHADO, E. M. M. Biology of *Trypanosoma cruzi* and biological diversity. In: TIBAYRENC, M.; TELLERIA, J. (ed.). American Trypanosomiasis Chagas Disease. 2 ed. [S.l.]: Elsevier, 2017. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-801029-7.00016-2

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Chagas disease (American trypanosomiasis), 2025. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab_1

GUHL, F. Chagas disease in pre-Colombian civilizations. In: TIBAYRENC, M.; TELLERIA, J. American Trypanosomiasis Chagas Disease. 2 ed. [S.l.]: Elsevier, 2017. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-801029-7.00016-2

ZINGALES, B. et al. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. In Infection, Genetics and Evolution, v. 12(2):240-53, 2012. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.12.009.