

IDENTIFICAÇÕES E COMPARAÇÕES DE TÉCNICAS SOROLÓGICAS E MOLECULARES E ORIENTAÇÕES CLÍNICAS SOBRE *Trypanosoma rangeli*

Stela Caroline de Oliveira Melo¹
Daniela de Stefani Marquez²

RESUMO

Reações sorológicas cruzadas entre *T. rangeli* e *T. cruzi* são comuns, gerando falsos positivos o que mostra a necessidade de técnicas de identificação. Trata-se de uma revisão de literatura baseada em dados coletados na *Scielo*, *Pubmed*, *Google acadêmico* e *LILACS*. Realizou-se uma comparação entre os métodos das técnicas de identificação dos protozoários. Diante dos resultados, observou-se que as técnicas de identificação como: imunofluorescência, PCR, hemocultura, xenodiagnóstico, transfecção, são necessárias, uma vez que direciona o tratamento e auxilia em falsos positivos. Assim, o gasto com tratamentos em pacientes portadores do *T. rangeli* são descartados. Dessa forma, fica evidente que as técnicas de identificação precisam ser realizadas, acarretando em uma menor sobrecarga ao sistema de saúde com tratamentos ineficazes em alguns pacientes.

Palavras-chave: *Trypanosoma rangeli*, técnicas sorológicas, técnicas moleculares.

ABSTRACT

Cross serological reactions between T. rangeli and T. cruzi are common, generating false positives which shows the need for identification techniques. This is a literature review based on data collected from Scielo, Pubmed, Google Scholar and LILACS. A comparison was made between the methods of protozoan identification techniques. In view of the results, it was observed that identification techniques such as: immunofluorescence, PCR, blood culture, xenodiagnosis, transfection, are necessary, since it directs the treatment and helps in false positives. Thus, expenses with treatments for patients with T. rangeli are discarded. Thus, it is evident that identification techniques need to be carried out, resulting in a lower burden on the health system with ineffective treatments in some patients.

KEYWORDS: *Trypanosoma rangeli*, serological techniques, molecular techniques.

¹ Discente do curso de Medicina do Centro Universitário Atenas.

² Docente e orientadora do Centro Universitário Atenas. Email:orientacaostefanimarquez@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, achados de *T. rangeli* se estende por todo território brasileiro, sendo que os relatos mais frequentes acontecem no Pará, Bahia, Amazonas, Tocantins, Santa Catarina e na região sudeste do Brasil, denominada Triângulo Mineiro que é área altamente endêmica para doença de Chagas (GRISARD et al., 1999).

O *Trypanosoma rangeli* é classificado como um parasita hemoflagelado, que infecta mamíferos e hemípteros. No homem a parasitemia é baixa e apresenta uma duração curta. Já nos hospedeiros invertebrados, ele invade a hemocele e multiplica-se na hemolinfa, nos hematócitos e depois nas glândulas salivares, podendo gerar lesão no intestino e sistema nervoso (RAMIREZ; 1997).

Os parasitas tripanosomatídeos são responsáveis por causar doenças no mundo todo. Nota-se que o *Trypanosoma rangeli* causa infecção em seres humanos, no entanto, não é patogênico. Por apresentar uma similaridade antigênica com o *Trypanosoma cruzi*, o diagnóstico pode resultar em falso positivo para chagas, devido a reatividade cruzada (LAGHI; 2016). Conclui-se que o diagnóstico do parasito em humanos é possível através de exames parasitológicos, técnicas sorológicas e moleculares, que devem ser feitos para desfazer o equívoco da reação cruzada.

Portanto, o objetivo do determinado trabalho é identificar e comparar as técnicas sorológicas e moleculares existentes para a detecção de *T.rangeli* e descrever as orientações clínicas que devem ser utilizadas para esse protozoário.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de uma revisão integrativa de literatura, que se baseia na síntese de estudos publicados entre 1940 a 2016. Os passos seguidos para a construção da seguinte revisão foram: identificação da problemática, a procura da literatura com o uso dos descritores, operadores booleanos e bases de dados obedecendo critérios pré-estabelecidos para a seleção de cada artigo.

A busca pelos artigos ocorreu a partir das plataformas *Scientific Electronic Library Online* (SCIELO), Literatura Latino – Americana do Caribe em Ciências da

Saúde (LILACS), PubMed e Google Acadêmico, de janeiro de 2022 a agosto do mesmo ano. A procura foi realizada através dos Descritores em Ciência da Saúde (DeCS/MeSH), em português, Inglês e Espanhol, sendo eles: testes sorológicos e moleculares, diferenciação de *T.cruzi* e *T.rangeli*, técnicas moleculares e sorológicas.

Desse modo, a primeira etapa se deu pela aplicação dos filtros disponíveis nas bases de dados e a partir disso, foram encontrados 30 artigos.

Na segunda etapa, a de seleção, houve a leitura do título e do resumo, utilizando-se dos critérios de inclusão referentes ao tipo de estudo (relato de caso, ensaios clínicos, estudos observacionais e metanálises) e abordagem temática. Excluiu-se os artigos duplicados que estavam nos bancos de dados utilizados, trabalhos cujo o foco central não fossem a discussão minuciosa de uma das duas síndromes e estudos que não continham metodologia clara ou bem desenvolvida, totalizando-se, assim, 25 artigos.

Na última etapa, foi empenhada a leitura criteriosa dos artigos e escolhidos 13. Esses foram selecionados por obedecerem aos critérios que respondiam à questão norteadora.

3 RESULTADOS

É notório que a presença de *T. rangeli* e *T. cruzi*, em um mesmo ambiente geográfico, possibilita que infecções únicas ou mistas ocorram, tanto em hospedeiros vertebrados quanto invertebrados.

Sendo assim, observou-se dados coletados nas revisões bibliográficas realizadas e pode-se analisar, que foram capturados 19 hospedeiros, após a construção de uma usina hidrelétrica, para estudo e submissão desses a exames clínicos. Em cada animal foi realizado exame direto, esfregaço e hemocultura. Após a realização dos exames, foi notado que 7 (36,8%) hemoculturas vieram positivas e 3 (15,7%) positivas para esfregaço, apresentando trimastigotas morfológicamente semelhantes a *T. cruzi*. Dos 7 com hemoculturas positivas, ainda foram submetidos a exames complementares, para a diferenciação com o *T.cruzi*, os exames usados foram: xenodiagnóstico com ninfas de 3º estágio de *Triatoma infestans*, hemocultura, microhematócrito e PCR.

Após a coleta, os resultados demonstraram que houve uma parasitemia em 100% nos exames de microhematócrito, hemocultura e xenodiagnóstico. Logo em

seguida, foram selecionados exemplares de um xenodiagnóstico positivo em fezes e na hemolinfa e realizou-se o PCR, onde observou-se que correspondiam a *T.rangeli*. Em uma comparação entre os métodos, observou-se (Quadro 1).

Quadro 1: Representativo dos métodos de exames utilizados para diferenciação de *Trypanossomas cruzi* e *Trypanossomas rangeli*.

MÉTODOS	CARACTERÍSTICAS
Exame direto	Realizado por meio da inserção da gota de sangue coletada na polpa digital ou lobo da orelha, observando a presença ou não do parasita no sangue. Usado mais na fase aguda.
Esfregaço	Realizado através de uma gota de sangue na presença de lâminas. Possui menor sensibilidade do que os outros métodos diretos
Hemocultura	Realizado cultura de sangue, a qual consiste em transferência de amostras de sangue para um meio adequado à multiplicação dos parasitas, que é observado em um microscópio. Apresenta baixa sensibilidade
Xenodiagnóstico	Realizado por meio da alimentação dos vetores da doença com sangue possivelmente infectado e após isso, determina-se a presença ou não do parasitismo. Usado na fase crônica e aguda.
Reação em cadeia de polimerase (PCR)	Realizado através do sequenciamento de ácidos nucleico e análise de enzimas, buscando alvos específico, que seja exclusiva do parasita e permita sua detecção. Pouco utilizado devido a um alto custo e a necessidade de um laboratório para a realização.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

4 DISCUSSÃO

O *Trypanosoma rangeli* é um protozoário hemoflagelado, que infecta hemíptero hematófagos e mamíferos, tendo com vetor triatomíneos do gênero *Rhodnius*. Nesse hospedeiro invertebrado, o parasita invade a hemocele, multiplica-se na hemolinfa, hematócitos e glândulas salivares, se dispersando por outros tecidos. Algumas regiões do país são endêmicas *Trypanosoma rangeli* bem como do *Trypanosoma Cruzi*, assim torna-se necessário técnicas laboratoriais para identificá-lo e caracterizá-lo uma vez que podem na maioria das vezes apresentar reações sorológicas cruzada entre os dois parasitas o que gera resultados falsos positivos frequentemente (RAMIREZ; 1998).

A identificação do protozoário *T. rangeli* inclui métodos como: morfologia, sensibilidade a lise pelo complemento humano e de cobaia, teste de aglutinação com lectina germe de trigo (WGA), imunofluorescência indireta com anticorpos monoclonais, perfil de isoenzimas e reação de cadeia da polimerase (PCR) (RAMIREZ; 1998). Sendo no Brasil, obrigatório o uso de pelo menos dois testes sorológicos com métodos diferentes, aprimorando a sensibilidade. No entanto, deve-se ter cautela com as técnicas uma vez que as formas do protozoário interferem diretamente nos antigênicos, podendo muitas vezes resultar em inconclusão (MORAES; 2008). Assim, é importante considerar também o estágio de vida do parasita, a forma da doença, a resposta imune do paciente analisado, o perfil gênico do protozoário e apresentação clínica, visto que técnicas como soros em IFA estes critérios interferem na imunofluorescência.

Ademais, vale ressaltar que o vetor *R. prolixus*, quando infectado pelos parasitas, tem a fecundidade e fertilidade impactados por ambos os parasitas, apresentando parâmetros de reprodução e eclosão diferentes bem como a qualidade dos ovos e ninfas recém eclodidas (BELINATO; 2014). Dessa forma, é imprescindível avaliar, por meio de técnicas sorológicas e moleculares, a identificação do *T. rangeli* em comparação ao *T. cruzi*, levando em considerações as ressalvas apresentadas.

Sendo assim, analisando os resultados abordados, pode-se ressaltar que métodos de técnicas sorológicas e moleculares devem ser realizados, visando a uma identificação e conseqüentemente o tratamento adequado. Portanto, comparando a

maneira como são feitos, pode-se dizer que a reação em cadeia de polimerase (PCR), é uma técnica que usa sequenciamento de ácidos nucleicos (DNA E RNA) e análise de enzimas, buscando alvos específico (enzima, proteína, gene), que seja exclusiva do parasita e permita sua detecção (FAPESP; 2002). Já a hemocultura é realizada com cultura de sangue, a qual consiste em transferência de amostras de sangue para um meio adequado à multiplicação dos parasitas, que é observado em um microscópio. O xenodiagnóstico é feito por meio da alimentação dos vetores da doença com sangue possivelmente infectado e após isso se determina se eles adquirem ou não o parasitismo (DIAS; 1940). Mais recente, foi observado a técnica de transfecção, que a proteína verde é implantada no genoma do *T. rangeli* e observa-se a presença do gene da enzima beta-galactosidase, produzindo uma coloração amarelada, azulada ou avermelhada (FAPESP; 2002).

Sabe-se também que as manifestações da doença de Chagas variam de assintomáticas a alterações sutis que podem ser observadas no eletrocardiograma que podem evoluir para insuficiência cardíaca congestiva avançada e/ou síndromes megaesofágicas ou colônicas incapacitantes. Mas o que torna esse estudo notável é que a maioria (~60%) dos indivíduos infectados não apresenta evidência clínica de infecção além da sorologia positiva apresentando-se assintomáticos muitas vezes por toda a vida. Dessa forma, é de extrema importância que a população testada e positiva para Doença de Chagas e que são assintomáticos também sejam novamente testados para verificação de prováveis reações sorológicas cruzadas e possíveis exposições desnecessárias a medicamentos que podem causar toxicidade ao organismo e onerar o sistema de saúde com assistência a pacientes falsamente positivos. Sendo assim, nota-se que a clínica do *T. rangeli*, é baseada em casos assintomáticos, sendo necessário portanto, testagem para diferenciação dos respectivos parasitas, para assim não onerar o sistema de saúde com assistência a pacientes falsamente positivos.

5 CONCLUSÕES

Diante do que foi exposto, é inegável a reação cruzada entre os protozoários *T. rangeli* e o *T. cruzi*, o que pode gerar na maioria dos casos falso positivos. Portanto, técnicas com metodologias diferentes são crucias para identificação e caracterização do *T. rangeli*. Tais técnicas incluem desde análise de

morfologia até a imunofluorescência, métodos que necessitam de cautela e precisão uma vez que dependem das características do parasita segundo o que mostra os resultados das pesquisas analisadas.

Assim, métodos de identificação devem ser empregados visando além da identificação, o tratamento que deverá ser indicado ao paciente. Sabe-se que as evidências clínicas da doença de Chagas dependem muitas vezes do estágio em que se encontram o paciente, podendo muitas vezes, como mostra estudos, serem assintomáticos por longos períodos de tempo. Pacientes infectados pelo *T. rangeli* tendem a serem assintomáticos para a doença. Dessa forma, a identificação do parasita em pacientes positivos para Chagas e assintomáticos é de suma importância devido a um tratamento inadequado para falsos positivos e conseqüentemente sobrecarga ao Sistema de Saúde.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, L., ROMANHA, A.J.; COSENZA, H.; KRETTLI, A.U. **Trypanosomatid isolates from Honduras: differentiation between *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli***. Am J Trop Med Hyg., v.44, n.6, p.676-83, 1991. doi: 10.4269/ajtmh.1991.44.676. PMID: 1907109.

BELINATO, M.R.F. **Efeito dos parasitos *Trypanosoma cruzi* e *Trypanosoma rangeli* em aspectos do fitness de *Rhodnius prolixus***. Lorenzo, Marcelo Gustavo. 2014. 120 f. Tese (Doutorado Ciências) - Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2014.

CABALLERO, Z.C.; SOUSA, O.E.; MARQUES, W.P.; SAEZ-ALQUÉZAR, A.; UMEZAWA, E.S. **Avaliação de testes sorológicos para identificar infecção por *Trypanosoma cruzi* humano e reatividade cruzada com *Trypanosoma rangeli* e *Leishmania* spp. casos**. Clin Vacina Immunol. 2007, 14: 1045-1049. 10.1128/CVI.00127-07.

D'ALESSANDRO, A.; HINCAPIE, O. ***Rhodnius neivai*: a new experimental vector of *Trypanosoma rangeli***. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene., v. 35, p.512-514,1986.

DE MORAES, M.H.; GUARNERI, A.A.; GIRARDI, F.P. *et al.* **Diferentes reatividades sorológicas cruzadas de formas de *Trypanosoma rangeli* em soros de pacientes infectados com *Trypanosoma cruzi***. Vetores de parasitas, v.1, n.20, 2008.

DIAS, E. **Técnica do xenodiagnostico na molestia de Chagas**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz [online], v. 35, n. 2, p. 335-342, 1940.

FAPESP, Pesquisa. **Identidades reveladas**. 2002. Disponível em: <<https://revistapesquisa.fapesp.br/wp-content/uploads/2002/06/46a47-76-pesquisa-chagas.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2022.

GRISARD, E.C.; STEINDEL, M.; GUARNERI, A.A.; EGER-MANGRICH, I.; CAMPBELL, D.A.; ROMANHA, A.J. **Caracterização de cepas de *Trypanosoma rangeli* isoladas na América Central e do Sul: uma visão geral**. Mem Inst Oswaldo Cruz., v.94, p.203-209, 1999.

GUHL, F. **Purified *Trypanosoma cruzi* specific glycoprotein for discriminative serological diagnosis of South American trypanosomiasis (Chagas' disease)**. 1990. 85 v. Tese (Doutorado) - Curso de Parasitologia, Universidad de Los Andes, Bogotá, 1990.

LAGHI, V.S. **GP63 DE TRYPANOSOMA RANGELI: UM COMPARATIVO INSILICO DA VARIABILIDADE E ESTRUTURA PROTEÍCA DESTAS METALOPROTEASES COM OUTROS TRIPANOSOMATÍDEOS**. 2016. 58 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

RAMIREZ, L.E.; MACHADO, M.I.; MAYWALD, P.G.; MATOS, A.; CHIARI, E.; SILVA, E.L. **Primeira evidência de *Trypanosoma rangeli* no sudeste do Brasil, região endêmica para doença de Chagas**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.31, p.99-102, 1998.

RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, I., MARÍN, C., HITOS, A.B.; ROSALES, M.J.; GUTIERREZ-SÁNCHEZ, R.; SÁNCHEZ-MORENO, M. **Biochemical characterization of new strains of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* isolates from Peru and Mexico**. Parasitol Res., v.94, n.4, p.294-300, 2004. doi: 10.1007/s00436-004-1214-5.