

Métodos de diagnóstico para a doença de Chagas: uma atualização

Diagnostic methods of Chagas disease: an update

Daniela Ferreira Alves¹

Antônio Sávio Camelo Muniz¹

Clara Durval da Rocha Abrel¹

Neilane Rodrigues de Freitas¹

Andréa Bessa Teixeira²

Eric Soares Ferreira³

Resumo

A doença de Chagas (ou tripanossomíase americana) é a infecção causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Apresenta uma fase aguda (doença de Chagas aguda - DCA) que pode ser sintomática ou não, podendo evoluir para as formas crônicas caso não seja tratada precocemente com medicamento específico. O tratamento é baseado em drogas anti-parasitárias, para aniquilar o parasita, e no controle dos sinais e sintomas da infecção. Em casos de intolerância ou que não respondam ao tratamento, especialmente casos agudos e de reativação da doença de Chagas em imunossuprimidos, o indicado é o nifurtimox como alternativa de tratamento. Existem diagnósticos diferentes tanto na fase aguda quanto na fase crônica. A fase aguda é determinada pela presença de parasitos circulantes em exames parasitológicos diretos de sangue periférico (exame a fresco, esfregaço, gota espessa); presença de sintomas por mais de trinta dias são recomendados métodos de concentração devido ao declínio da parasitemia (teste de Strout, micro-hematócrito, QBC); presença de anticorpos IgM anti-*T. cruzi* no sangue indica doença aguda quando associada a fatores clínicos e epidemiológicos compatíveis. Já na fase crônica, o indivíduo apresenta anticorpos IgG anti-*T. cruzi* detectados por testes sorológicos de princípios distintos, a imunofluorescência indireta, a Hemoaglutinação e o ELISA.

Palavras-chave

Doença de Chagas; Diagnóstico; Tratamento

INTRODUÇÃO

A tripanossomíase americana ou doença de Chagas (DC) é uma zoonose do continente americano com forte incidência no Brasil. Essa doença é causada pelo hemoprotozoário *Trypanosoma cruzi*. Esse protozoário e a doença foram descobertos e descritos pelo cientista Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas em 1909, sendo descritos a doença, o agente etiológico, os transmissores e o habitat dos mesmos, como também a sintomatologia da doença.⁽¹⁾

O *Trypanosoma cruzi* é transmitido no ato da alimentação do vetor (insetos das espécies *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* e *Panstrongylus megistus*, dentre mais de trezentas espécies que podem transmitir o *Trypanosoma cruzi*). A doença de Chagas também pode ser transmitida por transfusão de sangue ou na gravidez, da mãe infectada ao feto. Pode ser transmitida por ali-

mentos contaminados com os vetores triturados ou os seus dejetos. Estima-se que existam 12 milhões de pessoas portadoras da doença nas Américas, e cerca de 2 ou 3 milhões no Brasil.⁽²⁾

O diagnóstico da doença de Chagas se dá em sua grande maioria por exames de sangue, sendo que o diagnóstico do agente causador poderá ser identificado por meio de métodos laboratoriais de visualização do parasito direto ou indiretamente, e por presença de anticorpos no soro.

Também podem ser utilizados para a identificação testes específicos como Imunofluorescência Indireta (IFI), Hemaglutinação Indireta (HAI) e enzimas (ELISA). Testes moleculares utilizando reação em cadeia da polimerase (PCR) acoplado à hibridização com sondas moleculares, e o "western blot" (WB) têm apresentado resultados promissores e podem ser utilizados como teste confirmatório em qualquer fase da doença.⁽¹⁾

¹Discente do curso de Farmácia da Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza (Fametro) – Fortaleza-CE, Brasil.

²Graduada em Farmácia pela Universidade Federal do Ceará, com habilitação em Análises Clínicas e Toxicologia e mestre e doutora em Ciências Farmacêuticas. Docente do curso de Farmácia da Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza (Fametro) – Fortaleza-CE, Brasil.

Instituição: Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza (Fametro) – Fortaleza-CE, Brasil.

Recebido em 29/05/2018

Artigo aprovado em 07/11/2018

DOI: 10.21877/2448-3877.201800726

MATERIAL E MÉTODOS

Para o cumprimento desta pesquisa, utilizaram-se guias, as bases de dados SciELO, Lilacs, e como descritor, doença de Chagas, cujos artigos foram publicados entre os anos de 1997 e 2017.

TRATAMENTO

É baseado em drogas antiparasitárias, para aniquilar o parasita, e no controle dos sinais e sintomas da infecção. O tratamento tem como objetivo a supressão da parasitemia, com o intuito de reduzir a velocidade de acometimento do sistema nervoso parassimpático.⁽³⁾ Tabela 1.

Tabela 1 - Tratamento da Doença de Chagas com drogas antiparasitárias

Nifurtimox: Age contra as formas sanguíneas e parcialmente contra as formas teciduais, via oral, comprimido na dose 8 a 12 mg/kg por dia

≤10 anos	15-20 mg/kg por dia por via oral em 3 ou 4 doses divididas durante 90 dias.
11-16 anos	12,5-15 mg/kg por dia por via oral em 3 ou 4 doses divididas durante 90 dias.
≥ 17 anos	8-10 mg/kg por dia por via oral em 3 ou 4 doses divididas durante 90 dias.

Benzonidazol: Possui efeitos apenas contra as formas sanguíneas, via oral na dose 100 mg - Duas doses diárias por 90 dias

Adulto	5 mg/kg/dia
Criança	5-10 mg/kg/dia
Lactentes	10 mg/kg/dia

PREVENÇÃO

Ainda não existe uma vacina para a cura da doença, a melhor maneira de combate à doença é a prevenção e controle, combatendo os vetores com emprego de inseticidas, construção de moradias adequadas, que não sejam propícias para a proliferação dos vetores, e também a eliminação dos animais domésticos infectados.⁽²⁾

DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE CHAGAS

Na fase aguda da doença de Chagas, os tripomastigotas sanguíneos podem ser detectados apenas através de métodos parasitológicos diretos, onde os parasitas são identificados diretamente no exame de sangue do paciente, pela visualização dos tripomastigotas sanguíneos. E também podem ser empregados métodos parasitológicos indiretos, como xenodiagnóstico e hemocultura. Os testes sorológicos são utilizados com frequência no diagnóstico da fase crônica e têm como base a detecção de imunoglobulinas específicas contra o *T. cruzi*.⁽²⁾

PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE CHAGAS

Exames parasitológicos diretos: técnica para diagnóstico da doença na fase aguda. O sangue deve ser colhido para o processamento de todas as metodologias descritas a seguir, com o intuito de agilizar o diagnóstico.⁽²⁾

Pesquisa a fresco de tripanossomatídeos: utilizada como primeira alternativa por ser de fácil execução e simples. A situação ideal é a realização da coleta com paciente febril e dentro de 30 dias do início de sintomas.⁽²⁾

Métodos de concentração: possuem maior sensibilidade, são recomendados principalmente quando a pesquisa a fresco for negativa. Dentre os métodos diretos, são indicados quando o paciente estiver com sintomas há mais de 30 dias.⁽²⁾

Lâmina corada de gota espessa ou esfregaço: possui menor sensibilidade que os outros métodos diretos, é realizado prioritariamente na região da Amazônia Legal, em virtude da sua utilização para diagnóstico da malária, em casos de elevada parasitemia, como na transmissão por transfusão, e em pacientes imunodeprimidos.⁽²⁾

Exames parasitológicos indiretos: Na fase crônica da doença de Chagas, o uso de métodos parasitológicos diretos é pouco confiável, devido principalmente à baixa parasitemia. Assim sendo, é necessária a utilização de métodos indiretos, como o xenodiagnóstico e a hemocultura, para que se identifique ou não a presença dos parasitas.⁽²⁾

Exames sorológicos: para detecção de anticorpos anti-*T. cruzi* da classe IgG são necessárias duas coletas com intervalo mínimo de 21 dias entre uma coleta e outra. Para confirmação é necessária preferencialmente execução pareada, que possibilite comparar os resultados, ou seja, sorologia negativa na primeira amostra e positiva na segunda por qualquer um dos métodos. (Ensaio Imunoenzimático – ELISA, Imunofluorescência Indireta – IFI ou Hemaglutinação Indireta – HAI) ou a variação de pelo menos dois títulos sorológicos, pelo método de IFI.⁽⁴⁾

Detecção de anticorpos anti-*T. cruzi* da classe IgM: técnica complexa, com resultados falso-positivos em várias doenças febris. Para realização, o paciente deve obrigatoriamente apresentar alterações clínicas compatíveis com DCA e história epidemiológica sugestiva. É mais adequado na fase aguda tardia quando repetidos exames de pesquisa direta forem negativos.⁽⁴⁾

Xenodiagnóstico: este método tem o objetivo de investigar a presença de parasitas nas fezes e/ou conteúdo intestinal dos insetos vetores mantidos em laboratórios e alimentados com sangue de indivíduos que serão testados. É comumente utilizado para se verificar a infecção chagásica em humanos e animais. Quatro caixas contendo dez triatomíneos cada, fechada em um de seus lados por uma fina rede, são colocadas sobre a face ventral do antebraço do paciente por cerca de trinta minutos. Antes da realização deste exame é necessário que os triatomíneos sejam mantidos em jejum por um período de duas semanas. Após a alimentação com sangue do paciente, os insetos devem ser mantidos a uma temperatura entre 25°C e 30°C e umidade relativa de aproximadamente 85% na ausência de luz. O exame fecal ou do conteúdo intestinal será feito após 30-60 dias para pacientes em fase crônica e 10-30 dias para pacientes em fase aguda.⁽⁵⁾

Hemocultura: existe uma grande variedade de meios de cultura nos quais o *T. cruzi* pode multiplicar-se abundantemente, tais como os meios difásicos com base de ágar sangue (NNN) e outros. Meios líquidos como o LIT (*liver infusion tryotose*), BHI (*barin heart infusion*) e o meio Waren's são também empregados. Esta técnica, por vários anos, não foi rotineiramente utilizada, pois se tratava de um método de baixa sensibilidade.⁽⁵⁾

Imunofluorescência Indireta: esta reação tem sido amplamente empregada no diagnóstico laboratorial da doença de Chagas. O antígeno é preparado com formas epimastigotas de *T. cruzi*, que são coletadas da cultura em meio LIT na fase exponencial de crescimento, lavados e fixados em solução de formol, paraformado e/ou liofilizado. Os anticorpos do soro de pacientes são colocados sobre uma lâmina contendo antígenos de *T. cruzi*. Os anticorpos anti-*T. cruzi* são revelados com o uso de anticorpos anti-imunoglobulina (Ig) humana conjugados a fluoresceína e observados ao microscópio de fluorescência. O uso deste método se deve principalmente por suas vantagens: relativa facilidade de se obterem reações padronizadas, alta sensibilidade, regularidade dos resultados e a possibilidade de processamento simultâneo de um grande número de amostras.⁽¹⁾

Hemaglutinação: consiste numa reação muito simples, mais rápida e sensível que o teste de fixação de complemento, na detecção de anticorpos anti-*T. cruzi* no soro de indivíduos infectados. Baseia-se na aglutinação de hemácias de carneiro, recobertas com antígenos citoplasmáticos de *T. cruzi* em presença de soro que contenha anticorpos para este parasita. Havendo anticorpos anti-antígenos de *T. cruzi*, os mesmos formarão ligações entre as hemácias, interagindo com os antígenos na sua superfí-

cie. Assim, visualmente ocorrerá a formação de um manto nas placas de microtitulação. Em virtude do baixo custo, nitidez dos resultados e simplicidade de execução tem sido amplamente utilizada em situações de rotina.⁽¹⁾

ELISA: esta técnica consiste em detectar anticorpos contra o parasita através da utilização de um segundo anticorpo (anti-imunoglobulina humana produzido em animais de laboratório), conjugados a enzimas, que, em presença de substratos específicos, geram produtos coloridos, cuja quantificação é feita espectrofotometricamente. Este método oferece alta sensibilidade, utilização de baixas quantidades de soro, processamento simultâneo de várias amostras e, finalmente, fácil uso em trabalhos realizados em campo.⁽¹⁾

Reação em Cadeia da Polimerase ou PCR: este método de diagnóstico baseia-se no emprego de oligonucleotídeos sintéticos que amplificam sequências de DNA específicas do patógeno-alvo.⁽¹⁾ No entanto, os testes ainda não foram disponibilizados comercialmente e não são usados além do ambiente de pesquisa. Além do custo, pode ser citada a necessidade de sua execução em laboratórios com elevada tecnologia e com espaço exclusivo para a sua realização como o principal fator limitante no que se refere ao emprego do teste de PCR em situação ambulatorial ou hospitalar, ou mesmo na rotina dos bancos de sangue,⁽¹⁾ apesar de ser uma técnica muito importante para o diagnóstico da doença de Chagas.⁽¹⁾

Western Blot: nesta técnica, o antígeno de *T. cruzi* é submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida, para resolução das proteínas segundo o critério de massa molecular. Após transferência do material fracionado em gel para membranas de nitrocelulose, segue-se como no procedimento da reação antígeno anticorpo semelhante ao método de ELISA. Os soros são colocados sobre as fitas de nitrocelulose e, no caso de uma reação positiva, haverá o aparecimento de bandas características.⁽¹⁾

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por se tratar de uma doença com variadas formas de transmissão (vetorial, transfusional, congênita, acidentes laboratoriais, transmissão oral dentre outras formas de transmissão), o local com a presença do hospedeiro intermediário ainda se demonstra a principal fonte de infecção pelo *Trypanosoma cruzi* no Brasil.⁽²⁾

Muitos são os métodos de diagnóstico da doença de Chagas, sejam eles diretos ou indiretos, na fase aguda ou crônica, assim facilitando o diagnóstico e um possível tratamento da doença de uma forma efetiva. Os métodos vêm melhorando ao longo dos anos e se tornando mais precisos

em seus resultados. Um dos problemas relacionados a eles é o custo-benefício, onde os métodos mais precisos são mais caros, e, assim, os métodos tradicionais de diagnósticos são mais comumente utilizados por serem mais acessíveis.⁽²⁾

Abstract

Chagas disease (or American Trypanosomiasis) is the infection caused by the protozoan Trypanosoma cruzi. It presents an acute phase (acute Chagas' disease - DCA) that can be symptomatic or not, being able to evolve to the chronic forms if it is not treated early with specific medicine. The treatment is based on antiparasitic drugs, to kill the parasite, and in the control of signs and symptoms of infection in cases of intolerance or that do not respond to treatment, especially acute cases and reactivation of Chagas' disease in immunosuppressed patients, indicated is the nifurtimox as an alternative treatment. There are different diagnoses in both acute and chronic phase. Acute phase is determined by the presence of circulating parasites in direct parasitological examinations of peripheral blood (fresh examination, smear, thick drop); presence of symptoms for more than 30 days, concentration methods are recommended due to the decline of parasitemia (Strout test, microhematocrit, QBC); presence of anti-T IgM antibodies. cruzi in the blood indicates acute disease when associated with clinical and epidemiological factors compatible. Already in the chronic phase the individual presenting anti-T IgG antibodies T. cruzi strains detected by two serological tests of different principles, with Indirect Immunofluorescence, Hemoagglutination and ELISA.

Keywords

Chagas disease; Diagnosis; Treatment

REFERÊNCIAS

1. Gomes YM. Laboratório de imunoparasitologia, Departamento de Imunologia. Fiocruz, 2017.
2. Aspectos Gerais da Epidemiologia da Doença de Chagas, com especial atenção ao Brasil. Epidemiologia serv.saude, Brasília, 25 (núm.esp.):7-86, 2017. <http://www.scielo.br/pdf/ress/v25nspe/2237-9622-ress-25-esp-00007>.
3. Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1997. 486 p. ISBN.
4. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância epidemiológica. Nov/18/2013.
5. Chiari E, Galvão LMC. Diagnóstico parasitológico da doença de Chagas. Editora. Fiocruz, 1997.

Correspondência

Daniela Ferreira Alves

Fametro - Faculdade Metropolitana da Grande Fortaleza
Rua Conselheiro Estelita, 500 - Centro
60010-260 – Fortaleza- CE, Brasil