

CIELO CARLOS CHAGAS

DE PALESTRAS

2ª EDIÇÃO

Livro de resumos

10 e 11
2014 ABRIL



Apoio

CNPq

Realização

IOC

Instituto Oswaldo Cruz



Ministério da Saúde
INCC/MS
Fundação de Amparo à Pesquisa

Resumo 082

Tema – Parasito

Avaliação da carga parasitária e tipagem molecular de de *T. cruzi* em amostras sanguíneas de pacientes portadores da Doença de Chagas crônica atendidos pelo ambulatório do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC – FIOCRUZ/ RJ)

Ícaro Rodrigues¹, Myllena Melo¹, Pedro Brasil², Alejandro Hasslocher², Constança Britto¹, Otacílio Moreira¹

¹Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas (LABIMDOE), Instituto Oswaldo Cruz/RJ; ²Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) – FIOCRUZ/RJ

A doença de Chagas constitui um grande problema de saúde pública em diversos países da América Latina. Atualmente, estima-se que 7 a 8 milhões de pessoas estejam infectadas e 75 a 90 milhões estejam expostas à doença (WHO, 2013, Coura & Dias, 2009). O *Trypanosoma cruzi*, seu agente etiológico, é representado por um conjunto de populações, denominados isolados ou cepas, que circulam em hospedeiros mamíferos e insetos vetores, apresentando grande heterogeneidade de comportamento biológico como, por exemplo, diferentes níveis de virulência para animais experimentais e humanos, além de variações na sensibilidade a drogas e prognóstico da doença (Campbell et al., 2004). Assim, um grande desafio para a comunidade científica vem sendo identificar marcadores genéticos dos isolados capazes de reuni-los em grupos discretos, visando sua caracterização do ponto de vista epidemiológico e de patogenia. Neste trabalho, utilizamos metodologias baseadas em PCR convencional e PCR em Tempo Real (qPCR) no esforço de realizar a quantificação da carga parasitária e tipagem molecular do parasito diretamente de amostras sanguíneas de pacientes portadores da doença de Chagas crônica. Para isso, foram selecionados 144 pacientes do ambulatório do Instituto de Pesquisa Evandro Chagas, sendo 72 com sorologia positiva e 72 com sorologia negativa, provenientes de diferentes regiões do Brasil e apresentando distintas manifestações clínicas da doença. Para cada paciente, foram coletadas duas amostras, em tempos distintos, antes do início do tratamento. Para o procedimento de extração de DNA das amostras de sangue preservadas em Guanidina-EDTA foi utilizado QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen), seguida da quantificação da carga parasitária por qPCR de acordo com a metodologia padronizada por Moreira et al., 2013, onde foi realizada uma reação em multiplex, com um alvo para o DNA nuclear satélite de *T. cruzi* e um alvo para o gene da RNase P humana, como um controle interno. Até o momento, a PCR em Tempo Real foi realizada para 278 amostras, sendo 89 positivas para *T. cruzi*, apresentando uma variação da carga parasitária de $0,005 \pm 0,003$ a $336,09 \pm 48,59$ equivalentes de parasito/mL. Em paralelo, estamos realizando a padronização da genotipagem do parasito a partir das amostras de sangue, baseado nas metodologias descritas por Burgos e Cols. (2010) e Ramirez e Cols. (2010), para investigar a importância do genótipo do parasito no desenvolvimento da doença de Chagas.