

CICLO CARLOS CHAGAS

DE PALESTRAS

3ª EDIÇÃO

LIVRO DE RESUMOS

Apoio



Realização



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Parasito (diversidade genética, molecular, biológica e morfológica)

Resumo 035

Padronização e validação da genotipagem de *Trypanosoma cruzi* em amostras de pacientes portadores da Doença de Chagas crônica no Brasil . associação com a carga parasitária

Ícaro Rodrigues-Santos¹, Myllena Melo¹, Pedro Brasil², Alejandro Hasslocher²,
Constança Britto¹, Otacílio Moreira¹

¹Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas (LABIMDOE), Instituto
Oswaldo Cruz/RJ

²Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) ó FIOCRUZ/RJ

A doença de Chagas é um importante problema de saúde pública em muitos países latino-americanos. Atualmente, estima-se que a 7-8 milhões de pessoas estão infectadas e 75-90 milhões estejam expostos à doença. *Trypanosoma cruzi*, o agente etiológico da doença, é representado por um conjunto de cepas ou isolados que circulam em hospedeiros mamíferos e insetos vetores, com grande heterogeneidade de comportamento biológico e diferentes níveis de virulência em humanos e em modelos animais, além de diferentes níveis de sensibilidade às drogas e prognóstico da doença. Assim, um grande desafio atual seria identificar marcadores genéticos de *T. cruzi* capazes de dividir os isolados em grupos distintos e associá-los à patogênese da doença de Chagas. Neste trabalho, que é um estudo cego, foram selecionados 144 pacientes do Instituto Nacional de Doenças Infecciosas Evandro Chagas, 72 com sorologia positiva e 72 com sorologia negativa, de diferentes regiões do Brasil e apresentando manifestações clínicas distintas da doença. Para cada paciente, duas amostras de sangue foram coletadas antes do início do tratamento. Para estimar a parasitemia, o DNA foi extraído de amostras de sangue, utilizando o QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen). A carga parasitária foi estimada pelo ensaio qPCR TaqMan. Resumidamente, este ensaio multiplex compreende um alvo de DNA satélite nuclear de *T. cruzi* e um alvo do gene da RNase P humana, como um controle interno. A qPCR foi realizada para as 288 amostras, as quais 92 foram positivas para *T. cruzi*. A carga parasitária apresentou uma variação de 0,005±0,003 a 336,09±48,59 equivalentes de parasito/mL (p. eq./ mL), com um valor mediano de 2,030 p. eq./mL. Em paralelo, padronizamos a tipagem molecular de *T. cruzi* diretamente a partir de amostras sanguíneas de pacientes, com base nas metodologias de PCR multilocus descritas por Burgos *et al.* (2010) e Ramirez *et al.* (2010). Até o momento, nossos resultados indicam que cerca de 56% das amostras genotipadas foram TcII ou TcVI. Ao final do trabalho, ao se abrir o resultados do estudo, pretendemos investigar as possíveis correlações entre a carga parasitária, genótipo do parasito e progressão da doença de Chagas.

Financiadores: CAPES, FAPERJ, CNPq e IOC-Fiocruz