UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JÚLIA IRACEMA MOURA PACHECO

MONITORAMENTO EPIDEMIOLÓGICO DE ANTICORPOS ANTI-*TRYPANOSOMA CRUZI* EM ÁREA LITORÂNEA E ILHAS DO ESTADO DO PARANÁ

CURITIBA

2025

JÚLIA IRACEMA MOURA PACHECO

MONITORAMENTO EPIDEMIOLÓGICO DE ANTICORPOS ANTI-*TRYPANOSOMA CRUZI* EM ÁREA LITORÂNEA E ILHAS DO ESTADO DO PARANÁ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de concentração em Saúde Única, Setor de Ciências Agrárias Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Ivan Roque de Barros Filho

CURITIBA

2025

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Pacheco, Júlia Iracema Moura
Monitoramento epidemiológico de anticorpos anti-*Triypanosoma cruzi* em área litorânea e ilhas do estado do Paraná / Júlia Iracema Moura Pacheco. – Curitiba, 2025.
1 recurso online: PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Orientador: Prof. Dr. Ivan Roque de Barros Filho

1. Cães - Doenças. 2. Chagas, Doença de. 3. Zoonoses. 4. Epidemiologia veterinária. I. Barros Filho, Ivan Roque de. II. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

Bibliotecária: Elizabeth de Almeida Licke da Luz CRB-9/1434

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS VETERINÁRIAS - 40001016023P3

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS VETERINÁRIAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **JULIA IRACEMA MOURA PACHECO**, intitulada: **MONITORAMENTO EPIDEMIOLÓGICO DE ANTICORPOS ANTI-TRYPANOSOMA CRUZI EM ÁREA LITORÂNEA E ILHAS DO ESTADO DO PARANÁ**, sob orientação do Prof. Dr. IVAN ROQUE DE BARROS FILHO, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.
A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 19 de Fevereiro de 2025.

Assinatura Eletrônica
24/02/2025 10:07:41.0
IVAN ROQUE DE BARROS FILHO
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
20/02/2025 15:36:41.0
VIVIEN MIDORI MORIKAWA
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - SAUDE COLETIVA)

Assinatura Eletrônica
20/02/2025 10:00:45.0
JOÃO HENRIQUE PEROTTA
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.
Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 423338
Para autenticar este documento/assinatura, acesse https://siga.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp e insira o codigo 423338

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela saúde, pela família e pelas pessoas que colocou no meu caminho.

Agradeço meus pais, Márcia e Ronaldo, pelo apoio financeiro e emocional durante esta fase. Obrigada por incentivarem cada passo e cada sonho que manifesto. Vocês dois formam uma dupla de melhores amigos que todo mundo deveria ter.

Agradeço ao meu orientador, professor Ivan, que mesmo não me conhecendo desde a graduação acreditou no meu potencial e me fez ser filha da UFPR. Obrigada por mostrar o caminho das pedras e me lembrar que sou dona do meu destino.

Agradeço aos amigos que fizeram a caminhada da pós graduação ser leve e divertida.

Agradeço a minha irmã, Jéssica, que mesmo não morando perto fisicamente foi um pilar muito importante para mim.

Agradeço ao professor Biondo e a equipe do Barco Saúde Única pela oportunidade. Espero que esse projeto cresça cada vez mais.

Agradeço a todos os voluntários, pessoas e cães, que contribuíram para a pesquisa.

E por último agradeço a Júlia de dois anos atrás que teve o objetivo de entrar na Universidade Federal do Paraná. Obrigada por acreditar.

''Quando o homem aprender a respeitar até o menor ser da criação, seja animal ou vegetal, ninguém precisará ensiná-lo a amar seu semelhante.''

- Albert Schweitzer

RESUMO

A Doença de Chagas é uma das doenças tropicais negligenciadas mais importantes do continente americano e afeta em torno de 6 milhões de pessoas na América Latina. Causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, continua a ter impacto significativo especialmente em áreas rurais e em comunidades que enfrentam dificuldades no acesso a serviços de saúde, em regiões com infraestrutura precária e populações vulneráveis, agravando desigualdades sociais. Uma vez que a doença pode ocorrer devido à interação entre populações humanas, vetores e reservatórios silvestres, a seguinte pesquisa estudou a população de seres humanos e seus cães residentes de duas áreas litorâneas (Guaraqueçaba e Pontal do Paraná) e três ilhas do estado do Paraná (Ilha do Mel, Ilha das Peças e Ilha do Superagui). Foram coletados soro sanguíneo e sangue total dos moradores voluntários e de um cão de cada morador para análise de anticorpos para monitorar possíveis casos positivos da doença em regiões do litoral paranaense. A soroprevalência de anticorpos IgG anti- *Trypanosoma cruzi* de animais e seres humanos moradores foi realizada pelas técnicas de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e ELISA, respectivamente. A soropositividade anti- *T. cruzi* foi observada em 2/304 dos seres humanos e 1/292 dos cães respectivamente. Após teste sorológico, as amostras positivas foram submetidas a técnica molecular de qPCR para confirmação dos 3/596 positivos. Concluiu-se que mesmo não havendo semelhanças entre os casos positivos, há a necessidade de mais investigação devido somente um cão de cada morador ter sido investigado podendo haver mais animais infectados assim como animais silvestres. A detecção de 3 casos positivos destaca a necessidade de medidas preventivas, maior atenção por parte do sistema de saúde e mais pesquisas no litoral e ilhas do estado.

Palavras chaves: cão, chagas, zoonose

ABSTRACT

The Chagas disease is one of the most important neglected tropical diseases in the American continent, affecting around 6 million people in Latin America. Caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, it continues to have a significant impact, especially in rural areas and communities with limited access to healthcare, poor infrastructure, and vulnerable populations, further exacerbating social inequalities. Since diseases can occur due to interactions between human populations, vectors, and wild reservoirs, this study investigated the human population and their dogs living in two coastal areas (Guaraqueçaba and Pontal do Paraná) and three islands in the state of Paraná (Honey Island, Peças Island and Superagui Island). Blood serum were collected from volunteer residents and one dog per resident to analyze antibodies and monitor possible positive cases of the disease in coastal regions of Paraná. The seroprevalence of IgG antibodies against *Trypanosoma cruzi* in humans and animals was assessed using ELISA and indirect immunofluorescence assay (IFA) techniques. Seropositivity for *T. cruzi* was observed in 2/304 of humans and 1/292 dog. Following serological testing, the positive samples were subjected to qPCR molecular analysis to confirm the 3 out of 596 positive cases. It was concluded that, although no clear similitaries were found among the positive cases, further investigation is necessary, as only one dog per resident was tested, and there may be more infected animals, including wildlife. The detection of three positive cases highlights the need for preventive measures, greater attention from the healthcare system, and further research in the coastal and island regions of the state.

Key words: dog, chagas, zoonosis

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – As cinco regiões do estado do Paraná onde foram coletadas as amostras: Pontal do Paraná, Guaraqueçaba, Ilha das Peças, Ilha do Mel e Ilha do Superagui.
Figura 2 – Modelo esquemático da placa de ELISA do Kit comercial Chagatest indicando a posição dos Controles Negativos (CN), Controles Positivos (CP) e amostras (A).
Figura 3 – Ciclo do kit IBMP Biomol Chagas 2022 de qPCR conforme bula.
Figura 4 – Resultado das 35 amostras de humanos retestadas pelo teste ELISA. Controles negativos (A1, B1 e C1) e controles positivos (D1 e E1). Amostras positivas B3 (amostra de Pontal do Paraná) e A5 (amostra de Guaraqueçaba).
Figura 5 – Resultados das amplificações de DNA de *T.cruzi* presentes nas amostras 1 a 5, processadas pela técnica de qPCR, pelo software Quantstudio Design&Analysis Software 2.7.0.

LISTA DE ABREVIATURAS

DC – Doença de Chagas

DCC – Doença de Chagas Crônica

ECG – eletrocardiograma

ELISA – *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (teste sorológico imunoenzimático)

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

qPCR- Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real

RIFI – Reação de Imunofluorescência Indireta (IFAT – *Indirect fluorescente antibody test*)

rpm – rotações por minuto

LISTA DE SÍMBOLOS

% - porcentagem

ºC – graus Celsius

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO **12**
1.1 OBJETIVOS 13
1.1.1 Geral 13
1.1.2. Específicos 13
1.1.3. Hipótese 13
1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 13
1.2.1. Etiologia 14
1.2.1.1. Ciclo Biológico 15
1.2.2 Epidemiologia 16
1.2.2.1 Estado do Paraná 18
1.2.2.2. Cães 19
1.6.3. Fisiopatologia 21
1.6.4. Diagnóstico 23
1.6.5. Tratamento 24
1.6.6. Prevenção 25
REFERÊNCIAS 29
2 SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*TRYPANOSOMA CRUZI* EM ILHAS E LITORAL DO ESTADO DO PARANÁ **34**
2.1 INTRODUÇÃO 35
2.2 MATERIAL E MÉTODOS 36
2.2.5.1. ELISA 38
2.2.5.2 RIFI 40
2.2.5.3. Extração de DNA e ensaio de *Real Time* PCR 41
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 42
2.4 CONCLUSÃO 47
REFERÊNCIAS 48
ANEXOS 51

INTRODUÇÃO

A Doença de Chagas (DC), conhecida como tripanossomíase americana, é descrita como uma antropozoonose de distribuicão mundial e estima-se que 6 a 8 milhões de pessoas são portadoras da doença na América Latina (WHO, 2020). Seu agente etiológico é o *Trypanosoma cruzi*, protozoário flagelado da família Tripanosomatidae e seu vetor é um triatomíneo hematófago (Chagas, 1909). Conhecida por ser uma doença silenciosa, possui um estado de latência após a fase aguda que não apresenta sinais clínicos, dificultando assim, seu diagnóstico. Os humanos e os animais podem albergar o protozoário no sangue e ou tecidos por toda a vida caso não tratem na fase aguda tornando-se reservatórios da doença (Lidani et al., 2020).

Presente na lista de Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN) da Organização Mundial da Saúde, a DC afeta a população de países subdesenvolvidos e de comunidades mais pobres do mundo, onde falta saneamento básico, segurança da água potável, assistência governamental e cuidados básicos de saúde. Estudo feito por Rocha et al. (2023) mostrou que a maior mortalidade de DTNs no país é predominantemente pela doença de Chagas, sendo na maior parte dos casos em homens idosos.

A vigilância epidemiológica da doença de Chagas em áreas endêmicas é feita por vigilância entomológica com levantamento de dados e monitoramento dos casos (BRASIL, 2010). No estado do Paraná, não foram encontrados casos agudos da doença, porém, há a presença de espécies do barbeiro como: *Panstrongylus megistus*, *Triatoma tibiamaculata*, *Panstrongylus geniculatus* e *Rhodnius neglectus* (FIOCRUZ, 2015; Secretaria da Saúde do Paraná, 2024).

Estudo de Delai e colaboradores (2021) sobre impacto de ações antrópicas nas zoonoses concluiu que um ambiente propício aliado a variabilidade de patógenos compartilhados entre seres humanos e animais pode exacerbar a transmissão de doenças e torná-la endêmica em um local. No caso das ilhas, onde a proximidade com a mata é maior, o espaço é isolado e não há assistência médica com facilidade, o local torna-se de necessária atenção por parte da vigilância epidemiológica.

O objetivo desta pesquisa foi investigar a epidemiologia da Doença de Chagas fora de áreas endêmicas, buscando compreender melhor se há pessoas e/ou cães infectados pelo *Trypanosoma cruzi* em áreas litorâneas e ilhas do estado do Paraná. Por meio dessa investigação, espera-se contribuir para o avanço do conhecimento científico sobre a doença e auxiliar na criação de estratégias mais eficazes de controle e tratamento, com o intuito de reduzir a prevalência e os impactos da doença.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Geral

Monitoramento e avaliação do perfil soroepidemiológico de seres humanos e cães das ilhas e municípios litorâneos do estado do Paraná para Doença de Chagas.

1.1.2. Específicos

Testar a população residente de cães e seres humanos das ilhas e litoral continental do estado do Paraná por meio de ensaios sorológicos e moleculares para avaliar a presença de casos positivos da Doença de Chagas.

1.1.3. Hipótese

1.1.3.1. A doença ocorre em animais e seres humanos no litoral do estado do Paraná.

1.1.3.2. Os anticorpos anti-*T.cruzi* detectados nas amostras dos seres humanos serão encontrados também em seus respectivos cães.

1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A Doença de Chagas é uma antropozoonose causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e foi descoberta no Brasil pelo médico pesquisador do antigo Instituto Manguinhos, Carlos Chagas, no município de Lassance – Minas Gerais (Chagas, 1909). Primariamente Carlos Chagas foi enviado por seu mentor Oswaldo Cruz para erradicar um surto de Malária que acometia os trabalhadores da estrada de Ferro central do Brasil. Quando chegou ao munícipio de Lassance, Chagas encontrou uma população carente de assistência médica, saneamento básico, precárias condições de moradia e um inseto hematófago presente em grande quantidade nas moradias das pessoas e que tinha o hábito de se alimentar a noite. Posteriormente, sua descoberta tornou Chagas o primeiro pesquisador a descrever o ciclo completo de uma doença, desde seu agente etiológico, vetor, reservatório animal e sinais clínicos nos seres humanos (FIOCRUZ, 2017).

Apesar de descoberta em 1909, a existência do DNA do *Trypanosoma cruzi* foi detectada em 41% de 283 múmias de populações antigas de 9.000 anos do Chile e sul do Peru a partir de técnica de PCR sem prevalência de idade, sexo ou grupo cultural. No Brasil, foi detectado também por PCR fragmentos de DNA em restos humanos datados de 7.000 anos, indicando que a infecção e os surtos da doença já estavam presentes nas populações (Aufderheide et al., 2004; Lima et al., 2008).

Transmitida principalmente pelos insetos hematófagos conhecidos como barbeiros, pode ser assintomática em sua fase aguda e, se não tratada, pode evoluir para a forma crônica indeterminada, cardíaca ou digestiva (FIOCRUZ, 2017). É uma infecção parasitária endêmica na América Latina e já registrada em outros continentes (Schmunis et al., 2010).

1.2.1. Etiologia

A DC, também chamada de tripanossomíase americana, é uma doença infecciosa parasitária que tem como agente etiológico o protozoário *Trypanosoma cruzi* e como vetor o inseto triatomíneo hematófago conhecido popularmente como bicho-barbeiro, barbeiro, chupança, bicho-de-parede, fincão, piolho-de-piaçava, quiche-do-sertão, percevejo-francês, procotó e no inglês *kissing bug* (Chagas, 1909).

O protozoário *T.cruzi* pertence a ordem *Kinetoplastida*, família Trypanosomatidae, gênero *Trypanosoma* e subgênero *Schizotrypanum*. O gênero *Trypanosoma* é dividido em dois grupos: Stercoraria, tripanosomas que se desenvolvem no tubo digestivo do vetor e são liberados nas fezes (como o *T. cruzi* e o *T.lewisi*); e Salivaria, tripanosomas que se desenvolvem no tubo digestivo e atingem as glândulas salivares onde são liberados (como o *T. dionisii*, *T. vespertilionis*, *T. myoti*, *T. erneyi* e *T. herthameyeri*) (FIOCRUZ, 2017).

O *T.cruzi* possui três formas de apresentação principais: tripomastigota metacíclico, epimastigota e amastigota (forma aflagelada). Tripomastigota é sua forma infectante, circulante na corrente sanguínea, grande mobilidade devido a membrana ondulante para locomoção, corpo achatado e extremidades pontiagudas. Nesta forma o protozoário não se multiplica. Ele penetra nas mucosas, percorre a corrente sanguínea até adentrar em macrófago e se transformar em amastigota (FIOCRUZ, 2017).

Amastigota é sua forma de multiplicação por divisão binária intracelular nos hospedeiros vertebrados, com formato arredondado ou ovalado, não possui mobilidade e é encontrada em tecidos e dentro das células. Esta forma não possui flagelo, se multiplica em diferentes tipos de células formando um ninho parasitário e tem preferência por células de origem mesenquimal (Pérez-Molina, J. A., & Molina, I., 2018).

Epimastigota é sua forma de multiplicação dentro da parte posterior do intestino médio do hospedeiro invertebrado. É uma forma extracelular de média mobilidade e não está presente no hospedeiro vertebrado (Monteiro et al., 2011). O protozoário não se multiplica na sua forma tripomastigota circulante, somente quando entra na célula hospedeira e se transforma na forma amastigota e ocorre a multiplicação por divisão binária (BRASIL, 2019).

Devido a diferentes apresentações genéticas, epidemiológicas e biológicas do agente causador da doença, o *Trypanosoma cruzi*, foi observado e proposto inicialmente por Tibayrenc e colaboradores (1998) nomear e agrupar as cepas do protozoário. Em 2009 a padronização da nomenclatura foi amplamente reconhecida e seis Unidades Discretas de Tipagem ou DTUs (*discrete typing unit*) foram nomeadas de TcI, TcII, TcIII, TcIV, TcV e TcVI e uma sétima de Tcbat (Zingales et al., 2009; Marcilis et al., 2009).

As DTUs representam diferentes linhagens do parasita e facilitam a comunicação entre pesquisadores do mundo todo. A TcI está amplamente distribuída na Amazônia e em outras regiões predominando em ciclos silvestres, enquanto a TcII está mais associada à transmissão doméstica, principalmente em áreas do sudeste do Brasil. Já as DTUs TcIII e TcIV são comumente encontradas em ciclos silvestres e TcV e TcVI possuem origem híbrida relacionadas à transmissão humana em algumas regiões do Brasil e América Latina (Zingales, et al., 2009). E na Colômbia, foi relatado o primeiro caso da Tcbat em humanos (Ramirez et al. 2014).

O inseto triatomíneo pertence ao filo Arthropoda, classe Insecta, ordem *Hemiptera* (insetos conhecidos como percevejos por conta da estrutura das asas), família Reduviidae (barbeiros) e subfamília Triatominae (Lent & Wygodzinsky, 1979; Schofield et al., 2009).

A subfamília Triatominae se devide em 5 tribos que incluem 18 gêneros e 154 espécies (Belintani et al, 2020). Há em torno de 100 espécies de triatomíneos presentes no continente americano e 68 espécies no Brasil, mas as principais, que propagam a doença são *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* e *Panstrongylus megistus* por conta das suas características comportamentais (Ferreira et al., 2023; WHO, 2023). Os insetos barbeiros possuem hábitos noturnos e permanecem durante o dia nas frestas das casas e ninhos no ambiente como casas de pau-a-pique. Evoluem de ovo para ninfa, e de ninfa para adulto e em todas as suas fases necessitam de sangue para sua evolução (Monteiro et al., 2011).

1.2.1.1. Ciclo Biológico

A doença de Chagas pode acometer os seres humanos, cães, gatos, animais silvestres e mamíferos em geral e sua transmissão pode ocorrer de maneira vetorial (fezes do barbeiro contendo o protozoário em contato com mucosas ou feridas), oral (ingestão do protozoário ou de fezes do protozoário presente em alimentos como açaí e caldo de cana de açúcar), congênita, por transplante de órgãos e por transfusão sanguínea (BRASIL, 2019; FIOCRUZ, 2017). Pérez-Molina e Molina (2018) relataram que a infecção por transplante de órgãos de

um paciente infectado demonstrou ser mais baixa quando renal (0-19%) do que hepática (0-29%) ou cardíaca (75-100%).

Durante o repasto sanguíneo em um animal ou ser humano infectado com a doença e com parasitemia, o inseto triatomíneo (barbeiro) ingere o protozoário *T.cruzi* em sua forma tripomastigotas e é infectado. As formas tripomastigotas se diferenciam em epimastigotas por divisão binária no interior do intestino médio do inseto e posteriormente se diferenciam em tripomastigotas metacíclicos. Quando for se alimentar do sangue de outro animal ou ser humano, o inseto elimina fezes contendo tripomastigotas metacíclicos (Dvorak & Hyde, 1973). O prurido provocado pela picada faz o animal coçar a região espalhando as fezes do inseto pela pele e permitindo a entrada dos tripomastigotas metacíclicos pelo orifício do repasto sanguíneo. O parasito adentra o orifício até chegar na corrente sanguínea provocando inchaço e prurido local (Lent & Wygodzinsky, 1979).

Uma vez dentro na corrente sanguínea, a forma tripomastigota do parasito invade as primeiras células disponíveis, incluindo macrófagos e células epiteliais, se transformam em amastigotas e se multiplicam por divisão binária. Após replicação dentro da célula, ocorre apoptose celular e são liberados parasitos na corrente sanguínea novamente na sua forma de tripomastigotas para infectar outras células e repetir o ciclo (FIOCRUZ, 2017).

A partir de 60 dias do parasito dentro do organismo, há baixa da parasitemia e inicia-se a fase crônica da doença. Dos pacientes chagásicos crônicos, 30% desenvolvem complicações graves incluindo cardiomiopatia chagásica e problemas digestivos como megaesôfago e 70% permanecem assintomáticos (Ramos et al., 2024; Nasuhidehnavi & McCall, 2023). Os sintomas nesta fase podem incluir odinofagia, disfagia e insuficiência cardíaca (Neto et al.,2024).

Entender essas fases é crucial para o diagnóstico e tratamento precoces, especialmente em regiões endêmicas onde a doença é prevalente (Ramos et al., 2024). Apesar da sintomatologia clara, alguns indivíduos podem permanecer assintomáticos ao longo da vida, complicando o diagnóstico e as estratégias de tratamento da doença (Nasuhidehnavi & McCall, 2023).

1.2.2 Epidemiologia

A DC teve seu primeiro relato no ano de 1909, no município de Lassance-MG, e após mais de 100 anos continua causando problemas à população (FIOCRUZ, 2023; Chagas, 1909). Historicamente foi relatada como uma doença presente em áreas rurais, atingindo pessoas em condições socioeconômicas precárias, mas seu perfil mudou devido a constante

transformação da interação de animais e seres humanos com alterações climáticas, migração de animais e pessoas, desmatamento e urbanização (Cutler et al., 2010).

Estima-se que há 6 a 8 milhões de pessoas com a doença no continente americano e 3,7 milhões de pessoas somente no Brasil portando a doença na sua forma crônica (Laporta et. al, 2024). É uma doença endêmica em 21 países da América, mas devido a mobilidade populacional, sua ocorrência ultrapassa as fronteiras e já foi relatada em países europeus e países do Pacífico Ocidental (WHO, 2023). Estima-se que cerca de 3,5 milhões de imigrantes latino-americanos estejam infectados na Europa ocasionando uma preocupação crescente de conscientização da saúde pública (Antinori et. al., 2017). Devido as barreiras ao diagnóstico em áreas não endêmicas como Espanha, Itália, Reino Unido, França e Suíça, onde há alta concentração de latino-americanos as vias de transmissão congênita, transfusão de sangue e transplante de órgãos persistem (Souza et al, 2022).

Está presente na lista de Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) da Organização Mundial da Saúde (OMS) e é a principal causa de cardiomiopatias no continente americano levando a morte cerca de 12.000 pessoas por ano (WHO, 2023; Traina et al., 2017). Pessoas infectadas, tanto assintomáticas quanto sintomáticas, possuem uma taxa de mortalidade anual significativamente maior em comparação à pessoas não infectadas, com uma razão de risco (RR) global de 1,74 (Cucunubá et al.,2016).

Em uma análise feita por Rocha et al. (2023) com dados do Departamento de Informática do Sistema Nacional de Saúde (DATASUS) no intervalo do ano 2000 até 2019 no Brasil, dos 126.533 óbitos por doenças tropicais negligenciadas ocorridos na país, 94.788 óbitos foram causados pela Doença de Chagas. Deste total, 47.285 ocorreram na região sudeste, 21.385 na região centro-oeste, 19.505 na região nordeste, 5.017 na região sul e 1.596 na região norte, com a predominância de homens, pardos e pretos, idosos e com baixa escolaridade.

A doença de Chagas (DC) apresenta variações significativas de incidência por idade em diferentes regiões. Na América Latina, os idosos são particularmente afetados devido à exposição prolongada a vetores e à natureza crônica da doença (Gómez-Ochoa et al., 2022). Na Argentina, em contrapartida, a prevalência por classe etária indica que indivíduos mais jovens, particularmente aqueles com menos de 11 anos, têm uma prevalência de 21,5%, destacando os riscos de transmissão congênita (Rabinovich et al, 2013).

A transmissão congênita/vertical necessita atenção e prevenção pois a doença acomete cerca de 500 mil mulheres em idade fértil no Brasil (Laporta et al, 2024). Na Bolívia, um estudo encontrou uma prevalência geral de 51,2%, com um aumento notável em mulheres em

idade reprodutiva de até 63,9%, indicando um alto risco de transmissão congênita (Chippaux et al., 2008). Essas descobertas ressaltam a necessidade de intervenções direcionadas com base na idade e na epidemiologia regional para combater efetivamente a doença.

O Pará é o estado do Brasil em que há maior número de pessoas acometidas pela doença. A análise epidemiológica mostrou que a maioria dos casos ocorre em homens envolvidos na colheita do açaí sugerindo uma associação ocupacional (Leitão et al., 2024). Barbosa e colaboradores (2018) mostraram que a polpa de açaí com *T. cruzi,* oriunda de diferentes locais do estado do Pará mantiveram a capacidade de infecção da doença concluindo que a transmissão por via oral é uma realidade, principalmente da parte norte do país, onde o consumo de açaí é maior.

Malavazi e colaboradores (2020), no estado do Acre, conduziram um estudo em três municípios do estado, onde dois destes houve casos de surto de infecção humana por *T.cruzi* na forma oral (consumo de açaí). Capturaram triatomíneos peri e intra domicílio nas regiões com diferentes densidades populacionais e de 29 insetos analisados, quatro (11,6%) possuíam o *T.cruzi* no interior do intestino. Dos 86 cães moradores que foram examinados, seis cães apresentaram exame de esfregaço sanguíneo positivo para *T.cruzi*.

Além dos seres humanos, animais de diferentes espécies também são infectados pela doença. Mamíferos silvestres analisados em estudo, oriundos de cinco biomas brasileiros incluindo Mata Atlântica, resultaram em mil espécies soropositivas para Chagas, sendo as principais *Philander* spp, *Didelphis* spp e o *Leonthopithecus rosalia* (mico-leão-dourado) (Jansen et al., 2018). Também foi encontrado por exame de PCR, DNA de *T.cruzi* no tecido cardíaco de três exemplares da espécie *Sus scrofa* (suínos selvagens) no Texas, EUA (Comeaux et al., 2016).

Rives-Blanchard e colaboradores (2017) relataram triatomíneos da espécie *Mepraia spinolai* com altas taxas de infecção por *T.cruzi* em ilhas da costa do Chile. O estudo sugere que os vetores podem se alimentar de aves marinhas e outros mamíferos, ampliando a cadeia de transmissão.

1.2.2.1 Estado do Paraná

No estado do Paraná há presença de espécies de vetores como a *Cavernicola pilosa*, *Microtriatoma borbai*, *Panstrongylus geniculatus*, *P. megistus*, *P. tibiamaculata*, *Psammolestes tertius*, *Rhodnius domesticus*, *R. neglectus* e *T. sórdida* (FIOCRUZ, 2015). Entre 2012 e 2021, foram registrados 1.750 triatomíneos de seis espécies diferentes no estado, com uma taxa de infecção de 22,7% para *T. cruzi*. O risco de transmissão permanece alto,

especialmente em áreas de maior adequação ambiental (Trovo et al., 2024). O vetor com maior ocorrência foi o da espécie *Panstrongylus megistus*, com 73% por conta da proximidade da população de áreas naturais (Ferro e Silva et al.; 2018).

Em estudo descritivo sobre as características sociodemográficas e clínicas de 270 pacientes soropositivos crônicos para *T. cruzi* na região centro-norte do Paraná (Maringá e municípios vizinhos), concluiu-se que 64% dos pacientes eram femininos com idade média de 67,5 anos e 91,9% indicaram transmissão vetorial durante a infância (antes da implementação de programas de controle vetorial) (Gasparim et al., 2018).

No norte do estado do Paraná, nos municípios de Londrina e Telêmaco Borba, estudos de soroprevalência de anticorpos anti-*T.cruzi* em gatos foram realizados a partir de exames de ELISA e RIFI. Foram detectados 51 animais positivos de um total de 673 (Matos et al., 2018).

1.2.2.2. Cães

Estudos como o de Almeida e colaboradores (2013) relataram a infecção natural de cães na cidade de Cuiabá-MT e descreveram seu papel como sentinelas na vigilância da doença pois até o momento do estudo não havia sido relatada a doença em seres humanos no local. Outro trabalho, de Bilheiro e colaboradores (2019), em zona rural do município de Monte Negro - RO, identificou cães com anticorpos para *T .cruzi* e a presença de vetores *Rhodnius montenegrensis* positivos para *T.cruzi* e *T.rangeli*.

Quando a ocorrência de *T.cruzi* é detectada em cães e gatos, muitos pesquisadores nomeiam estes animais como reservatórios sentinelas da doença devido a sua proximidade com os seres humanos e o comportamento peridomiciliar. Estes animais entram em contato com a mata e insetos triatomíneos e posterior a isso, retornam infectados ao convívio com o ser humano, indicando precocemente a presença de um agente infeccioso em determinada região (Castañera et al, 1998; Saldanã et al, 2015).

O risco é maior em cães de abrigo e de trabalho, necessitando de estratégias integradas de controle e tratamento de vetores para mitigar o impacto da doença dos cães e dos seres humanos. Podem se infectar tanto pela via vetorial, com triatomíneos infectados, quanto pela transmissão oral com a ingestão de fezes do vetor e/ou ingestão do próprio vetor (Bilheiro et al., 2019; Crisante et al., 2006).

Estudos em diferentes estados brasileiros indicaram variações nas taxas de infecção. Em estudo de Mendes e colaboradores (2013), a incidência de Chagas em cães no Brasil revelou uma prevalência de soropositividade de 4,08% na zona rural da Paraíba. A maior prevalência registrada foi na região norte do estado (6,05%) seguida pela região sul (3,59%) e

os principais fatores de risco foram contato com aves, presença de galinheiro e captura de vetores da doença.

A taxa de incidência de infecções por *T. cruzi* em cães pode ser significativa, com descobertas mostrando uma incidência de 30,7% ao ano em canis no Texas, EUA (Busselman et al., 2021). Tenney e colaboradores (2014), relataram que em sete abrigos de regiões ecológicas do estado do Texas, dos 205 cães testados, 8,8% apresentaram soropositividade para *T.cruzi.* A prevalência variou de 6,7% a 13,8% entre os diferentes abrigos. E outro estudo no sul da Louisiana, estado vizinho ao Texas, relatou-se uma prevalência de 6,9% de cães soropositivos e 15,7% de cães PCR-positivos, indicando um problema generalizado (Elmayan et al., 2019).

No estado do Rio Grande do Norte, Freitas e colaboradores (2018) também investigaram a presença de anticorpos anti-*T.cruzi* abrangendo cães das áreas rurais de Mossoró. Dos 218 cães testados por ELISA e RIFI, 11% apresentaram soropositividade. O estudo ressalta a necessidade de vigilância epidemiológica contínua para prevenção e destaca a importância dos cães como animais sentinelas da infecção.

Perez e colaboradores (2016), no estado do Piauí, também realizaram uma busca ativa por cães domésticos na área do município de São João do Piauí. No estudo foram incluídos cães que viviam na área há mais de seis meses e tivessem mais de oito meses de idade. Foi realizado exame de sangue para ELISA e RIFI em 129 animais, o que e resultou em 36 animais positivos no ELISA e 21 animais positivos no RIFI.

Costa e colaboradores (2021) relataram em seu estudo a prevalência de *T. cruzi* em cães de área urbana da Amazônia Legal, no distrito de Itaqui-Bacanga, em São Luís, Maranhão. Foram analisadas 330 amostras de sangue de cães usando testes sorológicos (RIFI e ELISA) e PCR molecular. Os resultados indicaram uma soropositividade de 31,8% no RIFI e 13,9% no ELISA, enquanto 17,5% das amostras foram positivas por PCR. e não houve correlação estatisticamente significativa entre os fatores de risco analisados (como idade, sexo ou tipo de habitação) e a soropositividade. Ainda na Amazônia Legal, na região metropolitana de Belém-PA, foi diagnosticado por PCR 42 cães, onde foi relatado condições ambientais favoráveis como desmatamento e urbanização desordenada causando aumento do contato com os vetores (Pereira et al., 2021).

1.2.3. Fisiopatologia

A Doença de Chagas possui curso clínico bifásico (fase aguda e fase crônica) que varia conforme a resposta imunológica do organismo de cada hospedeiro, a cepa do parasita e a via de transmissão. A infecção inicial ocorre a partir da entrada do parasito no organismo, desencadeando a fase aguda da doença que pode durar de 2 a 4 meses e ir até a baixa da parasitemia (Maciel et al., 2023; BRASIL, 2018). Durante a fase crônica, dentre os pacientes sem tratamento, 30% desenvolvem alterações cardíacas e até 10% apresentam alterações digestivas (WHO, 2023).

Os sintomas clínicos relatados na fase aguda em seres humanos podem ir desde parasitemia elevada, titulação de IgM alto, Sinal de Romanã (edema palpebral unilateral) chagoma (lesão cutânea eritematosa), náuseas, vômitos, diarréias, conjuntivite, febre e até óbito (BRASIL, 2019; Maciel et al., 2023). O Sinal de Romaña, descoberto por Cecílio Romaña, é um sinal bastante sugestivo da doença, praticamente patognomônico quando associado a outros fatores clínicos e epidemiológicos, e facilita o diagnóstico precoce. É um sinal que envolve inchaço unilateral e indolor nas pálpebras acompanhado de linfoadenopatia próxima ao local afetado relacionando a conjuntiva como uma porta de entrada do *T. cruzi* (Romaña, 2009).

No ano de 2004 foi documentado um surto de 24 casos agudos da doença em seres humanos no estado de Santa Catarina associado ao consumo de caldo de cana contaminado com *T. cruzi* e dentre os casos, três óbitos foram notificados. As cepas de *T. cruzi* TcI e TcII foram encontradas nas vítimas (Steindel et.al., 2008).

Cães na fase aguda da doença podem apresentar fadiga e cansaço devido a insuficiência cardíaca aguda, assim como sinais neurológicos, tais como, tremores, ataxia e convulsões, perda de apetite, anemia, leucocitose e linfocitose (Araujo et al., 2013; Guedes et al., 2012). Podem apresentar também sinais clínicos mais graves como paresia, quadriparesia, distensão abdominal, edema de membros e um quadro de insuficiência cardíaca e nervosa central (Almeida et al., 2013). Em caso relatado por Da Silva e colaboradores (2009) no Uruguai, um cão de 60 dias resultou positivo para infecção por *T.cruzi* após apresentar ptose palpebral unilateral, fraqueza muscular, incoordenação e disfagia e o quadro evoluir para óbito. Na necropsia foi identificado poliadenomegalia, atrofia muscular severa, megaesôfago, megacólon e pneumonia lobar.

Na fase crônica, o paciente não terá parasitemia detectável, apresentará anticorpos IgG anti-*T.cruzi* e pode apresentar sinais cardíacos e/ou digestivos e na maior parte dos casos indeterminados (BRASIL, 2010). A patogênese da cardiomiopatia chagásica crônica não é

completamente compreendida mas mostra que o dano tecidual é o principal papel identificado do *T.cruzi* no tecido cardíaco (BRASIL, 2019). O parasita destrói as células cardíacas fazendo com que o sistema imune do organismo do hospedeiro as substitua por tecido fibroso ocasionando diminuição do desempenho do órgão (Pérez-Molina, J. A., & Molina, I., 2018).

A forma cardíaca da doença no estado do Paraná em seres humanos é a mais prevalente e relatada (36,3%), seguida da indeterminada (30%), cardiodigestiva (19,6%) e digestiva (14%). A forma cardíaca pode se apresentar como uma síndrome arrítmica, insuficiência cardíaca e complicações tromboembólicas sistêmicas e pulmonares. Para poder orientar a melhor escolha terapêutica do paciente é analisado a presença de alterações no exame de eletrocardiograma (ECG) como disfunção do ventrículo esquerdo, cardiomegalia, presença de taquicardia ventricular não sustentada (TVNS), classe funcional III e IV da New York Heart Association (NYHA) pois são os preditores mais consistentes de risco de mortalidade em pacientes chagásicos crônicos (Rassi et al., 2010; Boletim Epidemiológico, 2024).

Traina e colaboradores (2017), no condado de Los Angeles-EUA, investigaram 327 pacientes que realizaram eletrocardiograma no hospital Olive View - UCLA Medical Center usando o critério de presença de alguma anormalidade no ECG. Realizou-se exames de ELISA e IFF e a taxa de prevalência de pacientes positivos para *T.cruzi* foi de 5,2%.

Entre os pacientes com a forma digestiva, 10,7% apresentavam megaesôfago e 2,9% megacólon (Gasparim et. al., 2018). O período de incubação do protozoário varia de acordo com a forma que foi transmitido. Caso tenha sido vetorial dura de 4 a 15 dias, transfusional de 30 a 40 dias, congênita em qualquer período da gestação ou durante o parto, oral de 3 a 22 dias e transmissão acidental até aproximadamente 20 dias (BRASIL, 2013). Já o período de transmissibilidade será por toda a vida do hospedeiro, no entanto, os principais reservatórios são os outros mamíferos próximos do homem (gatos, cães, porcos, ratos) e animais silvestres que podem coabitar o ambiente (gambás, primatas não humanos, morcegos e tatus) (BRASIL, 2010).

Na fase crônica, cães podem apresentar complicações cardíacas como cardiomiopatia dilatada, arritmias, ascite e hidrotórax como sinais de insuficiência cardíaca, anorexia, linfadenopatia, febre e mucosas pálidas (Pimentel et al, 2016; Maciel, 2023; Santana et al., 2012).

Animais vertebrados (como por exemplo tatu, cães, gatos, macacos e ratos) desempenham papel de reservatórios da doença por apresentarem o *T.cruzi* na corrente sanguínea e musculatura (Maciel et al., 2023). Segundo Bowser (2018), para a pesquisa os

cães são vistos como indicadores da doença pois, devido ao hábito de caça, intercalam área de mata e área urbana e fornecem uma ponte entre os patógenos e os seres humanos.

1.2.4. Diagnóstico

O diagnóstico da DC começa na anamnese e exame físico do paciente. Na anamnese, informações de dados epidemiológicos como local geográfico, condições de vida e higiene podem auxiliar no diagnóstico para entender a vulnerabilidade que o paciente tem à vetores. No exame físico, alterações nos parâmetros vitais de temperatura, mucosas, dor e ausculta cardíaca e pulmonar auxiliam na investigação, além de presença de Chagoma e Sinal de Romanã.

A escolha do teste parasitológico depende da fase da doença podendo ser exame parasitológicos ou exames sorológicos. Na fase aguda, exames parasitológicos de sangue periférico são os mais indicados, pois determinam a presença do parasita em esfregaço sanguíneo na sua forma tripomastigota infectante. Recomenda-se a pesquisa a fresco de tripanossomatídeos quando o período dos sinais clínicos está dentro de 30 dias; métodos de concentração como Strout, micro-hematócrito e creme leucocitário quando os sinais clínicos já estão ocorrendo a mais de 30 dias; e lâmina corada de gota espessa ou de esfregaço (BRASIL, 2013).

O exame de gota espessa, especificamente, é realizado prioritariamente na Amazônia Legal por conta da sua facilidade de realizar e por ser o diagnóstico padrão ouro para Malária, sendo prático para o diagnóstico de duas doenças importantes para a região. Além do exame diagnóstico, é importante para a saúde geral do paciente a realização de exames como endoscopia digestiva, radiografia de tórax e ecodopplercardiografia para acompanhamento do quadro clínico (FIOCRUZ, 2017; BRASIL, 2019).

Na fase crônica, a doença é diagnosticada por teste sorológico, exame para identificar a presença de anticorpos anti-*T.cruzi*. O indivíduo apresentará anticorpos IgG anti-*T. cruzi* que são detectáveis em teste sorológico ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), RIFI (imunofluorescência indireta) e anticorpos IgG no teste de hemoaglutinação (HE). A confirmação do diagnóstico é confirmada após dois testes serem reagentes (um de alta sensibilidade e outro de alta especificidade) e um deles de preferência ser o ELISA, tanto para humanos quanto para cães (BRASIL, 2017; Lauricella et al., 1998).

Em contrapartida, em estudo feito por Brasil e colaboradores (2010) levou a concluir que o teste ELISA poderia ser usado como um teste único para o diagnóstico da doença, mas devido a falta de mais pesquisas e revisões dos kits comerciais ainda não há confiabilidade

somente neste teste. O ensaio de PCR não é usado atualmente na prática clínica, sendo exclusivo de centros de pesquisa (Brasil et al., 2010).

No ano de 2020 foi estabelecido pelo Ministério da Saúde que os casos crônicos também precisam ser notificados compulsoriamente como os casos agudos. Os casos agudos devem ser notificados para a secretaria estadual e municipal em até 24 horas e os casos crônicos ao Ministério da Saúde no prazo de uma semana (BRASIL, 2020). A notificação está disponível desde janeiro de 2023 e ocorre pela plataforma e-SUS Notifica. Após 1 ano da implementação, 4.183 perfis foram cadastrados na plataforma sendo que 182 (4,3%) registros são do estado do Paraná (BRASIL, 2024). O diagnóstico e uso de medicamentos por doentes crônicos permite a redução da progressão da doença e evita transmissões congênitas em mulheres grávidas (BRASIL, 2022).

Dentro dos objetivos da OMS até 2030 presente nos Objetivos de Desenvolvimento (ODS) está a eficácia dos testes de diagnóstico rápido e desenvolver testes acessíveis para a população. Avaliar biomarcadores de sucesso ou fracasso do tratamento, simplificar e atualizar algoritmos de diagnóstico para melhorar o acesso e reduzir tempo de diagnóstico também são objetivos (WHO, 2023).

1.2.5. Tratamento

Há somente dois fármacos antiparasitários para tratamento da Doença de Chagas: o Benzonidazol (N-benzil-2- nitroimidazol-1-acetamida) e o Nifurtimox (4[(5-nitrofurfurilideno)amino]-3-metiltiomorfolina-1,1-dióxido). Ambos podem curar a infecção durante a fase aguda e conter a progressão da doença nos seres humanos e nos cães na fase crônica (BRASIL, 2019). Os medicamentos são fornecidos gratuitamente pela Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, porém, o Nifurtimox somente em casos de intolerância ou resistência ao fármaco de primeira escolha, o Benznidazol (Brasil et al., 2010).

A experiência clínica mostrou que as doses de Benznidazol ideais para tratamento são 5-8mg/kg/dia para crianças, 5-10/mg/kg/dia para adultos e 5mg/kg via oral a cada 12 horas por 60 dias em cães, e o remédio pode ser encontrado na concentração de 12,5 mg e 100 mg na forma de comprimido (BRASIL, 2020; Caldas et al., 2019; Da Silva et al., 2022).

Em 2018, tornou-se público o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT), documento elaborado pelo Ministério da Saúde, em conformidade com as diretrizes da CONITEC, para orientar o diagnóstico, tratamento e manejo da doença de Chagas no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). O protocolo abrange tanto as fases agudas quanto as crônicas da doença, critérios para diagnóstico parasitológico e sorológico. Também inclui

orientações para o manejo de complicações digestivas e cardíacas como megaesôfago, megacólon e insuficiência cardíaca (BRASIL, 2018).

Dependendo dos sintomas na fase crônica, os medicamentos são oferecidos e a decisão é feita levando em consideração a faixa etária e os sinais clínicos, principalmente em casos de crianças e adolescentes em fase crônica indeterminada (Dias et al, 2015; BRASIL, 2018). Medicações ou cirurgia podem ser necessárias para alterações cardíacas e/ou digestivas específicas (WHO, 2023)

O documento ressalta a importância da notificação de casos, especialmente em gestantes e populações de risco como medida de vigilância epidemiológica. De acordo com o PCDT o tratamento de mulheres com doença de Chagas que estão em idade fértil, antes ou depois da gravidez, pode prevenir a transmissão congênita (BRASIL, 2019). Assim como, na fase crônica o uso de fármacos deve ser uma decisão compartilhada do paciente com o médico, tendo a possibilidade de tratamento dos sintomas e não tratamento etiológico (BRASIL, 2018).

Rodríguez-Morales e colaboradores (2023) investigaram o uso de dois medicamentos como possível alternativa para o tratamento de cães infectados por *T.cruzi.* Infectaram experimentalmente cães e administraram nitazoxanida e água oxidante eletrólita e acompanharam por um ano. Os medicamentos induziram resposta imune pró-inflamatória eficaz, reduziram a gravidade e progressões das lesões cardíacas e obtiveram resultados semelhantes ao benznidazol porém com menos efeito colateral.

Em outro estudo, com cães chagásicos crônicos, Malcolm e colaboradores (2022) descreveram o uso de combinação de itraconazol e amiodarona para tratar dois cães. Ambos apresentavam arritmias ventriculares e aumento das câmaras cardíacas. O tratamento foi realizado para diminuir o quadro clínico e reduzir a carga parasitária, porém ambos morreram no período de seis meses.

1.2.6. Prevenção

Há a importância de haver medidas de prevenção e vigilância da DC em todos os territórios afetados, melhoria dos cuidados médicos, desde a formação de profissionais de saúde até à integração de todos os níveis dos serviços de saúde. É necessário garantir que os países onde a transmissão domiciliar de vetores ainda é registrada em determinados territórios cumpram as ações de prevenção, controle e vigilância e coordenem a gestão do controle de vetores entre países através de organismos nacionais multissectoriais (WHO, 2023).

Além disso, é fundamental que a população adote boas práticas de higiene na preparação dos alimentos, identifique e remova triatomíneos das habitações, utilize inseticidas residuais e promovam a limpeza e melhoria de residências – como a vedação de fissuras nas paredes e o uso de mosquiteiros. Medidas como a redução da vulnerabilidade social e o aumento do desenvolvimento humano também são essenciais para o controle da doença (Rocha et al., 2023).

A triagem sanguínea também é um método eficaz de prevenção a doença. Necessária para prevenir a transmissão de doenças através de transfusões de sangue e transplante de órgãos sendo uma via de transmissão interrompida por conta do controle efetivo dos serviços de hemoterapia do Brasil (BRASIL, 2017). Atualmente os serviços de hemoterapia são regidos pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº153 de 4 de junho de 2004 onde é normatizado que todos os sangues após doados serão previamente triados para investigação de doenças como Chagas, Sífilis, Hepatite B, Infecção por HIV, Malária e Hepatite C. A triagem é feita com testes sorológicos e imunohematológicos (BRASIL, 2004).

Em setembro de 2015 foi aprovado na Cúpula das Nações Unidas o documento 'Transformando nosso mundo: a Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável (ODS)', conhecido como Agenda 2030. O documento inclui 17 objetivos das Nações Unidas para acabar com a pobreza, proteger o meio ambiente, garantir a prosperidade e a paz com a implementação de medidas transformadoras (Souza et al. 2022).

O objetivo 3, especificamente, cita assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades. Com isso, as Nações Unidas pretendem até 2030, acabar com epidemias DTNs, incluindo a doença de Chagas (Nações Unidas Brasil, 2015). Porém, o obstáculo das mudanças ambientais causadas pela globalização, como desmatamento e urbanização, deixam a luta contra a propagação de doença mais difícil pois quanto mais a população desmata para progressão da cidade, mais invasão de vetores em habitações humanas ocorre, exacerbando a disseminação da doença. (Souza et al., 2022).

Com intuito de reafirmar os objetivos da ONU, o Ministério da Saúde tornou público em 2022 o 'Pacto Nacional para Eliminação da Transmissão Vertical de HIV, Sífilis, Hepatite B e Doença de Chagas'. O documento detalha as metas a serem alcançadas até 2030 tendo como objetivo o diagnóstico precoce e a eliminação da transmissão vertical da doença via congênita, obter a cura comprovada por exame sorológico negativo após tratamento de 90% ou mais das crianças com infecção por *T.cruzi*, rastrear e examinar 70% ou mais de familiares de casos identificados por meio de busca ativa no e-SUS Notifica e aumentar a cobertura de tratamento e testagem de recém nascidos de mães soropositivas (BRASIL, 2022).

Para combater a transmissão e infecção da DC a OMS colocou como meta, no relatório de DTNs de 2023, defender junto aos ministérios da saúde nacionais ou federais o reconhecimento da doença de Chagas como um problema de saúde pública, a triagem de mulheres grávidas, o controle vetorial, a limpeza ambiental e o rastreio de sangue para transfusões.

Busselman e colaboradores (2023) relataram sobre uso de inseticidas e acaricidas sistêmicos caninos, fluralaner e lotilaner, os quais são relatados como ferramentas eficazes no combate ao vetor da Doença de Chagas, *Triatoma gerstaeckeri*. Os pesquisadores testaram esses inseticidas em cães e observaram uma mortalidade quase completa dos triatomíneos que se alimentaram do sangue dos cães tratados. A conclusão destaca que tanto o fluralaner quanto o lotilaner causaram mortalidade aguda dos vetores, sugerindo que esses produtos podem ser utilizados como parte de uma abordagem integrada de manejo de vetores, especialmente em áreas com ciclos peridomésticos ou silvestres de transmissão da doença.

Há recomendação do uso desses inseticidas sistêmicos em cães como uma intervenção promissora para reduzir a população de triatomíneos e, potencialmente, a infecção por *Trypanosoma cruzi* em pessoas e animais. Modelos matemáticos indicam que em áreas de alta transmissão, áreas endêmicas, o tratamento a cada três meses é mais eficiente para reduzir a incidência da doença (Fiatsonu et al., 2022).

Não há até o momento vacinas eficazes contra a doença e o seu desenvolvimento ainda enfrenta desafios significativos devido a biologia complexa do agente causador e fatores socioeconômicos que abrangem a doença. Há a necessidade da seleção de antígenos que atuem provocando respostas imunológicas em diferentes estágios da infecção como estimular respostas de células TCD4+ e CD8+, subtipos de linfócitos T. Porém, é desafiador dada a capacidade do parasita de escapar da detecção imunológica e não foi encontrada ainda a combinação ideal de antígenos (Masip et al., 2024; Mancino et al., 2024).

Estudos com vacinas de organismo inteiro, subunidades de proteínas, e DNA recombinante já foram feitos e obtiveram resultados promissores em modelos animais. No entanto, desafios como a variabilidade genética do *T. cruzi* e a persistência do parasita em fases crônicas indicam a necessidade de vacinas que ofereçam proteção tanto profilática quanto terapêutica (Riosa et al., 2019).

Em estudo feito por Arce-Fonseca e colaboradores (2020) com cães experimentalmente infectados por *T. cruzi*, foi avaliada a eficácia de uma vacina terapêutica contendo DNA de *T. cruzi*. Os cães foram submetidos a administração da vacina com plasmídeos na posologia de três doses no intervalo de 15 dias. O estudo resultou em

preservação da estrutura e função cardíacas nos cães, reduzindo os danos cardíacos que a doença ocasiona.

A prevenção também pode ser realizada por meio da coleta e da vigilância entomológica ativa, com foco na detecção precoce de triatomíneos. Pesquisadores têm desenvolvido e implementado armadilhas específicas para a captura desses vetores, visando monitorar sua presença e minimizar o risco de transmissão da doença de Chagas. Hamer e colaboradores (2024) criaram, no estado do Texas, após testes a campo com sete protótipos, uma armadilha que consegue capturar, matar e preservar o DNA do *T. cruzi* contido no intestino do triatomíneo. Afirmam que a efetividade e viabilidade da armadilha depende de uma potente fonte de luz, luzes LED alimentadas por energia solar para menor gasto, painéis em coluna vertical de funis encontrados comercialmente e propilenoglicol, álcool poli-hídrico, para preservar os vetores.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Arleana do Bom Parto Ferreira de et al. Natural infection by Trypanosoma cruzi in one dog in central western Brazil: a case report. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 4, p. 287-289, 2013.

ANTINORI, Spinello et al. Chagas disease in Europe: a review for the internist in the globalized world. **European Journal of Internal Medicine**, v. 43, p. 6-15, 2017.

ANVISA, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). **Manual técnico para investigação da transmissão de doenças pelo sangue**. Editora MS, 2004.

ARAÚJO, I. M. et al. Infecção por Trypanosoma cruzi em um cão domiciliado da área urbana do município de castanhal, estado do Pará, BRASIL/Trypanosoma cruzi. Infection in domiciled dog from na urban area of Castanhal, PA, Brazil. **Ars Veterinaria**, v. 29, n. 4, p. 56-56, 2013.

ARCE-FONSECA, Minerva et al. DNA vaccine treatment in dogs experimentally infected with Trypanosoma cruzi. **Journal of Immunology Research**, v. 2020, n. 1, p. 9794575, 2020.

AUFDERHEIDE, A. C. et ai. A 9,000-year record of Chagas' disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, 101 : 2.034-2.039, 2004.

BARBOSA, RL, Dias, VL, Lorosa, ES, de Góes Costa, E., Pereira, KS, Gilioli, R., Aparecida Guaraldo, AM, Corrêa Passos, LA, Virulence of Trypanosoma cruzi from vector e reservatório em polpa de açaí in natura resultando em doença de Chagas aguda de origem alimentar no Estado do Pará, BRASIL, **Parasitologia Experimental** (2018), doi: https://doi.org/ 10.1016/j.exppara.2018.10.012

BELINTANI, T.; Oliveira, J.; Pinotti, H.; Silva, LA; Alevi, KCC; Galvão, C.; Rosa, JA **Relações filogenéticas e fenotípicas do subcomplexo Triatoma sordida (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae)**. Acta Trop. **2020,** 212, 105679

BILHEIRO, A. B. et al. Survey of Trypanosoma (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) Infection in Monte Negro Municipality, State of Rondônia, Western Amazon, with First Record of *T. evansi* in the state. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, p. e20190270, 2019.

BRASIL, P. E. A. A. et al. ELISA versus PCR for diagnosis of chronic Chagas disease: systematic review and meta-analysis. **BMC infectious diseases**, v. 10, p. 1-17, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças infecciosas e parasitárias : guia de bolso** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 8. ed. rev. – Brasília : Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde do Brasil. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (CONITEC). Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Doença de Chagas **Nº 397. Relatório de Recomendação**. Outubro de 2018. Disponível em: http://conitec.gov.br/images/Relatorios/2018/Recomendacao/Relatorio_PCDT_Doenca_de_Chagas.pdf

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde : volume único** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 3a. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais : Rename 2020** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – Brasília : Ministério da Saúde, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. Pacto Nacional para a Eliminação da Transmissão Vertical de HIV, Sífilis, Hepatite B e Doença de Chagas como Problema de Saúde Pública / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. – Brasília : Ministério da Saúde, 2022. 29 p. : il.

BRASIL. Ministério da Saúde. Recomendações sobre o diagnóstico parasitológico, sorológico e molecular para confirmação da doença de Chagas aguda e crônica. **Revista de Patologia Tropical**, v. 42, n. 4, p. 475-478, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Saúde. Gerência Técnica de Raiva e Chagas 2013. Disponível em:http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/arquivos/pdf/2013/Nov/18/Informe_Diagnostico_DC_NUCOM_2_.pdf (acessado em 28 de abril de 2024)

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos Esplanada dos Ministérios, Bloco G, Edifício Sede, 8° andar, Brasília – DF. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Doença de Chagas, outubro de 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente (BRASIL). **Boletim Epidemiológico**. Volume 55, Nº 8, 16 Abril, 2024.

BUSSELMAN, Rachel E. et al. High incidence of *Trypanosoma cruzi* infections in dogs directly detected through longitudinal tracking at 10 multi-dog kennels, Texas**,** USA. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 15, n. 11, p. e0009935, 2021, doi: 10.1371/JOURNAL.PNTD.0009935.

CALDAS, Ivo S.; SANTOS, E. G.; NOVAES, R. D. An evaluation of benznidazole as a Chagas disease therapeutic. **Expert opinion on pharmacotherapy**, v. 20, n. 15, p. 1797-1807, 2019.

CASTAÑERA, M. B. et al. Evaluation of dogs as sentinels of the transmission of Trypanosoma cruzi in a rural area of north-western Argentina. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 92, n. 6, p. 671-683, 1998.

CHAGAS, C. (1909) Nova tripanozomiase humana. Estudos sôbre a morfologia e o ciclo evolutivo de *Schozotrypanum cruzi* n. gen., n. sp. ajente etiolójico de nova entidade mórbida do homem. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 1: 159-218.

CHIPPAUX, J. et al. Epidemiological evaluation of Chagas disease in a rural area of southern Bolivia. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 102, n. 6, p. 578-584, 2008, doi: 10.1016/J.TRSTMH.2008.03.008.

COMEAUX, J. M. et al. Survey of feral swine (Sus scrofa) infection with the agent of Chagas disease (Trypanosoma cruzi) in Texas, 2013–14. **Journal of wildlife diseases**, v. 52, n. 3, p. 627-630, 2016.

COSTA, T. F. et al. **Seroprevalence and detection of *Trypanosoma cruzi* in dogs living in a non-endemic area for Chagas disease in the legal Amazon region**, Brazil. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports, v. 26, p. 100648, 2021.

CRISANTE, G. et al. Infected dogs as a risk factor in the transmission of human Trypanosoma cruzi infection in western Venezuela. **Acta tropica**, v. 98, n. 3, p. 247-254, 2006.

CUCUNUBÁ, Z. M. et al. Increased mortality attributed to Chagas disease: a systematic review and meta-analysis. **Parasites & vectors**, v. 9, p. 1-13, 2016.

DA SILVA, L. M. et al. Doença de chagas em cães. **Ciência Animal**, v. 32, n. 3, p. 96-113, 2022.

DA SILVA, José P. Pacheco et al. Enfermedad de Chagas en perros: descripción de un caso clínico en raza cimarrón y su diagnóstico histopatológico. **REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 10, n. 4, 2009.

DELAI, R. R. et al. One Health approach on human seroprevalence of anti-Toxocara antibodies, Toxocara spp. eggs in dogs and sand samples between seashore mainland and island areas of southern Brazil. **One Health**, v. 13, p. 100353, 2021.

DVORAK, J. A.; HYDE, T. P. Trypanosoma cruzi: interaction with vertebrate cells in vitro. 1. Individual interactions at the cellular and subcellular levels. Experimental Parasitology, San Diego, v. 34, p. 268-283, 1973.

DIAS, J. C. P. et al. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2015. Epidemiologia e Serviços de Saúde, v. 25, p. 7-86, 2016. ISSN 1679-4974.

FERREIRA, A. Z. L. et al. Metacyclogenesis as the Starting Point of Chagas Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 1, p. 117, 2023

FERRO E SILVA, A. M. et al. Spatial prediction of risk areas for vector transmission of *Trypanosoma cruzi* in the State of Paraná, southern Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 10, p. e0006907, 2018.

FIATSONU, E. et al. Effectiveness of fluralaner treatment regimens for the control of canine Chagas disease: A mathematical modeling study. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 17, n. 1, p. e0011084, 2023.

FIOCRUZ, Vetores da Doença de Chagas no Brasil (Região Sul). Rio de Janeiro: José Jurberg, Cleber Galvão, Dayse Rocha, Felipe F. F. Moreira, Carolina Dale, Juliana M. S. Rodrigues, Valdir D. Lamas Jr. e Vanda Cunha. Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos. Instituto Oswaldo Cruz, 2015.

FIOCRUZ. Portal da Doença de Chagas. Bio-Manguinhos/FIOCRUZ, 2017. Disponível em: https://chagas.FIOCRUZ.br/ Acesso em: 15 novembro 2023.

FREITAS, Y. B. N. et al. Natural infection by *Trypanosoma cruzi* in triatomines and seropositivity for Chagas disease of dogs in rural areas of Rio Grande do Norte, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, p. 190-197, 2018.

GUEDES, P. M. M. et al. Hematological alterations during experimental canine infection by Trypanosoma cruzi. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, p. 151-156, 2012.

GÓMEZ-OCHOA, S. A. et al. Global, regional, and national trends of Chagas disease from 1990 to 2019: comprehensive analysis of the global burden of disease study. **Global heart**, v. 17, n. 1, 2022, doi:10.5334/gh.1150.

HAMER, Gabriel L. et al. Development of an operational trap for collection, killing, and preservation of triatomines (Hemiptera: Reduviidae): the kissing bug kill trap. **Journal of Medical Entomology**, v. 61, n. 6, p. 1322-1332, 2024.

IBGE \Cidades\Paraná\Pontal do Paraná\Panorama. Disponível online: https://cidades.ibge.gov.br/Brasil/pr/pontal-do-parana/panorama (acesso em 28 de março de 2024).

IBGE. \Cidades\Paraná\Guaraqueçaba\Panorama. Disponível online: https://cidades.ibge.gov.br/Brasil/pr/guaraquecaba/panorama (acesso em 28 de março 2024).

JANSEN, A. M.; XAVIER, S. C. das C.; ROQUE, A. L. R. Trypanosoma cruzi transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. **Parasites & vectors**, v. 11, p. 1-25, 2018

LAURICELLA, M. A. et al. Immunodiagnosis of *Trypanosoma cruzi* (Chagas' disease) infection in naturally infected dogs. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, p. 501-507, 1998.

LAPORTA, G. Z. et al. Estimativa de prevalência de doença de Chagas crônica nos municípios Brasileiros. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 48, 2024.

LEITÃO, J. C. L. et al. Doença de Chagas Aguda no BRASIL: aspectos epidemiológicos de 2018 a 2021. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 7, n. 1, p. 6374-6386, 2024, doi: 10.34119/bjhrv7n1-513.

LENT, H.; WYGODZINSKY, P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. 1979.

LIDANI, K. C. F. et al. Clinical and epidemiological aspects of chronic Chagas disease from Southern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 53, p. e20200225, 2020.

LIMA, V. S. et al. Chagas disease in ancient hunter-gatherer population, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 6, p. 1001, 2008.

MACIEL, W. N. S. et al. Doença de Chagas em cães: revisão de literatura. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 6, n. 1, p. 629-645, 2023.

MALCOLM, E. L. et al. Antiparasitic treatment with itraconazole and amiodarone in 2 dogs with severe, symptomatic Chagas cardiomyopathy. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 36, n. 3, p. 1100-1105, 2022.

MANCINO, C. et al. Harnessing RNA technology to advance therapeutic vaccine antigens against chagas disease. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 16, n. 13, p. 15832-15846, 2024.

MENDES, R. S. et al. Aspectos epidemiológicos da Doença de Chagas canina no semiárido paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 1459-1465, 2013.

MARCILI, A. et al. A new genotype of Trypanosoma cruzi associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and Histone H2B genes and genotyping based on ITS1 rDNA. **Parasitology**, v. 136, n. 6, p. 641-655, 2009

MASIP, Y. E. et al. Vaccination with parasite-specific TcTASV proteins combined with recombinant baculovirus as a delivery platform protects against acute and chronic Trypanosoma cruzi infection. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 14, p. 1297321, 2024.

MATOS, Andressa Maria Rorato Nascimento de et al. Anticorpos anti-tripanossomatídeos em gatos domésticos no Paraná: quem está em maior risco de infecção?. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, p. 232-236, 2018.

Nações Unidas Brasil, 2015. Os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável no Brasil/ Saúde e Bem-Estar. Objetivo 3. Assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todas e todos, em todas as idades. Disponível em: https://brasil.un.org/pt-br/sdgs/3. Acesso em 18 de agosto de 2024.

PEREIRA, H. de S. et al. Chagas disease in urban and peri-urban environment in the Amazon: Sentinel hosts, vectors, and the environment. **Acta tropica**, v. 217, p. 105858, 2021.

PEREZ, T. D. et al. Prevalence of American trypanosomiasis and leishmaniases in domestic dogs in a rural area of the municipality of São João do Piauí, Piauí state, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 58, p. 79, 2016.

PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I. Chagas disease. **The Lancet**, v. 391, n. 10115, p. 82-94, 2018.

PIMENTEL, L. A. et al. Pathological and immunohistochemical findings of a case of canine chagasic myocarditis in the state of Mato Grosso. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 1, p. 263-268, 2016.

RABINOVICH, J. (2013). 2. Chagas disease age-class prevalence in Argentina. doi: 10.6084/m9.figshare.1009052

RAMÍREZ, Juan David et al. First report of human Trypanosoma cruzi infection attributed to TcBat genotype. **Zoonoses and public health**, v. 61, n. 7, p. 477-479, 2014.

RAMOS, L. G. et al. Tackling the Challenges of human Chagas Disease: a Comprehensive Review of Treatment Strategies in the Chronic Phase and Emerging Therapeutic Approaches. **Acta Tropica**, p. 107264, 2024.

RASSI, Anis; MARIN-NETO, José Antonio. Chagas disease. **The Lancet**, v. 375, n. 9723, p. 1388-1402, 2010.

RIOSA, L. E. et al. Immunity and vaccine development efforts against Trypanosoma cruzi. **Acta tropica**, v. 200, p. 105168, 2019.

RIVES-BLANCHARD, Ninette et al. Trypanosoma cruzi over the ocean: Insular zones of Chile with presence of infected vector Mepraia species. **Acta Tropica**, v. 172, p. 229-231, 2017

ROCHA, M. I. F. et al. Mortalidade por doenças tropicais negligenciadas no Brasil no século XXI: análise de tendências espaciais e temporais e fatores associados. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 47, p. e146, 2023.

RODRÍGUEZ-MORALES, O. et al. Effectiveness of nitazoxanide and electrolyzed oxiding water in treating Chagas disease in a canine model. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 5, p. 1479, 2023.

ROMAÑA, C. Acerca de um síntoma inicial de valor para o diagnóstico de forma aguda de la enfermedad de Chagas: La conjuntivitis esquizotripanósica unilateral: hipótesis sobre la puerta de entrada conjuntival de la enfermedad. In: **Clássicos em doença de Chagas: história e perspectivas no centenário da descoberta**. 2009. p. 205-220.

ROQUE, A.L.R., and JASEN, A.M. Reservatórios do Trypanosoma cruzi e sua relação com os vetores. In: GALVÃO, C., org. Vetores da doença de chagas no Brasil [online]. Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia, 2014, pp. 75-87. Zoologia: guias e manuais de identificação series. ISBN 978-85-98203- 09-6. Available from SciELO Books <http://books.scielo.org>.

SALDAÑA, A. et al. Risk factors associated with Trypanosoma cruziexposure in domestic dogs from a rural community in Panama. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, p. 936-944, 2015.

SCHMUNIS, G. A.; YADON, Zaida E. Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. **Acta tropica**, v. 115, n. 1-2, p. 14-21, 2010.

SCHOFIELD, CJ; GALVÃO, Cleber. Classificação, evolução e grupos de espécies dentro dos Triatominae. **Acta tropica** , v. 110, n. 2-3, p. 88-100, 2009.

SOUZA, R. de C. M. de et al. Chagas disease in the context of the 2030 agenda: global warming and vectors. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 117, p. e200479, 2022.

Secretaria da Saúde. Governo do Estado. Doença de Chagas. Disponível em https://www.saude.pr.gov.br/Pagina/Doenca-de-Chagas. Acesso em 19 de abril de 2024.

STEINDEL, M. et al. Characterization of Trypanosoma cruzi isolated from humans, vectors, and animal reservoirs following an outbreak of acute human Chagas disease in Santa Catarina State, Brazil. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 60, n. 1, p. 25-32, 2008.

TENNEY, T. D. et al. Shelter dogs as sentinels for Trypanosoma cruzi transmission across Texas. **Emerging infectious diseases**, v. 20, n. 8, p. 1323, 2014.

TRAINA, M. I. et al. Prevalence of Chagas disease in a US population of Latin American immigrants with conduction abnormalities on electrocardiogram. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 1, p. e0005244, 2017.

TROVO, J. V. S. et al. The risk of vector transmission of Trypanosoma cruzi remains high in the State of Paraná. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 119, p. e230226, 2024.

MONTEIRO, S. G. Parasitologia na medicina veterinária. São Paulo: Roca, v. 1, 2011.

NASUHIDEHNAVI, A.; MCCALL, Laura-Isobel. It takes two to tango: How immune responses and metabolic changes jointly shape cardiac Chagas disease. **PLoS Pathogens**, v. 19, n. 6, p. e1011399, 2023.

NETO, J. A. R.; SILVEIRA, G. R., DE OLIVEIRA, K. B. S., PAMPLONA L. F., Pedro, Henrique, DE SANTANA P. H. (2024). Epidemiological analysis of cases of acute Chagas Disease in Brazil between 2007 and 2022. International journal of health sciences, doi: 10.22533/at.ed.1594442413053.

WHO – Global report on neglected tropical diseases 2023. World Health Organization 29 January 2023.

ZINGALES, Bianca et al. A new consensus for Trypanosoma cruzi intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 1051-1054, 2009

2 SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Trypanosoma cruzi* EM ILHAS E LITORAL DO ESTADO DO PARANÁ

Resumo

As ilhas e o litoral continental do estado do Paraná possuem uma vasta área verde que serve de habitat para uma variedade de animais e seres humanos, sendo locais procurados para o turismo por serem exemplo de área preservada da Mata atlântica. Nesses locais as populações residentes são, de modo geral, limitadas de atendimento médico local adequado. A Doença de Chagas (DC), também conhecida como tripanossomíase americana, está presente na lista de doenças tropicais negligenciadas (DTN) da Organização Mundial da Saúde (OMS) e é uma enfermidade associada à invasão populacional em áreas florestais, ao baixo desenvolvimento humano e a alta vulnerabilidade social. Trata-se de uma antropozoonose causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*, que causa uma infecção aguda e crônica com ou sem sintomas aparentes. Afeta diversas espécies de mamíferos incluindo os cães, animais próximos dos seres humanos, que são considerados reservatórios e sentinelas da doença. A presença do vetor da doença no estado do Paraná é elevada e a subnotificação de casos infectados é uma realidade. Há registros de casos crônicos da doença em 19 dos 399 municípios do estado, incluindo região oeste, centro e norte do estado, porém, não há até o presente momento estudos com populações do litoral e das ilhas. No presente estudo avaliou a soroprevalência de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* em soro sanguíneo como também teste molecular em sangue total de pessoas e cães das ilhas do Superagui, Ilha do Mel, Ilha das Peças e municípios de Guaraqueçaba e Pontal do Paraná. Utilizou-se a técnica de ELISA recombinante Wiener Chagatest v.3.0. em amostras de soro sanguíneo humano e a técnica de imunofluorescência indireta (RIFI) em amostras de soro sanguíneo de cães residentes das cinco localidades, assim como a presença de antígenos da doença pela técnica de qPCR. A soropositividade anti-*T.cruzi* foi demonstrada em 2/304 (0,65%) dos seres humanos na técnica ELISA e em 1/292 (0,34%) dos cães testados pelo método de RIFI, sendo que nenhuma das três amostras eram da mesma região. A qPCR revelou que as três amostras testadas continham a presença de DNA do parasito *T. cruzi*. Concluiu-se que apesar do baixo número de positivos, é necessária maior investigação com animais silvestres da ilha para averiguar possíveis infecções.

Palavras-chaves: chagas; cão; doença infecciosa; sentinela; veterinária

2.1 INTRODUÇÃO

Doenças zoonóticas como toxoplasmose, brucelose, leptospirose e ricketisioses já foram relatadas em pessoas e animais que habitam ilhas oceânicas do estado do Paraná. Os estudos indicam que essas doenças ocorrem também em ilhas devido a condições ambientais específicas de temperatura, limpeza urbana, qualidade do abastecimento de água potável, manejo de resíduos sólidos e a coexistência de animais e seres humanos em ambientes compartilhados. Essas condições podem criar um ambiente propício para a transmissão de doenças zoonóticas tornando a vigilância e controle essenciais para a saúde pública (Kmetiuk et. al., 2022; Freitas et. al., 2022; Freitas et. al., 2023; Barros et. al., 2024).

Assim como essas enfermidades, a Doença de Chagas (DC), zoonose presente na lista doenças tropicais negligenciadas da Organização Mundial da Saúde (OMS), também tem sido detectada em populações em maior vulnerabilidade social, como moradores de rua e populações em áreas de baixa renda (Kmetiuk et al., 2023). O agente etiológico da DC é o protozoário *Trypanosoma cruzi* e seu vetor é o inseto triatomíneo conhecido como ''barbeiro'', ‘’chupança’’, ou ‘’bicho-de-parede’’ (Chagas, 1909). Como ambientes insulares frequentemente apresentam ecossistemas únicos e, muitas vezes, uma fauna e flora distintas das encontradas em áreas continentais, as ilhas podem ter populações de vetores adaptadas às condições locais, influenciando sua proliferação (ICMBio, 2020).

Originária do continente americano, a doença afeta atualmente entre 6 a 7 milhões de pessoas sendo preocupação de saúde pública significativa. No Brasil, o número de portadores da doença em sua fase crônica é de aproximadamente 3,7 milhões de pessoas, com cerca de 25 milhões em risco de infecção (Laporta et al., 2024). A transmissão da doença pode ocorrer por quatro vias: vertical (congênita), transfusão sanguínea ou transplante de órgãos, ingestão de alimentos contaminados e pela picada do inseto barbeiro (WHO, 2023). Além de afetar seres humanos, a doença de Chagas também pode acometer outros mamíferos, como cães, que atuam como sentinelas da doença.

Devido à proximidade com as pessoas, é crucial a identificação desses animais para avaliar a presença do parasita no ambiente (BRASIL, 2019). De acordo com a Secretaria de Saúde do Paraná (2024), os municípios do estado possuem alta presença de espécies de vetores necessitando de monitoramento contínuo e acompanhamento dos casos. Com a vasta área verde existente nas ilhas do estado do Paraná, incluindo Parques Nacionais e estações de conservação, a realização de pesquisas ativas é fundamental.

Estudos nas Ilhas do Superagui, Ilha do Mel, Ilha das Peças, Pontal do Paraná e Guaraqueçaba podem fornecer informações cruciais para o combate à transmissão da DC e

outras zoonoses. Essas pesquisas são essenciais para implementar estratégias de controle eficazes, garantindo a saúde das populações humanas e animais.

O objetivo deste estudo foi investigar a soroprevalência de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* e a presença de parasitos no sangue total de seres humanos e seus cães em cinco localidades do litoral do estado do Paraná.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Declaração de ética

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Paraná (protocolo 036/2021) e pelo Comitê de Ética CAEE da Plataforma Brasil (protocolo 84756324.0.0000.0020).

2.2.2. População e área de estudo

Este foi um estudo sorológico onde seres humanos e seus cães, moradores de três ilhas oceânicas (Ilha do Superagui, Ilha do Mel e Ilha das Peças) e dois municípios costeiras do estado do Paraná (Guaraqueçaba e Pontal do Paraná), participaram voluntariamente entre julho de 2019 e fevereiro de 2020. Um total de 304 pessoas, de Guaraqueçaba (77), Pontal do Paraná (45), Ilha do Mel (106), Ilha das Peças (25) e Ilha do Superagui (51) e 292 cães de Guaraqueçaba (88), Pontal do Paraná (50), Ilha do Mel (70), Ilha das Peças (28) e Ilha do Superagui (56) foram incluídos no estudo e a seleção foi feita por conveniência (Figura 1).

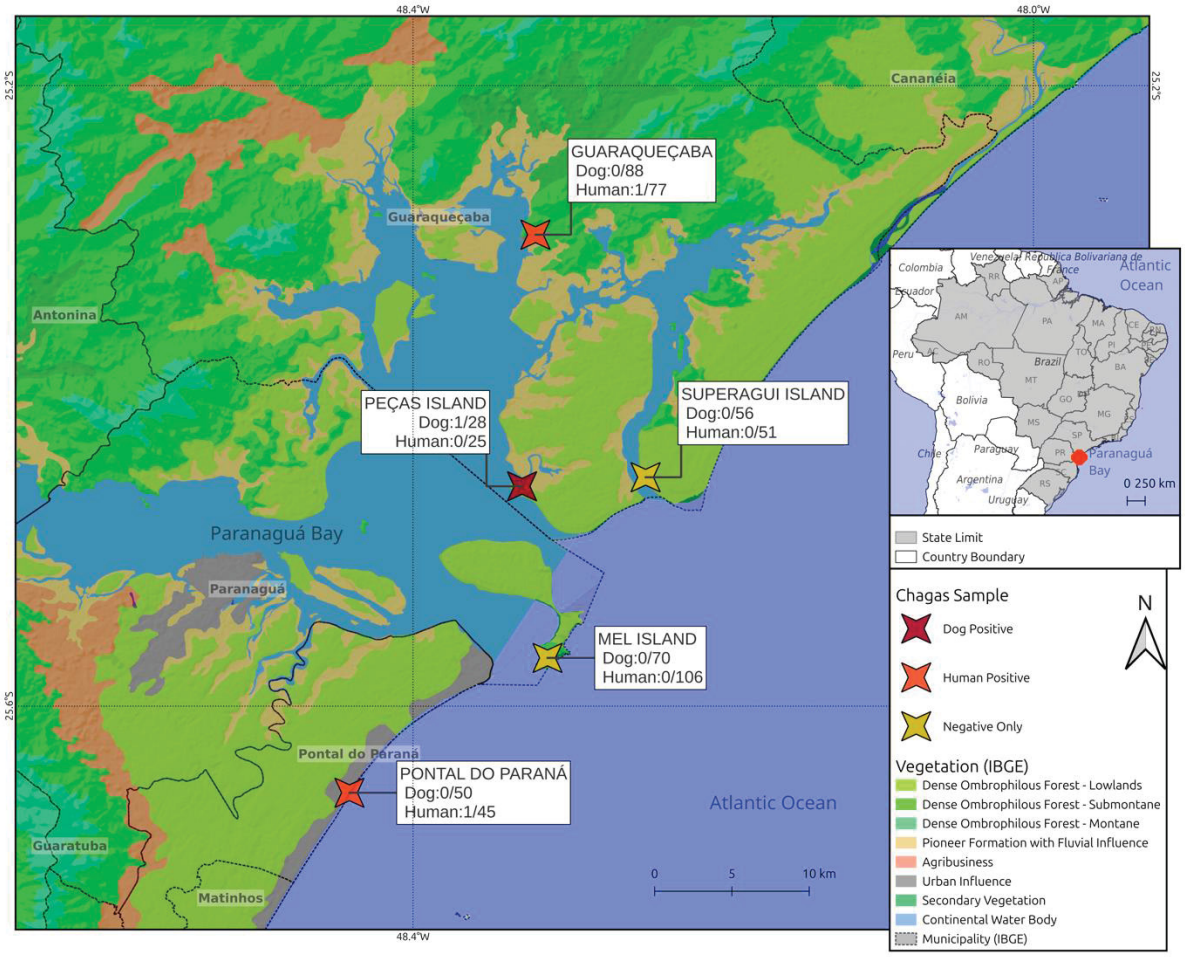
Os locais de estudo fazem parte do território da Mata Atlântica, segunda maior floresta tropical da América do Sul que abrange cerca de 15% do território nacional (Figura 1). Atualmente, faz parte de uma das 34 áreas '*hotspot*', com alto grau de ameaça devido a perda de mais de ¾ da sua vegetação original por ação antrópica (SOS Mata Atlântica, 2024). Por conta disso, na costa paranaense há concentração grande de unidades de conservação (UC) federais e estaduais com o objetivo de preservar a biodiversidade com o objetivo de proteção da área (Chemin & Abrahão, 2014).

A Ilha do Mel abrange aproximadamente 2.240,69 hectares, abrigando dois parques de conservação: a Estação Ecológica da Ilha do Mel (81%) e o Parque Estadual (12%) (IAT, 2024). A Ilha das Peças e a Ilha do Superagui fazem parte do Parque Nacional do Superagui, duas UC, e abrangem vegetação de restingas e manguezais, praias e espécies ameaçadas de extinção (ICMBio, 2020).

Pontal do Paraná e Guaraqueçaba são regiões costeiras continentais, no litoral norte e são rotas para chegar à região das ilhas. Pontal do Paraná tem uma economia em torno do turismo e Guaraqueçaba economia agrícola e de susbsistência (Alves et al., 2012).

Devido a localização geográfica em que se encontra, Guaraqueçaba é um município semi-isolado e um dos municípios mais pobres do estado por conta da dificuldade de acesso (IBGE, 2024; Garcia et al., 2010). O município de Guaraqueçaba está localizado dentro de três unidades de conservação: Área de Proteção Ambiental (APA) de Guaraqueçaba, Estação Ecológica de Guaraqueçaba e Parque Nacional do Superagui e sua vegetação é composta por floresta ombrófila densa, mangue e restinga (IBGE, 2024).

Figura 1: As cinco regiões do estado do Paraná onde foram coletadas as amostras: Pontal do Paraná, Guaraqueçaba, Ilha das Peças, Ilha do Mel e Ilha Superagui.



Fonte: Autores

2.2.4. Coleta de amostras de sangue e informações epidemiológicas

As amostras sangue foram coletadas de maneira aleatória durante ações clínicas de medicina veterinária preventiva em pessoas e animais voluntários. Foram coletados sangue dos seres humanos por punção da veia cefálica e dos animais por punção da veia jugular. As amostras de sangue humano foram coletadas por enfermeiras credenciadas em parceria com a Secretaria Municipal da Saúde de cada município. Para os testes moleculares, foram usados tubos com anticoagulantes e para os exames sorológicos foram usados tubos sem anticoagulante e mantidos em temperatura ambiente até retração visível do coágulo. Foram centrifugados a 1.500 rpm por 5 minutos para separar o soro e armazenados em tubos tipo *eppendorf* de 1,5mL a -20ºC no freezer do Laboratório de Zoonoses e Epidemiologia Molecular da Universidade Federal do Paraná até serem processados.

A população foi informada sobre o sigilo das suas identidades e o direito de recusar participar do estudo. Os voluntários formalizaram a autorização mediante assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido em atendimento à Resolução nº441/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

Junto com a coleta foi realizado o preenchimento de um questionário epidemiológico individual para cada participante com informações referentes ao modo de vida, higiene, comportamento, alimentação e hábitos cotidianos para fins de entender se haveria algum ponto em comum com os resultados positivos (Anexo 2). Para os cães foi preenchido um questionário pelo tutor com informações referentes a identificação, alimentação, hábitos e comportamentos do animal (Anexo 1).

2.2.5. Testes Laboratoriais

2.2.5.1. ELISA

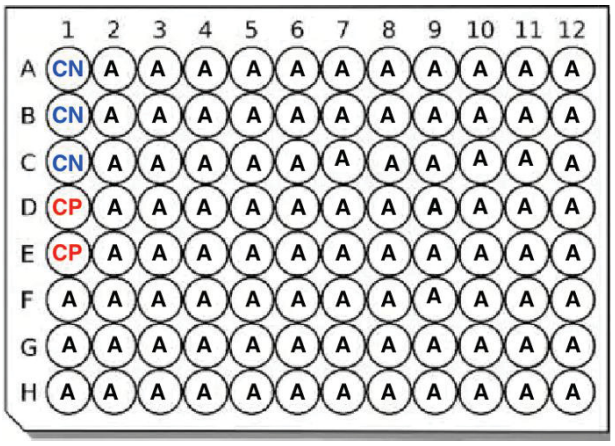
As 304 amostras de soro de humanos residentes dos municípios foram processadas pelo kit comercial ChagaTest ELISA recombinante v.3.0 (Wiener lab). Técnica qualitativa para detecção de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi*. O processamento das amostras foi realizado no Laboratório de Biologia Celular do Instituto Carlos Chagas (ICC) – FioCruz/PR, localizado em Curitiba-PR.

O kit comercial usado contém uma placa de 96 poços, com antígeno imobilizado, que foram divididos em: 91 poços para amostras, 3 para controles negativos (CN) e 2 para controles positivos (CP) (Figura 2). Foram usadas cinco placas para testar todas as amostras: placa 1 com amostras da Ilha do Mel e Pontal do Paraná; placa 2 com amostras da Ilha do Mel e Ilha das Peças; placa 3 com amostras de Guaraqueçaba; placa 4 com amostras da Ilha

Superagui. Uma quinta placa foi usada para testar todas as amostras cujo resultado deu positivo na primeira rodada.

De acordo com o manual de uso do kit comercial as amostras foram retiradas dos freezers (-20ºC), e descongeladas em temperatura ambiente por 1 hora e 30 minutos. Após descongeladas iniciou-se o protocolo do Chagatest ELISA recombinante v.3.0. para detecção de anticorpos anti-*T.cruzi*. Iniciou-se o processo adicionando 100µL de diluente em cada poço seguido de 10µL de CN nos três primeiros poços da coluna 1 (A1, B1 e C1), 10µL de CP nos poços D1 e E1 e 10µL de amostra de soro sanguíneo no resto de poços da placa. Em seguida a placa foi colocada em incubadora por 30 minutos a 37ºC.

Figura 2: Modelo esquemático da placa do Kit comercial Chagatest indicando a posição dos Controles Negativos (CN), Controles Positivos (CP) e amostras (A).



Fonte: autores

Após incubação o líquido dos poços foi retirado para em seguida ser adicionado 100µL de solução de conjugado (solução com anti-imunoglobulinas humanas conjugadas com peroxidase) e incubado por 30 minutos a 37ºC novamente. Após esse processo foi feito uma lavagem dos poços cinco vezes com o tampão de lavagem presente no kit, diluído previamente (200mL de água ultra pura e 50mL do tampão).

Em seguida, foi adicionado 50µL de revelador A (peróxido de hidrogênio 60mmol/L em tampão citrato 50mmol/L pH 3,2) seguido de 50µL de revelador B (tetrametilbenzidina – TMB 0,01mol/L em ácido clorídrico 0,1N) e incubados por 30 minutos em temperatura ambiente. Logo em seguida, foram adicionados 50µL de solução Stopper (solução de parada; ácido sulfúrico 2N) em cada poço para cessar reação química. Por fim a placa era colocada no aparelho espectrofotômetro Sinergy com comprimento de onda 450nm, para leitura.

A leitura da placa era automaticamente transcrita para o computador conectado ao espectofotômetro e os dados mostrados na plataforma e a interpretação dos resultados foi realizada a partir do Excel®. De acordo com o manual do kit comercial, a presença ou ausência de anticorpos anti *T-cruzi* é determinada relacionando a absorbância da amostra com o cut-off. O cut-off foi calculado pela média dos controles negativos mais a densidade óptica (D.O.) de 0,300.

$$\text{Cut-off} = \text{CN} + 0{,}300 \text{ D.O.}$$

Os controles negativos devem obter uma densidade óptica menor ou igual a 0,150 e os controles positivos devem ser maiores ou iguais a 0,600. O critério pode ser avaliado em pelo menos 2 dos controles. As amostras positivas devem apresentar valores maiores que 10% do cutt-off e as negativas menor que 10% do cutt-off.

2.2.5.2 RIFI

Foram processadas 292 amostras de soros de cães dos municípios pelo teste sorológico de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) de acordo com a técnica de Camargo (1966). As mesmas amostras também foram testadas por RIFI para *Leishmania* spp para efeito de comparação devido a possível reação cruzada por conta da filogenética muito próxima (Luciano et al., 2009).

O processamento das amostras foi realizado no laboratório de sorologia do Serviço de Diagnóstico de Zoonoses (SDZ) do Hospital Veterinário da FMVZ, localizado na UNESP (Universidade Estadual Paulista), Campus de Botucatu – São Paulo (SP) no período de julho a novembro de 2023.

Para a reação de imunofluorescência indireta, as lâminas de imunofluorescência foram previamente sensibilizadas com antígenos de *T. cruzi* (cepa Y, mantidas pelo NUPEZO). As amostras foram testadas para anticorpos IgG específicos para *T. cruzi,* pela diluição em microplaca nas titulações de 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 e 1:640. Para os controles foram diluídos soros controle positivo e negativo de amostra de cães com o intuito de comparação.

Da mesma forma foi realizado para *Leishmania* spp o antígeno de *L. major* mantido pelo NUPEZO para RIFI. O antígeno de *L. major* apresenta reação cruzada com todas as espécies de *Leishmania* spp. circulantes no Brasil (Troncarelli et al., 2009). As amostras de soro, bem como os controles positivos e negativos foram diluídos em PBS, pH 7,2, com as diluições 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 e 1:640. As amostras foram consideradas positivas quando os títulos apresentaram-se iguais ou superiores a 40.

2.2.5.3. Extração de DNA e ensaio de *Real Time* PCR

Foi realizada a extração de DNA e técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) das duas amostras que positivaram duas vezes na sorologia pela técnica do ELISA e da única amostra de cão positiva na técnica de RIFI com o intuito de confirmar o diagnóstico por uma segunda técnica. A extração do DNA foi realizada no Laboratório de Cultivo de Parasitas (NB2) e a técnica de PCR no Laboratório de Biologia Celular (NB1), ambos localizados no Instituto Carlos Chagas (ICC) – FioCruz/PR em Curitiba-PR.

As amostras foram numeradas de 1 a 5, sendo: 1) amostra de homem de Guaraqueçaba coletada no ano de 2019; 2) amostra de mulher de Pontal do Paraná, coletada no ano de 2019; 3) amostra de cão da Ilha das Peças coletada no ano de 2019; 4) amostra de homem de Guaraqueçaba recoletada em 2024; 5) amostra de cão da Ilha das Peças recoletada em 2024. A amostra de mulher de Pontal do Paraná não foi recoletada em 2024 pois não foi possível localizar e/ou contactar com a pessoa.

A extração do DNA das amostras de sangue total foi realizada com o kit DNeasy®Blood and Tissue (250) da QIAGEN com adaptações. Para realização da extração foi utilizado 200µL de sangue total ao invés de 50-100µL como pede a bula do kit. Os resultados das extrações permaneceram em microtubos de 1,5mL e armazenados em freezer -20ºC para prosseguir o teste de qPCR no dia seguinte. Antes da extração de DNA é adicionado à amostra o alvo sintético IAC à amostra, cuja falha na sua detecção indica problemas no procedimento de extração de DNA das amostras e na reação de amplificação, invalidando o resultado da técnica. Após a extração, as amostras foram avaliadas no equipamento espectrofotômetro NanoDrop One^{C} Thermo Fisher Scientific 5225 Verona Rd para confirmar concentração significativa de DNA no produto da extração.

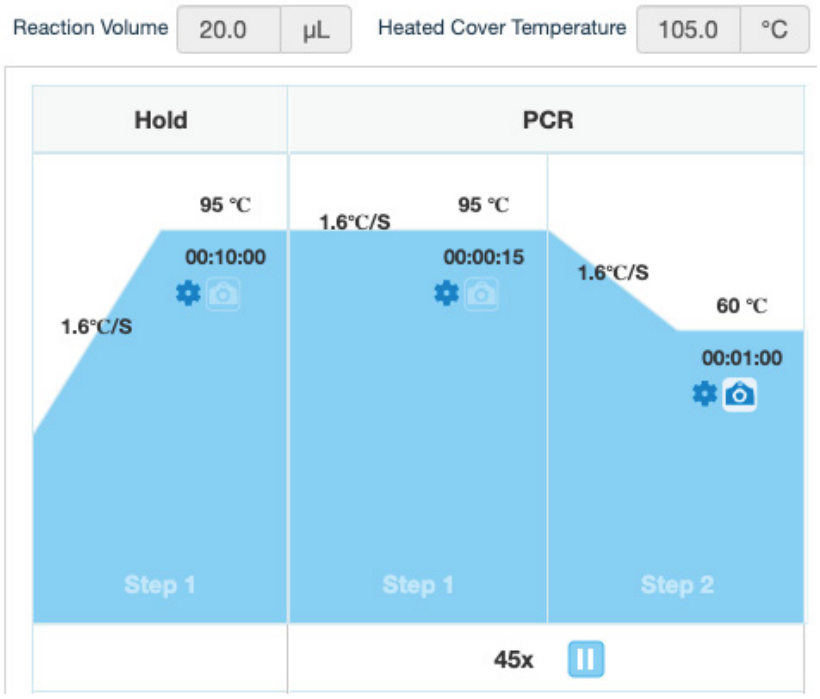
Para o teste de qPCR foi utilizado o kit IBMP Biomol Chagas 2022 seguindo o protocolo conforme a bula. Realizou-se a preparação dos controles positivos fornecidos no kit. Conforme a bula, foram feitos dois tipos de CP, um com concentração de 10 cópias/µL e outro com 100 cópias/µL em Água RNAse Free (fornecida no kit).

A preparação dos reagentes da qPCR (Mix) foi calculada para suprir a quantidade de 5 amostras em triplicata (totalizando 15 poços da placa para as amostras a serem testadas), 3 poços para o controle negativo, 4 poços para CP (2 poços para o de 10 e 2 poços para o de 100) e 3 poços para o IAC. Ademais, foi adicionado 10% ao cálculo como desvio padrão de segurança.

O equipamento utilizado para realização da reação foi o Quantstudio™ 5 Real-time, o protocolo utilizado foi o estabelecido pela bula do kit comercial (Figura 3). Segundo a bula do

kit, a detecção ocorre pela presença do sinal de fluorescência emitido por sonda molecular específica. A leitura do resultado foi feita pelo software Quantstudio Design&Analysis Software 2.7.0 (figura 5).

Figura 3: Ciclo do kit IBMP Biomol Chagas 2022 de qPCR conforme bula.



2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise das 304 amostras de soro sanguíneo de seres humanos realizada pelo método de ELISA revelou um resultado inicial de 31 amostras positivas. Após a repetição dos testes sorológicos para confirmação do diagnóstico, conforme orientações do próprio kit comercial, apenas duas amostras foram confirmadas como positivas para a Doença de Chagas: amostra coletada de mulher (46 anos) Pontal do Paraná (PP) e amostra coletada de homem (80 anos) de Guaraqueçaba (figura 4). A segunda rodada de testes indicou 29/31 amostras falso-positivas, que de fato, segundo o estudo de Schmidt e colaboradores (2020) destacam a necessidade da repetição de testes sorológicos para confirmação diagnóstica.

O perfil socioeconômico, segundo o questionário, indicou que 101/304 participantes possuíam uma renda familiar igual ou inferior a um salário mínimo. Entre estes, nove residiam em Guaraqueçaba e 11 eram de Pontal do Paraná, incluindo as duas amostras positivas. Estes resultados corroboram com trabalhos que abordam maior prevalência de soropositividade em populações economicamente desfavorecidas (Nobre et al., 2021;

FIOCRUZ, 2017). Ademais, a amostra de seres humanos positivos deste estudo se assemelha aos resultados da pesquisa de Cardoso e colaboradores (2017) em que a população mais velha (acima dos 40 anos) apresenta maior número de indivíduos positivos para a doença.

No caso dos indivíduos positivos, a amostra de Pontal do Paraná (PP) refere-se a uma mulher de 46 anos com ensino superior incompleto, residente, porém não nasceu em Pontal do Paraná. Esta mulher relatou ter contato com a mata semanalmente, possuir animais (14 cães, cinco gatos e um porquinho da índia), ingestão de água tratada, higienização das frutas e verduras com água, relatou já ter sido picada por carrapato em casa várias vezes e já ter tido bicho geográfico (*Ancylostoma brasiliensis*) e Bicho-de-pé (*Tunga penetrans*).

A amostra de Guaraqueçaba pertencia a um homem, 80 anos, sem escolaridade, residente e nascido naquele município, relatou não visitar a mata e possuir dois cães e um gato. Informou ter o hábito de lavar as frutas e verduras com água, já ter sido picado por carrapato em casa, não tivera bicho geográfico (*Ancylostoma brasiliensis*), e já havia sido contaminado pelo Bicho-de-pé (*Tunga penetrans*) em uma ocasião. Ambos, homem e mulher, não apresentavam sinais cínicos da doença e seus respectivos cães foram negativos no RIFI para DC e negativo para *Leishmania* spp. Em pesquisa de Lucheis e colaboradores (2005), no estado de São Paulo, relatou-se a correspondência de 50 pacientes humanos chagásicos possuírem cães com alta frequência de infecção, mesmo não havendo insetos triatomíneos detectados no ambiente com 86% dos cães serem positivos. O que torna discutível a presença ou não de infecção nos outros animais presentes na casa dos dois seres humanos positivos, pois somente um cão de cada ser humano foi examinado neste estudo.

O cão, proveniente da ilha das Peças, apresentou resultados positivos tanto no exame de RIFI quanto na técnica de qPCR, demonstrando concordância entre os testes. A análise de dados coletados do questionário respondido pelo tutor, revelou que o animal habitava em ambiente peridomiciliar, ou seja, tinha acesso sem supervisão às trilhas e praias da ilha e possuía o hábito de caçar pequenos lagartos. Montenegro e colaboradores (2002) mostraram em estudo que a transmissão da doença pode ocorrer através da caça a animais silvestres infectados ou pela ingestão do barbeiro/fezes do barbeiro acidentalmente.

Em artigo, Schmidt e colaboradores (2009) relataram o uso de animais de companhia, como cães e gatos, como sentinelas para monitoramento dos riscos à saúde pública. Como os animais compartilham do mesmo ambiente tornam-se eficazes para detecção de doenças infecciosas e contaminantes ambientais. Soma-se a isso o fato de a vida selvagem atuar como um indicador dos riscos ambientais uma vez que compartilha também desses ambientes.

Logo, o monitoramento da saúde dessas espécies ajuda a compreender os possíveis impactos na saúde humana.

A detecção de um animal naturalmente infectado também foi abordada por Bowser e colaboradores (2018) onde há o questionamento sobre o papel dos cães como animais sentinela na epidemiologia da doença e ressalta a necessidade continuada de atenção por parte dos médicos veterinários e da vigilância ativa dessa enfermidade. Como menciona o estudo, 60% das publicações relacionadas ao tema de cães como sentinelas para doenças infecciosas são do continente americano, demonstrando que cada vez mais este assunto é pertinente, não somente para a DC, mas para outras doenças transmitidas por vetores.

Apesar de nenhum binômio humano-cão tenha positivado para a doença, deve-se levar em consideração que os voluntários na pesquisa só levaram um dos seus animais para serem examinados, podendo haver mais animais subnotificados que não foram avaliados.

As medidas de A260/280 adquiridas das cinco amostras, após processo de extração do DNA, no equipamento espectrofotômetro (NanoDrop), apresentaram número maior que 1.8, cujo resultado considera-se sem contaminação, como sugere Nelson e colaboradores (2004), demonstrando uma correta extração com bom material genético para análises.

No teste de PCR, o número do Ct (Cq Mean) da amostra 1 (amostra de Guaraqueçaba) resultou em 38.605, número menor em comparação com a amostra 4, que resultou em 42.725 (recoleta da mesma amostra). A diferença no número do Ct pode indicar certa cronicidade da doença demonstrando uma diminuição na carga de DNA visto que valores mais baixos sugerem cargas parasitárias mais altas e valores mais altos cargas parasitárias menores (Coyle et al., 2022). A amostra 2 (amostra de Pontal do Paraná) apresentou 36.087 de Ct, não houve recoleta pois não foi possível contato. A amostra 3 e a amostra 5, ambas do cão residente da Ilha das Peças, resultaram o valor de Ct respectivamente em 38.029 e 39.025, demonstrando pouca variação da carga parasitária.

Embora a prevalência da doença tenha se mostrado baixa, com apenas três casos positivos em lugares distintos de estudo, é fundamental realizar mais estudos específicos e investigações tanto na população quanto na fauna insular do Paraná. Estudo de Morocoima e colaboradores (2024) relatou os níveis de soroprevalência de anticorpos anti-*T. cruzi* entre habitantes autóctones da Ilha Margarita. A soroprevalência geral foi relatada como 6,9% em indivíduos acima de 50 anos e os fatores de risco envolvidos incluíam a transmissão ativa da infecção por conta da condição turística da ilha. Os fatores de risco ecológico como o tipo de moradia e a presença de animais contribuem para a transmissão e a persistência da infecção em humanos. Além disso, como fator de risco, a instabilidade de gerenciamento de recursos

específicos para intervenções de saúde agrava a situação em comunidades insulares (Suárez et al., 2022).

Ferro e Silva e colaboradores (2018) relataram em estudo que o estado do Paraná é alvo de diferentes exemplares do inseto na região norte e centro devido ao clima quente e úmido, com a forte presença de espécies *P.geniculatus* e *P.megistus.* Uma possível explicação para a ausência dos insetos nas moradias concomitante à presença de indivíduos infectados seria a possibilidade de transmissão pela forma vertical ou oral. Ainda que, em estudo feito por Laporta e colaboradores (2024), encontrou-se que dentre os portadores de DC no país, grande parte do número são mulheres, e dentre estas, 590 mil em idade fértil.

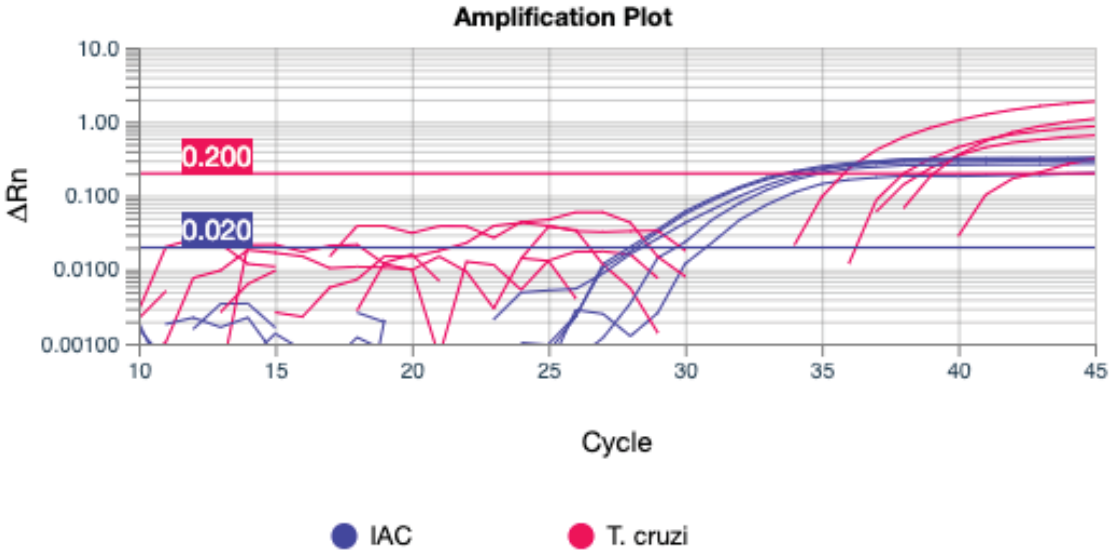
Apesar dos baixos títulos sorológicos e moleculares, cada caso positivo de DC deve ser analisado como uma ocorrência epidemiológica particular. A ocorrência de insetos barbeiros não foi mencionada pela população, entretanto, a transmissão da doença depende de múltiplos fatores pois há mais de uma forma de transmissão.

Figura 4: Resultado das 35 amostras de humanos retestadas pelo teste ELISA. Controles negativos (A1, B1 e C1) e controles positivos (D1 e E1). Amostras positivas B3 (amostra de Pontal do Paraná) e A5 (amostra de Guaraqueçaba).

	1	2	3	4	5	
A	0,239	0,042	0,089	0,045	2,504	450 nm:450
B	0,064	0,204	0,862	0,042	0,045	450 nm:450
C	0,085	0,136	0,042	0,123	0,115	450 nm:450
D	3,133	0,065	0,043	0,041	0,039	450 nm:450
E	3,327	0,049	0,048	0,13	0,042	450 nm:450
F	0,097	0,058	0,39	0,047	0,041	450 nm:450
G	0,233	0,055	0,09	0,046	0,042	450 nm:450
H	0,121	0,1	0,049	0,176	0,07	450 nm:450
média	0,085					
cut off	0,385					
cut off + 10	0,4235					

Fonte: Autores

Figura 5: Resultados das amplificações de DNA de *T.cruzi* presentes nas amostras 1 a 5, processadas pela técnica de qPCR, pelo software Quantstudio Design&Analysis Software 2.7.0.



Fonte: Autores

2.4 CONCLUSÃO

O objetivo deste estudo foi compreender a soroprevalência de anticorpos *T. cruzi* em áreas pouco estudadas como as ilhas, áreas com muita vegetação natural e contato com a mata local. Porém, apesar da infecção por *T.cruzi* ter sido detectada, foi incomum entre os seres humanos e seus próprios cães, conforme demonstrado pelos exames sorológicos e moleculares resultando em três amostras (dois seres humanos e um cão) soropositivas para a Doenca de Chagas em localidades diferentes uma da outra.

Mesmo não encontrando semelhanças entre os casos e não havendo binômios (pessoa+cão) positivos, a detecção de três casos positivos da doença destaca a necessidade de medidas preventivas, maior atenção por parte do sistema de saúde e mais pesquisas no litoral e ilhas do estado. Visto que, cada pessoa levou somente um cão para o voluntariado, mesmo havendo mais animais na residência.

A ausência de triatomíneos durante o trabalho de campo onde ocorreu os casos positivos não descarta a possibilidade de mais casos positivos tanto de cães e seres humanos quanto de animais silvestres das ilhas pois o inseto possui hábito noturno. Sugere-se maior investimento de pesquisa em animais silvestres e vigilância entomológica ativa de triatomíneos nas ilhas com armadilhas apropriadas.

REFERÊNCIAS

ALVES, L. R. Indicadores de localização, especialização e estruturação regional. **Análise regional: metodologias e indicadores. Curitiba: Camões**, p. 33-50, 2012

BARROS, N. L. C. et al. Serological and Molecular Survey of Brucella Species in Owners and Their Dogs Living on Island and Mainland Seashore Areas of Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 24, n. 2, p. 104-110, 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Guia de Vigilância em Saúde: volume único [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 3a. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2019.

BOWSER, N. H.; ANDERSON, N. E. Dogs (Canis familiaris) as sentinels for human infectious disease and application to Canadian populations: a systematic review. **Veterinary sciences**, v. 5, n. 4, p. 83, 2018.

CAMARGO, M.E. Fluorescent antibody test for the sorodiagnosis of American Tripanosomiasis: technical modification employing preserved culture forms of Trypanosoma cruzi in a slide test. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, v.8, p.227- 234, 1966.

CARDOSO, E. J. de S. et al. Perfil epidemiológico dos portadores de doença de Chagas: dos indicadores de risco ao processo de enfrentamento da doença. Arquivos de Ciência da Saúde, v. 24, n. 1, p. 41-46, jan/mar,2017. Disponívelem:<http://www.cienciasdasaude.famerp.br/index.php/racs/article/view/545/274>. Acesso em: 30 de março de 2024.

CHAGAS, C. (1909) Nova tripanozomiase humana. Estudos sôbre a morfologia e o ciclo evolutivo de Schozotrypanum cruzi n. gen., n. sp. ajente etiolójico de nova entidade mórbida do homem. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 1: 159-218.

CHEMIN, M.; ABRAHÃO, C. M. de S. Integração Territorial do Litoral do Estado do Paraná (BRASIL): transportes, balnearização e patrimonialização na formação e dinâmica do espaço turístico. 2014

COYLE, P. V. et al. Reporting of RT-PCR cycle threshold (Ct) values during the first wave of COVID-19 in Qatar improved result interpretation in clinical and public health settings. **Journal of Medical Microbiology**, v. 71, n. 5, p. 001499, 2022.

FERRO E SILVA, A. M. et al. Spatial prediction of risk areas for vector transmission of Trypanosoma cruzi in the State of Paraná, southern Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 10, p. e0006907, 2018.

FIOCRUZ, Fundação Oswaldo Cruz, Casa de Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil. Paula, L. M. (2017).

FREITAS, A. R. et al. Seropositivity of anti-toxoplasma gondii antibodies in owners and their dogs living on island and mainland seashore areas of southern Brazil. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 7, n. 10, p. 252, 2022.

FREITAS, A. R. et al. Spatial Owner-Dog Seroprevalence of Leptospira spp. Antibodies in Oceanic Islands and Costal Mainland of Southern Brazil. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 8, n. 4, p. 229, 2023.

GARCIA, P. H. da C. Acupuntura ecoturística em área de proteção ambiental: o caso de Guaraqueçaba (PR). 2010. Dissertação (Mestrado em Projeto de Arquitetura) – Faculdade de Arquitetura e Urbanismo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010. Doi: 10.11606/D.16.2010.tde-11082010-100436. Acesso em: 2 de setembro de 2024.

IBGE. BRASIL/ Paraná/ Pontal do Paraná/ Panorama, 2024. Disponível em: https://cidades.ibge.gov.br/BRASIL/pr/pontal-do-parana/panorama. Acesso em: 28 de março de 2024.

IBGE. BRASIL/ Paraná /Guaraqueçaba /Panorama, 2024. Disponível em: https://cidades.ibge.gov.br/BRASIL/pr/guaraquecaba/panorama. Acesso em: 28 de março 2024.

ICMBio. 2020. Plano de Manejo do Parque Nacional do Superagui. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/planodemanejo/plano_de_manejo_parna_do_superagui.pdf . Acesso em: 02 de setembro de 2024.

KMETIUK, L. B. et al. Epidemiology of Rickettsia spp. in Atlantic rainforest areas of island and seashore mainland, southern Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 69, n. 6, p. 3597-3605, 2022.

KMETIUK, L. B. et al. Serosurvey of Trypanosoma cruzi in persons experiencing homelessness and shelter workers of Brazil. **Frontiers in Public Health**, v. 11, p. 1125028, 2023.

LAPORTA, G. Z. et al. Estimativa de prevalência de doença de Chagas crônica nos municípios brasileiros. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 48, p. e28, 2024.

LUCHEIS, S. B. et al. Trypanosomatids in dogs belonging to individuals with chronic Chagas' disease living in Botucatu town and surrounding region, São Paulo State, Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 11, p. 492-509, 2005.

LUCIANO, R. M. et al. Avaliação da reatividade cruzada entre antígenos de Leishmania spp e Trypanosoma cruzi na resposta sorológica de cães pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 3, p. 181-187, 2009.

MONTENEGRO, V. M. et al. Chagas disease in dogs from endemic areas of Costa Rica. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 491-494, 2002.

MOROCOIMA, A. et al. Factores Ecoepidemiologicos relacionados com la seroprevalencia de anticuerpos anti-Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi em habitantes autóctonos de comunidades de Isla Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela. **Revista Cientifica de la Facultade de Veterinaria**, v. 29, n. 3, 2019.

NELSON, D. L.; LEHNINGER, A. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry lecture notebook**. Macmillan, 2004.

NOBRE, T. et al. Seroprevalence of Trypanosoma cruzi in pregnant women in Midwest Brazil: an evaluation of congenital transmission. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 63, p. e8, 2021.

IAT/Instituto Água e Terra. Parque Estadual da Ilha do Mel (PEIM). Portal do Governo do Estado do Paraná, 2024. Disponível online: https://www.iat.pr.gov.br/Pagina/Parque-Estadual-da-Ilha-do-Mel-PEIM Acesso em: 14 de fevereiro de 2024.

SCHMIDT, A.; MARIN, J. A. Testes Sorológicos para Doença de Chagas: Outra Evidência de Enigma em Doença Amplamente Negligenciada. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 115, n. 6, p. 1092-1093, 2020.

SCHMIDT, P. L. Companion animals as sentinels for public health. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 39, n. 2, p. 241-250, 2009.

SOS Mata Atlântica 2024. Disponível em: https://www.sosma.org.br/causas/mata-atlantica/. Acesso em: 28.08.2024

SUÁREZ, C. et al. Diagnosis and clinical management of Chagas disease: An increasing challenge in non-endemic areas. **Research and reports in tropical medicine**, v. 13, p. 25, 2022.

TRONCARELLI, M. Z.; CAMARGO, J. B.; MACHADO, J. G.; LUCHEIS, S. B.; LANGONI, H. Leishmania spp. and Trypanosoma cruzi diagnosis in dogs from endemic and nonendemic areas for canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 164, n. 2-4, p. 118–123, 1 out. 2009.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **Global report on neglected tropical diseases 2023**. World Health Organization, 2023.

ANEXOS

Anexo 1: Ficha epidemiológica usada para os cães

FICHA EPIDEMIOLÓGICA - CÃES E GATOS

1. Data da entrevista: ____/____/____	2. Entrevistador:
3. Nome do animal:	Identificação da amostra:
4. Entrevistado:	
5. Localização da residência:	
6.Espécie 6.1( ) Canino 6.2( ) Felino	7. Sexo ( )Fêmea ( )Macho
8. Raça:	
9. Data de nascimento: ____/____/_____	
10. Origem do animal: 10.1( )adotou 10.2( )ganhou 10.3( )resgatou 10.4( )comprou 10.5( )outro	
11. Local de habitação: 11.1( )domicílio 11.2( )peridomicílio 11.3( )comunitário	
12. Alimentação: 12.1( )ração 12.2( )comida caseira	
13. Oferece carne crua? ( )sim ( )não Se sim, qual espécie? 13.1( )bovino 13.2( )suíno 13.3( )aves 13.4( )peixe 13.5( ) carne de caça Com qual frequencia? 13.6 ( ) diaria 13.7 ( )semanal 13.8 ( )mensal	
14. Água: 14.1( )tratada 14.2( )poço artesiano 14.3( )outro: _____	
15. Possui acesso a rua/trilha? ( )sim ( ) não 15.1 Se sim, supervisionado? ( )sim ( )não	
16. Possui acesso a praia? ( )sim ( ) não 16.1 Se sim, supervisionado? ( )sim ( )não	
17. Adentra a mata? ( )sim ( ) não 17.1 Se sim, supervisionado? ( )sim ( )não	
18. Caça animais? ( )sim ( )não ( )não sabe Quais espécies? 18.1( )roedores 18.2( )pássaros 18.3( )outros. Quais? _____	
19. Possui ectoparasitas? ( )sim ( )não Se sim: 19.1( )pulgas 19.2( )carrapatos	
20. Faz controle de pulga e carrapato? ( )sim ( )não Se sim, com qual frequência? 20.1( )1x ao mês 20.2( )a cada 3 meses 20.3( )a cada 6 meses 20.4( )1x ao ano	
21. Vermifugação? ( )sim ( )não Se sim, com qual frequência? 21.1( )a cada 3 meses 21.2( ) a cada 6 meses 21.3( )1x ao ano	
22. Apresenta vômito? ( )sim ( )não	
23. Apresenta diarreia? ( )sim ( )não	
24. Apresentou emagrecimento significativo nos últimos meses? ( )sim ( )não	
25. Apresenta lesões de pele? ( ) sim ( )não Se sim, é sugestivo de: 25.1( )Leishmaniose 25.2( )outros	
26. Observações: _____ _ _____ _____	

Anexo 2: Ficha epidemiológica usada para as pessoas

QUESTIONÁRIO EPIDEMÍOLÓGICO HUMANOS

1. Data da entrevista: ____ /_____/_____	2.Entrevistador:
3. Nome do entrevistado:	
5. Data de nascimento: _____/___/____	6. Gênero: ( )F ( )M ( ) Transgênero
7. Escolaridade: ( ) sem escolaridade ( ) fundamental completo ( ) fundamental incompleto ( ) médio completo ( ) médio incompleto ( ) superior completo ( ) superior incompleto ( ) pós-graduação	
8. Renda familiar em salários mínimos:	
9. Telefones:	
10. Nasceu na ilha/cidade: ( ) sim ( ) não	
11. Tempo que reside na ilha:	
12. Localização da residência:	
13. Quantas pessoas moram na residência _____	
14. Visita a mata? ( )sim ( )não	
14.1 Se sim, com qual frequência? _____	
15. Possui cães? ( )sim ( )não	15.1 Se sim, quantos? _____
16. Possui gatos? ( )sim ( )não	16.1 Se sim, quantos?_____
17. Outros animais? ( )sim ( )não	17.1 Se sim, quais e quantos? _____
18. Qual a origem da água de consumo? 18.1( )tratada 18.2( )poço artesiano 18.3( ) outro	
19. Lava as frutas e as verduras antes do consumo? ( )sim ( )não 19.1 Se sim, como? ( )só com água 19.2 ( )água e vinagre 19.3 ( )água e hipoclorito de sódio	
20. Lava as mãos antes das refeições? ( )sim ( )não 20.1 Se sim, como? ( )só com agua 20.2( )agua e sabão 20.3 ( )álcool	
21 . Se alimenta de carne crua ou mal passada? ( )sim ( )não 21.1 Se sim, qual espécie?( )bovino 21.2( )suíno 21.3( )aves 21.4( )peixe 21.5( ) carne de caça	
22. Com qual frequência? 22.1 ( )diária 22.2 ( )semanal 22.3 ( )mensal	
23. Quando chove acumula água (enchente)? ( )sim ( )não 23.1 Se sim, onde? ( )dentro de casa 23.2( )na rua/nas trilhas	
24. Visualiza roedores? ( )sim ( )não 24.1 Se sim, onde? ( )dentro de casa 24.2( )na rua/nas trilhas	
25. É feito controle dos roedores? ( ) sim ( )não 25.1 Se sim, qual? ( ) veneno 25.2 ( )ratoeira ( )25.3 outros	
26. Período de visualização de roedores: 26.1( )dia 26.2( )noite	
27. Qual o destino do lixo? 27.1( ) recolhimento 27.2( )enterra 27.3( )outro	
28. Se recolhe, com qual frequência? ( ) diaria ( )semanal	
29. Já foi picado por carrapatos? ( )sim ( )não 29.1 Se sim, onde? ( )em casa 29.2( )na comunidade 29.3( )na mata 29.4 Há quanto tempo? _____ 29.5 Quantas vezes?	
30. Já teve bicho geográfico? ( )sim ( )não 30.1 Se sim, há quanto tempo? _____30.2 Quantas vezes? _____	
31. Já teve bicho de pé? ( )sim ( )não 31.1 Se sim, há quanto tempo? _____ 31.1 Quantas vezes? _____	
32. Observações: _____	