REVISTA TÓPICOS
ISSN 2965-6672 | Qualis A2

AVANÇOS E DESAFIOS NO DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE TRYPANOSOMA CRUZI EM FASES CRÔNICAS: UMA ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE SOROLOGIA CLÁSSICA E PCR

ADVANCES AND CHALLENGES IN THE MOLECULAR DIAGNOSIS OF TRYPANOSOMA CRUZI IN CHRONIC PHASES: A COMPARATIVE ANALYSIS BETWEEN CLASSICAL SEROLOGY AND PCR

Ciências Biológicas • 01/11/2026

REGISTRO DOI: 10.70773/revistatopicos/793409414

Mariana Dornelles Claret Lagunilla[1]

Daniele Sapede Alvarenga Medaglia[2]

Samyra Giarola Cecílio[3]

Martinelle Ferreira da Rocha Taranto[4]

RESUMO

A doença de Chagas permanece como uma infecção de elevada relevância clínica e epidemiológica, cuja fase crônica apresenta um dos principais desafios diagnósticos: a baixa e intermitente parasitemia, que reduz a utilidade dos métodos parasitológicos diretos e favorece a utilização da sorologia como principal estratégia de confirmação. Este estudo teve como objetivo analisar os avanços e desafios do diagnóstico molecular de Trypanosoma cruzi na fase crônica, comparando a PCR, especialmente a qPCR, com os métodos sorológicos clássicos e avaliando suas aplicações no diagnóstico, no acompanhamento terapêutico e na identificação de reativação. Foi realizada uma revisão integrativa, descritiva, analítica e comparativa da literatura, construída a partir do planejamento do TCC e ampliada com estudos originais, revisão sistemática e metaanálise, revisões narrativas, documentos de consenso e trabalhos voltados ao monitoramento molecular. A análise evidenciou que a sorologia continua fundamental para confirmar a infecção crônica, especialmente quando são empregados testes com princípios ou preparações antigênicas distintos. A PCR apresentou elevada especificidade analítica e utilidade particular em situações selecionadas, mas sua sensibilidade clínica variou entre estudos em função da parasitemia, do volume de amostra, da extração de DNA, do alvo molecular, dos primers, da plataforma e da diversidade genética do parasito. Estudos com qPCR demonstraram a possibilidade de detectar e quantificar cargas parasitárias muito baixas e acompanhar mudanças após tratamento. Em pacientes imunossuprimidos, a detecção molecular também apresentou importância para a vigilância de reativação. Concluiu-se que os avanços da PCR não justificam sua substituição universal pela sorologia na fase crônica; a principal perspectiva consiste na integração racional das metodologias, com padronização, controle

de qualidade, interpretação clínica e ampliação do acesso.
Palavras-chave: Doença de Chagas; Trypanosoma cruzi; PCR; qPCR; Sorologia.

ABSTRACT

Chagas disease remains a clinically and epidemiologically relevant infection, and its chronic phase presents a major diagnostic challenge because parasitemia is usually low and intermittent. This study aimed to analyze advances and challenges in molecular diagnosis of Trypanosoma cruzi during the chronic phase, comparing PCR, particularly qPCR, with conventional serological methods and assessing their applications in diagnosis, treatment follow-up and reactivation surveillance. An integrative, descriptive, analytical and comparative literature review was conducted based on the original research project and expanded with original studies, a systematic review and meta-analysis, narrative reviews, consensus documents and studies addressing molecular monitoring. The evidence showed that serology remains central to the confirmation of chronic infection, particularly when assays based on different principles or antigenic preparations are used. PCR showed high analytical specificity and particular usefulness in selected clinical situations, but clinical sensitivity varied across studies according to parasitemia, sample volume, DNA extraction, molecular target, primers, platform and parasite genetic diversity. qPCR studies demonstrated the feasibility of detecting and quantifying very low parasite burdens and monitoring changes after treatment. In immunosuppressed patients, molecular detection was also relevant for reactivation surveillance. It was concluded that PCR advances do not support the universal replacement of serology in the chronic phase; the most consistent perspective is the rational integration of both methodologies, with standardization, quality control, clinical

interpretation and broader access.
Keywords: Chagas disease; Trypanosoma cruzi; PCR; qPCR; Serology.3.

1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, permanece como uma infecção de grande relevância para a saúde pública e apresenta importância que ultrapassa as áreas tradicionalmente endêmicas das Américas. A mobilidade populacional e os fluxos migratórios contribuíram para a presença da infecção em diferentes regiões do mundo, aumentando a necessidade de estratégias diagnósticas capazes de atender tanto cenários endêmicos quanto serviços de referência em países não endêmicos (Lopez-Albizu *et al.*, 2023; Schijman *et al.*, 2024). A doença pode permanecer assintomática durante longo período e, em parte dos indivíduos, evoluir para formas cardíacas, digestivas ou cardiodigestivas, de modo que a confirmação laboratorial possui papel decisivo para o cuidado e para a indicação de acompanhamento e tratamento.

A dinâmica da infecção explica grande parte da dificuldade diagnóstica. Na fase aguda, a quantidade de parasitos circulantes costuma ser maior, permitindo o emprego de métodos parasitológicos diretos. Na fase crônica, entretanto, a parasitemia tende a ser baixa, flutuante e distribuída de forma irregular no sangue periférico. Essa característica diminui a sensibilidade da demonstração direta do parasito e faz com que a detecção de anticorpos específicos seja a principal estratégia laboratorial para confirmação da infecção crônica (Dias *et al.*, 2016; Schijman *et al.*, 2022; Lopez-Albizu *et al.*, 2023).

No Brasil, o II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas estabeleceu que o diagnóstico da fase crônica é essencialmente sorológico, recomendando a utilização de dois testes baseados em princípios metodológicos ou preparações antigênicas diferentes. Entre os exames empregados estão o ensaio imunoenzimático (ELISA), a imunofluorescência indireta (IFI) e a hemaglutinação indireta (HAI). A estratégia de utilizar metodologias complementares procura reduzir o risco de interpretação inadequada decorrente das limitações de um único ensaio (Dias *et al.*, 2016).

A sorologia possui uma vantagem biológica importante: a resposta imune específica pode permanecer detectável mesmo quando o parasito está presente em quantidade muito pequena no sangue. Entretanto, a presença de anticorpos não representa, isoladamente, uma medida direta da parasitemia. Resultados inconclusivos, falso-positivos e falso-negativos podem ocorrer, e diferenças na composição antigênica dos testes e na diversidade do parasito podem influenciar o desempenho diagnóstico (Lopez-Albizu *et al.*, 2023). Segundo Brasil *et al.* (2010), em revisão sistemática e metaanálise, encontraram elevada heterogeneidade entre estudos e estimaram sensibilidade e especificidade agrupadas de 97,7% e 96,3%, respectivamente, para ELISA. Nos estudos com ELISA comercial baseado em antígenos recombinantes, as estimativas agrupadas foram de 99,3% de sensibilidade e 97,5% de especificidade. Para PCR, os autores observaram heterogeneidade importante e estimaram uma sensibilidade provável entre 50% e 90%, com especificidade próxima de 100%, ressaltando que, naquele momento, a PCR ainda não apresentava condições suficientes para substituir a estratégia sorológica na prática clínica.

A persistência de anticorpos após o tratamento constitui outra limitação relevante. A soroconversão para negatividade pode ocorrer lentamente e, em muitos pacientes, não oferece uma resposta precoce sobre a presença ou ausência de parasitemia residual. Essa característica dificulta a avaliação imediata da eficácia terapêutica e estimulou a investigação de biomarcadores moleculares que possam refletir mais diretamente a presença do parasito no sangue (Morillo *et al.*, 2017; Sulleiro *et al.,* 2020).

Foi nesse contexto que a Reação em Cadeia da Polimerase ganhou espaço como ferramenta complementar. A PCR amplifica sequências específicas do DNA de *T. cruzi* e pode utilizar alvos presentes em múltiplas cópias, como DNA satélite e sequências do cinetoplasto. A evolução para plataformas de PCR em tempo real ampliou a possibilidade de automação, quantificação e acompanhamento longitudinal da carga parasitária, além de favorecer mecanismos internos de controle de qualidade (Pinazo *et al.*, 2023; Schijman *et al.*, 2024).

Entretanto, a elevada especificidade analítica da PCR não significa que sua sensibilidade clínica seja constante. Na fase crônica, uma amostra de sangue pode conter quantidade de DNA abaixo do limite de detecção, e um resultado negativo não exclui necessariamente a infecção. A escolha do alvo molecular, dos primers, do método de extração, do volume processado, da matriz biológica e da plataforma pode modificar o desempenho do teste. A diversidade genética de *T. cruzi* também precisa ser considerada, pois a distribuição das unidades discretas de tipagem pode influenciar a adequação de determinados alvos moleculares (Pinazo *et al.*, 2023; Melo *et al.,* 2015).

Os estudos originais incluídos no presente trabalho demonstram essa heterogeneidade. Castro *et al.* (2002), avaliando 60 pacientes crônicos e três amostras de sangue por indivíduo, encontraram positividade cumulativa de 86,7% para PCR e 70% para hemocultura. Em contraste, Duarte *et al.* (2014), ao comparar sete testes em 205 participantes, encontraram 98% de sensibilidade e 100% de especificidade para o Bioelisa Chagas, enquanto as PCRs avaliadas apresentaram 51% de sensibilidade para alvo de kDNA e 22% para alvo de DNA nuclear, ambas com especificidade de 100%. Esses resultados não devem ser generalizados para todas as plataformas atuais, mas evidenciam que a PCR não possui desempenho uniforme e que a metodologia empregada influencia fortemente o resultado.

Com a evolução da qPCR, resultados mais favoráveis foram observados em determinados contextos. Melo *et al.* (2015), em 40 pacientes com doença de Chagas crônica e 20 controles, avaliaram uma estratégia multiplex baseada em sondas TaqMan para DNA satélite nuclear. A sensibilidade foi de 97,5% em sangue e 95% em soro, com especificidade de 100% em ambas as matrizes, utilizando a sorologia como padrão de referência. A carga parasitária mediana foi baixa, de 1,23 equivalente parasitário/mL em sangue e 1,12 equivalente parasitário/mL em soro, mostrando simultaneamente o potencial da qPCR e o desafio de quantificar valores próximos aos limites inferiores do ensaio.

Estudos de monitoramento também reforçaram o valor da qPCR como ferramenta de acompanhamento. D'Ávila *et al.* (2018) analisaram 135 amostras de 91 pacientes crônicos e encontraram positividade de 58,5% para qPCR e 49,6% para hemocultura. A carga parasitária mediana entre as amostras positivas foi de 1,18

equivalente parasitário/mL, com ampla variação. O estudo demonstrou ainda que 38,5% das amostras foram positivas para ambos os métodos, 20,0% apenas para qPCR e 11,1% apenas para hemocultura, evidenciando que as metodologias não produzem resultados perfeitamente sobrepostos.

Outra aplicação importante ocorre em pacientes com imunossupressão. A reativação da doença de Chagas pode estar associada ao aumento da parasitemia e apresentar risco clínico relevante. Nesse contexto, a detecção molecular pode funcionar como instrumento de vigilância, permitindo identificar material genético parasitário em situações nas quais a sorologia não responde adequadamente à pergunta clínica imediata. Freitas *et al.* (2011) investigaram qPCR em pacientes com coinfecção HIV/*T. cruzi*, com e sem reativação, relacionando a detecção molecular a parâmetros de imunossupressão. A literatura posterior consolidou a utilidade de métodos moleculares na vigilância de reativação em indivíduos imunossuprimidos (Pinazo *et al.*, 2023).

O acompanhamento após tratamento é outra área na qual a PCR apresenta potencial. No ensaio STOP-CHAGAS, Morillo et *al.* (2017) utilizaram RT-PCR em diferentes momentos do seguimento para avaliar a eliminação de parasitas em indivíduos assintomáticos. O estudo demonstrou que a PCR pode ser empregada como marcador parasitológico durante e após a terapia, embora um resultado molecular negativo não deva ser interpretado isoladamente como prova definitiva de cura. Em uma coorte de 370 pacientes crônicos acompanhados após benznidazol, Sulleiro *et al.* (2020) observaram pelo menos um resultado positivo de qPCR após o tratamento em oito pacientes (2,2%), e os autores consideraram o

monitoramento molecular útil para detectar precocemente possíveis falhas terapêuticas.

Apesar desses avanços, ainda existem desafios de padronização, acesso e interpretação. Revisões recentes destacam que a ausência de protocolos completamente harmonizados, diferenças entre plataformas e necessidade de infraestrutura molecular podem limitar a implementação ampla da PCR (Pinazo *et al.,* 2023; Schijman *et al*., 2024). Ao mesmo tempo, a evolução dos testes sorológicos, dos testes rápidos e da busca por marcadores de cura mostra que o diagnóstico da doença de Chagas está caminhando para uma abordagem multimodal, na qual nenhuma técnica isolada responde a todas as perguntas clínicas.

Diante desse cenário, o presente estudo foi desenvolvido a partir do planejamento do TCC e de sua ampliação com novos estudos selecionados especificamente para responder aos objetivos propostos. A justificativa esteve relacionada à necessidade de compreender de maneira crítica se os avanços moleculares realmente acrescentam valor ao diagnóstico da fase crônica e em quais situações a PCR deve ser empregada.

Assim, o objetivo foi avaliar a eficácia e a utilidade clínica da PCR em comparação com os testes sorológicos clássicos na detecção e no acompanhamento da infecção crônica por *T. cruzi,* identificando avanços, limitações e possibilidades de integração. Especificamente, buscou-se: i) comparar sensibilidade e especificidade descritas na literatura; ii) identificar fatores técnicos que interferem na PCR; iii) avaliar sua aplicação no acompanhamento terapêutico e na reativação; iv) discutir como a integração das metodologias pode

contribuir para fluxos diagnósticos mais seguros, racionalizados e acessíveis no sistema de saúde.

2. METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão integrativa da literatura, de caráter descritivo, analítico e comparativo, direcionada ao diagnóstico laboratorial da infecção por *Trypanosoma cruzi* na fase crônica.

2.1. Pergunta Norteadora. Quais às Principais Vantagens, Limitações Técnicas e Desafios Práticos da PCR, Especialmente da qPCR, em Comparação com a Sorologia Convencional para o Diagnóstico e o Monitoramento de Pacientes na Fase Crônica da Doença de Chagas?

2.2. Fontes de Informação. Foram Consideradas as Bases e Fontes, Especialmente PubMed, SciELO e Google Acadêmico. A Seleção Final Foi Complementada por Estudos Adicionais Fornecidos para Esta Etapa do Trabalho e por Literatura Científica Recuperada para Verificar Dados Bibliográficos e Resultados dos Artigos Indicados. Foram Priorizados Estudos Originais, Revisões Sistemáticas, Revisões Narrativas de Referência e Documentos Normativos Diretamente Relacionados Ao Diagnóstico, à PCR/QPCR, à Sorologia, Ao Acompanhamento Terapêutico ou à Reativação.

2.3. Estratégia de Busca. Foram Empregados os Descritores e Combinações Relacionados a Trypanosoma Cruzi, Doença de Chagas Crônica, Diagnóstico Molecular, Polymerase Chain Reaction, Real-Time PCR, qPCR, Serology, ELISA, Parasitemia, Treatment Follow-Up e Reactivation. Os Termos Foram Combinados por Operadores Booleanos AND e OR. A Busca Foi Complementada Pela

Análise das Referências dos Artigos Considerados Centrais para o Tema.

2.4. Critérios de Inclusão. Foram Incluídos Estudos em Português, Inglês e Espanhol Que Abordassem Seres Humanos e Apresentassem Relação Direta com Diagnóstico da Fase Crônica, Comparação Entre Sorologia e PCR, Desempenho Diagnóstico, Quantificação de Carga Parasitária, Monitoramento Após Tratamento ou Detecção de Reativação. O Ano de Publicação Utilizado Foi 2002 a 2026. Foram Mantidos Estudos Mais Antigos Quando Apresentavam Valor Histórico ou Metodológico Indispensável para Compreender a Evolução da PCR, Como Castro *Et Al.* (2002) E Brasil *Et Al.* (2010). Essa Decisão Ampliou o Planejamento Original, Que Previa Maior Concentração em Publicações Recentes, Sem Eliminar a Necessidade de Estudos Clássicos para Contextualizar a Evolução Tecnológica.

2.5. Critérios de Exclusão. Foram Excluídos Estudos Exclusivamente Experimentais em Animais Sem Correlação Diagnóstica Humana, Trabalhos Restritos à Fase Aguda Quando Não Apresentavam Implicações para a Fase Crônica, Publicações Sem Relação Direta com a Pergunta Norteadora e Materiais Cujo Conteúdo Não Permitisse Identificar Adequadamente a Metodologia ou os Resultados Relevantes.

2.6. Processo de Análise. As Informações Extraídas Foram Organizadas Segundo Quatro Eixos: Desempenho da Sorologia; Desempenho e Limitações da PCR/QPCR; Aplicações no Tratamento e na Reativação; e Integração das Metodologias no Fluxo Diagnóstico. Foram Comparados Desenho do Estudo, População, Matriz Biológica, Método Empregado, Alvo Molecular, Referência

Diagnóstica, Principais Resultados e Limitações. Não Foi Calculada uma Nova Meta-Análise, Pois os Estudos Apresentaram Populações, Matrizes, Protocolos, Padrões de Referência e Desfechos Heterogêneos. Assim, os Valores Quantitativos Foram Apresentados Como Resultados dos Estudos Originais e Não Como Estimativas Universais.

2.7. Controle da Interpretação. Para Evitar Generalizações Indevidas, os Resultados de Sensibilidade e Especificidade Foram Sempre Associados Ao Estudo Que os Produziu e Ao Contexto Metodológico Correspondente. A Revisão Sistemática de Brasil *Et Al.* (2010), por Exemplo, Foi Tratada Como Evidência Histórica de Heterogeneidade e Não Como Estimativa Definitiva da Tecnologia Molecular Atual. Da Mesma Forma, os Resultados Favoráveis de Melo *Et Al.* (2015) Não Foram Extrapolados para Todas as Plataformas de qPCR. Essa Estratégia Foi Adotada Porque as Revisões Recentes Ressaltam a Influência da Amostra, da Extração, do Alvo, dos Primers, da Carga Parasitária e da Diversidade Genética do Parasito Sobre o Desempenho Molecular.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, inicialmente, foram encontrados 78 documentos de consenso e artigos científicos de periódicos especializados. Após a utilização dos critérios de inclusão e exclusão, foram selecionados para a construção desta revisão, 15 artigos, conforme Quadro 1.

Quadro 1. Síntese dos estudos incluídos nesta revisão.

Estudo	Desenho/ amostra	Método principal	Resultado quantitati	Contribuiç ão	Limitaç interpr ção

Castro et al. (2002)	60 pacientes crônicos + 9 controles	PCR e hemocultura	vo relevante vs. hemocultura 70% após 3 coletas	Mostrou ganho com repetição de amostras	Estudo antigo; protoco especif

⚠ Esta tabela possui muitas colunas e foi cortada para impressão. Para visualizá-la completa, acesse o artigo original em: https://revistatopicos.com.br/artigos/avancos-e-desafios-no-diagnostico-molecular-de-trypanosoma-cruzi-em-fases-cronicas-uma-analise-comparativa-entre-sorologia-classica-e-pcr?noblockage

Fonte: elaborada pela autora.

A análise do corpus mostrou que a comparação entre sorologia e PCR não pode ser reduzida a uma hierarquia fixa de métodos. Os estudos reunidos indicaram que as metodologias respondem a perguntas parcialmente diferentes: a sorologia evidencia a resposta imune específica e sustenta a confirmação da infecção crônica, enquanto a PCR pesquisa diretamente material genético parasitário e pode acrescentar informação sobre parasitemia detectável, reativação e acompanhamento terapêutico. Os principais resultados foram organizados em cinco eixos.

3.1. Desempenho da Sorologia na Fase Crônica

A sorologia permaneceu como a base diagnóstica da fase crônica na literatura analisada. O II Consenso Brasileiro recomendou dois testes sorológicos baseados em princípios ou preparações antigênicas diferentes, estratégia que busca aumentar a segurança da confirmação. A revisão de Lopez-Albizu et al. (2023) também destacou que ELISA, IFI e HAI permanecem amplamente utilizados,

embora nenhum teste isolado apresente desempenho perfeito em todos os contextos.

Brasil et al. (2010) forneceram uma das comparações quantitativas mais relevantes para compreender a evolução do campo. Na meta-análise, a sensibilidade e especificidade agrupadas dos estudos de ELISA foram de 97,7% e 96,3%, respectivamente. Quando foram considerados ELISAs comerciais com antígenos recombinantes em estudos de fase três, as estimativas agrupadas foram de 99,3% e 97,5%. Esses resultados sustentam a elevada capacidade da sorologia para confirmar a infecção crônica, mas também mostram que o desempenho varia conforme o ensaio e o contexto.

Duarte et al. (2014) encontraram, em sua população de 205 participantes, 98% de sensibilidade e 100% de especificidade para o Bioelisa Chagas. O estudo comparou sete testes e reforçou a importância de considerar o método específico, pois diferentes testes sorológicos e moleculares apresentaram desempenhos distintos.

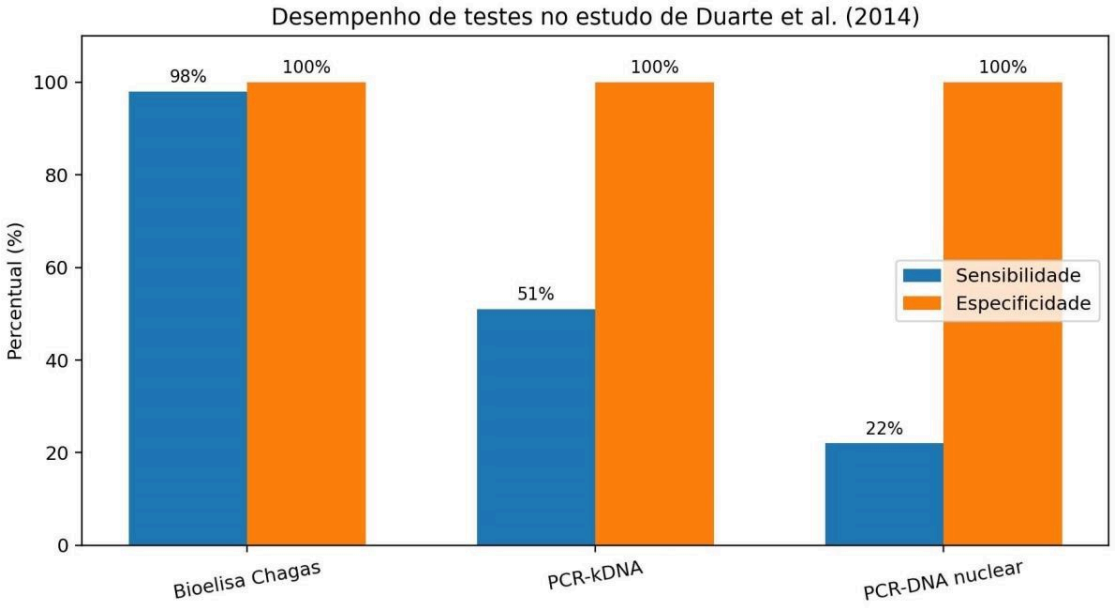
3.2. Desempenho da PCR e da qPCR

A PCR apresentou especificidade elevada de forma relativamente consistente, mas a sensibilidade foi muito mais variável. A revisão de Brasil et al. (2010) estimou que a sensibilidade da PCR poderia situar-se entre 50% e 90%, com especificidade próxima de 100%, enquanto Duarte et al. (2014) observaram 51% de sensibilidade para PCR-kDNA e 22% para PCR direcionada a DNA nuclear, ambas com especificidade de 100%. Em sentido diferente, Castro et al. (2002) encontraram 86,7% de positividade cumulativa para PCR após três coletas em 60 pacientes crônicos.

Os resultados de Melo et al. (2015) demonstraram o potencial de uma qPCR multiplex com sondas TaqMan. Entre 40 pacientes crônicos e 20 controles, a sensibilidade foi de 97,5% em sangue e 95% em soro, enquanto a especificidade foi de 100% nas duas matrizes. A carga parasitária mediana foi de 1,23 equivalente parasitário/mL no sangue e 1,12 equivalente parasitário/mL no soro. Embora os resultados tenham sido favoráveis, os próprios autores observaram que algumas cargas ficaram próximas ou abaixo do limite de quantificação, o que limita a precisão da quantificação em valores muito baixos.

D'Ávila et al. (2018) analisaram 135 amostras provenientes de 91 pacientes crônicos e encontraram positividade de 58,5% para qPCR e 49,6% para hemocultura. A mediana da carga parasitária entre amostras positivas foi de 1,18 equivalente parasitário/mL, com variação de 0,01 a 116,10. A análise conjunta revelou 38,5% das amostras positivas para os dois métodos, 20,0% positivas apenas para qPCR e 11,1% positivas apenas para hemocultura. O achado mostrou que a qPCR pode detectar amostras que permanecem negativas na hemocultura, mas também confirmou que as duas metodologias não são intercambiáveis.

Figura 1. Sensibilidade e especificidade relatadas por Duarte et al. (2014) para três metodologias avaliadas em pacientes na fase crônica.



Fonte: adaptado de Duarte et al. (2014). Observação: os percentuais apresentados correspondem exclusivamente à população e aos métodos avaliados naquele estudo e não representam desempenho universal de todas as plataformas de PCR ou sorologia.

3.3. Influência da Baixa e Intermitente Parasitemia

A baixa parasitemia foi identificada como o principal fator biológico responsável pela variabilidade da PCR na fase crônica. Castro et al. (2002) demonstraram que a repetição das coletas aumentou a positividade cumulativa: três amostras permitiram alcançar 86,7% de positividade para PCR, enquanto a hemocultura alcançou 70%. Entre as 180 amostras avaliadas, 41,1% foram positivas simultaneamente para PCR e hemocultura, 22,2% foram positivas apenas para PCR e 4,4% apenas para hemocultura.

Os resultados de D'Ávila et al. (2018) reforçaram a ideia de que a detecção molecular depende do momento da coleta. O estudo encontrou ampla variação de carga parasitária e observou resultados discordantes entre qPCR e hemocultura. Essa heterogeneidade é coerente com a natureza intermitente da parasitemia crônica e explica por que um único resultado negativo de PCR não deve ser interpretado, isoladamente, como exclusão da infecção.

Melo et al. (2015) demonstraram que a matriz também interfere na quantidade detectável. Embora sangue e soro tenham apresentado desempenhos próximos em seu protocolo, os valores de Ct (ciclo limite) foram maiores no soro e a carga parasitária permaneceu muito baixa. Assim, a escolha da matriz deve ser considerada junto com o objetivo do exame e com o protocolo validado pelo laboratório.

3.4. Fatores Técnicos e Padronização

A revisão dos estudos identificou como fatores críticos o método de extração de DNA, o volume de amostra, a região-alvo, os primers e sondas, a plataforma de amplificação, os controles internos e a diversidade genética do parasito. Pinazo *et al.* (2023) destacaram que os ensaios moleculares podem apresentar maior automação e capacidade de controle de qualidade, mas permanecem condicionados ao custo dos reagentes, à infraestrutura e à disponibilidade de laboratórios capacitados.

A diversidade genética de *T. cruzi* acrescenta outra camada de complexidade. Um alvo molecular eficiente para determinada população pode apresentar desempenho diferente em outra população com composição distinta de unidades discretas de tipagem. Por esse motivo, a escolha de primers e alvos deve considerar a abrangência esperada do ensaio e sua validação analítica.

Os estudos mais recentes indicam avanço em direção a protocolos mais harmonizados. Schijman *et al.* (2024) destacaram que as técnicas moleculares apresentam potencial de automação, quantificação e maior rendimento, mas que a validação, o acesso e a

implementação continuam sendo desafios. A padronização, portanto, não deve ser entendida apenas como uniformização do equipamento, mas como controle de todas as etapas pré-analíticas, analíticas e pós-analíticas.

3.5. PCR no Acompanhamento Terapêutico

A literatura analisada mostrou uma diferença fundamental entre os marcadores sorológicos e moleculares após o tratamento. A sorologia pode permanecer positiva durante período prolongado, enquanto a PCR pesquisa a presença de DNA parasitário detectável. Por isso, a PCR pode fornecer uma informação mais próxima da parasitemia no momento avaliado, embora um resultado negativo não seja suficiente para provar erradicação definitiva do parasito.

No estudo STOP-CHAGAS, Morillo et al. (2017) utilizaram RT-PCR seriada nos dias 30, 60, 90, 120, 150, 180 e 360 para avaliar resposta ao tratamento em 120 participantes assintomáticos. A proporção com RT-PCR persistentemente negativa no dia 180 foi de 80% no grupo benznidazol associado a placebo e 86,7% no grupo de benznidazol em monoterapia; no dia 360, ambos os grupos alcançaram 96%. O estudo demonstrou a utilidade da RT-PCR como marcador parasitológico de acompanhamento, mas também mostrou que a interpretação deve considerar o tempo de seguimento e o risco de repositivação.

Sulleiro et al. (2020) acompanharam 370 pacientes crônicos tratados com benznidazol por mediana de quatro anos. Oito pacientes (2,2%) apresentaram pelo menos um episódio de qPCR positivo após o tratamento e foram considerados casos de possível falha terapêutica. Os autores observaram que a interrupção do tratamento esteve

associada à positividade durante o seguimento e defenderam o monitoramento regular por qPCR como instrumento para identificação precoce de parasitemia. Apenas quatro pacientes, cerca de 1% da coorte, apresentaram clareamento de anticorpos antiT. cruzi durante o acompanhamento, ilustrando a diferença temporal entre os marcadores molecular e sorológico.

D'Ávila et al. (2018) acrescentaram que a quantificação da carga parasitária pode ter utilidade não apenas para detectar o parasito, mas também para acompanhar sua dinâmica. Entretanto, a existência de cargas próximas ao limite inferior de quantificação exige cautela, pois pequenas diferenças entre amostras podem refletir limitações analíticas e não necessariamente mudança biológica importante.

3.6. PCR na Reativação em Imunossuprimidos

A imunossupressão modifica a relação entre hospedeiro e parasito e pode permitir aumento da parasitemia. Nesse contexto, a PCR apresenta uma vantagem conceitual: permite pesquisar diretamente material genético do parasito em intervalos seriados, enquanto os anticorpos não constituem marcador adequado para detectar rapidamente aumento de parasitemia.

Freitas *et al*. (2011) avaliaram a qPCR em pacientes com coinfecção HIV/T. cruzi, com e sem reativação, e relacionaram os achados moleculares a parâmetros da infecção pelo HIV, incluindo carga viral e contagem de células CD4+. O estudo contribuiu para demonstrar a importância da detecção molecular em um cenário no qual a identificação precoce de aumento da parasitemia possui relevância clínica.

Revisões recentes incorporaram a reativação entre as situações nas quais os métodos moleculares têm maior utilidade clínica. Pinazo *et al.* (2023) destacaram a aplicação da PCR na vigilância de pacientes imunossuprimidos, especialmente porque o aumento da parasitemia pode ocorrer antes de manifestações clínicas evidentes. Dessa forma, o valor da PCR nesse contexto está menos relacionado à substituição da sorologia para diagnosticar a infecção original e mais à capacidade de acompanhar a presença e a evolução do parasito.

Quadro 2. Comparação funcional entre sorologia e PCR

Aspecto	**Sorologia clássica**	**PCR/qPCR**	**Implicação clínica**	**Principal cuidado**
Alvo	Anticorpos anti-T. cruzi	DNA do parasito	Perguntas biológicas diferentes	Não tratar os resultados como equivalentes
Fase crônica	Principal base diagnóstica	Complementar	Confirmação + investigação molecular	PCR negativa não exclui sozinha
Sensibilidade	Geralmente elevada em bons ensaios	Variável	Depende do protocolo	Considerar contexto e referência
Especificidade	Elevada, mas dependente do teste	Frequentemente alta analiticamente	Útil em casos selecionados	Controlar reações cruzadas e contaminação
Após tratamento	Pode permanecer positiva por	Pode detectar parasitemia	Útil no seguimento	Negatividade molecular não prova

	longo período	residual detectável		cura definitiva
Reativação	Limitação para resposta rápida	Útil para vigilância seriada	Aumenta capacidade de detecção precoce	Interpretar junto à clínica
Infraestrutura	Mais difundida	Exige estrutura molecular	Impacta acesso no SUS	Validar método e controles

Fonte: elaborado pela autora.

A primeira questão a ser discutida é a diferença entre especificidade analítica e sensibilidade clínica. A PCR amplifica uma sequência específica e, quando o alvo está presente e o ensaio é adequadamente controlado, pode apresentar especificidade muito elevada. Isso, entretanto, não significa que todo paciente crônico infectado apresente DNA detectável na amostra analisada. A fase crônica caracteriza-se justamente por parasitemia baixa e flutuante. Portanto, o teste pode ser altamente específico e simultaneamente apresentar sensibilidade clínica limitada. Essa distinção é fundamental para evitar a interpretação equivocada de que uma tecnologia molecular mais sofisticada necessariamente será mais sensível em todas as circunstâncias.

Os resultados históricos e recentes ajudam a compreender essa questão. Brasil *et al.* (2010) identificaram sensibilidade de PCR provavelmente situada entre 50% e 90% e especificidade próxima de 100%, enquanto Duarte *et al.* (2014) encontraram sensibilidades ainda menores em algumas PCRs convencionais. Por outro lado, Melo et al. (2015) alcançaram 95% de sensibilidade em soro e 97,5% em sangue com uma estratégia qPCR multiplex específica. A

diferença não representa necessariamente contradição entre os trabalhos. Ela evidencia a influência do desenho do ensaio, da matriz, do alvo, da população e do padrão de referência.

Outro ponto relevante é o efeito do número de coletas. Castro et al. (2002) demonstraram que três amostras elevaram a positividade cumulativa da PCR para 86,7%, enquanto a hemocultura alcançou 70%. Esse resultado é coerente com a hipótese de que a repetição de amostras aumenta a chance de capturar momentos nos quais o DNA parasitário está presente em quantidade detectável. D'Ávila et al. (2018), ao encontrar resultados discordantes entre qPCR e hemocultura, reforçaram que uma única coleta representa apenas um recorte da dinâmica parasitária.

A quantificação por qPCR acrescenta uma dimensão que a PCR convencional não oferece da mesma maneira. Melo et al. (2015) mostraram que cargas parasitárias muito baixas podem ser quantificadas em sangue e soro, embora parte das amostras esteja próxima dos limites inferiores do ensaio. D'Ávila et al. (2018) também observaram ampla faixa de cargas parasitárias, de 0,01 a 116,10 equivalentes parasitários/mL nas amostras positivas. Isso indica que o valor da qPCR não está somente em classificar uma amostra como positiva ou negativa, mas em possibilitar acompanhamento da dinâmica da parasitemia quando o método apresenta desempenho quantitativo validado. No acompanhamento terapêutico, a diferença entre marcador imunológico e marcador molecular torna-se ainda mais evidente. A persistência de anticorpos limita a utilização da sorologia como marcador precoce de resposta. O STOP-CHAGAS demonstrou que a RTPCR pode ser utilizada seriamente em diferentes pontos do seguimento, enquanto Sulleiro et al. (2020) mostraram que a qPCR identificou episódios de positividade após

tratamento em uma pequena proporção da coorte acompanhada. Esses achados sustentam a utilidade da PCR como marcador de acompanhamento, mas não autorizam interpretar negatividade molecular isolada como prova definitiva de cura, uma vez que a parasitemia também pode oscilar abaixo do limite de detecção.

A reativação em pacientes imunossuprimidos representa outra situação na qual a PCR pode oferecer vantagem operacional. Quando a resposta imune está comprometida, a vigilância da presença do parasito torna-se mais relevante, e a detecção molecular seriada pode anteceder manifestações clínicas. Freitas *et al.* (2011) contribuíram para essa linha de evidência ao estudar coinfecção HIV/*T. cruzi*, e Pinazo *et al.* (2023) incluíram a reativação entre as principais aplicações clínicas dos métodos moleculares.

A discussão também precisa considerar a infraestrutura. A PCR requer equipamentos, reagentes, controles, treinamento e processos de prevenção de contaminação. A sorologia, por outro lado, possui maior disseminação na rotina laboratorial. Assim, uma estratégia que determine PCR para todos os pacientes crônicos seria pouco compatível com a lógica de racionalização de recursos. A utilização direcionada, baseada na finalidade clínica, tende a ser mais coerente: sorologia para confirmação da infecção crônica; PCR/qPCR para cenários em que a informação molecular acrescenta valor; e repetição ou combinação de métodos quando a parasitemia baixa comprometer a interpretação.

Essa complementaridade também responde ao objetivo de propor melhorias para o sistema de saúde. O fluxo diagnóstico pode ser aperfeiçoado não pela simples substituição de um teste por outro, mas pela definição de indicações claras. Um primeiro nível pode

utilizar sorologia de alta qualidade e confirmação por método diferente; diante de discordância persistente, uma metodologia molecular validada pode ser considerada. Em acompanhamento pós-tratamento ou em imunossupressão, a qPCR pode assumir papel mais frequente, sempre acompanhada de interpretação clínica. Essa organização pode reduzir repetições desnecessárias, melhorar a utilização dos recursos de referência e diminuir o tempo até uma decisão clínica.

Os resultados desta revisão responderam aos objetivos inicialmente estabelecidos ao mostrar que a relação entre sorologia e PCR na doença de Chagas crônica é de complementaridade, e não de substituição automática. A sorologia apresentou maior estabilidade como estratégia de confirmação da infecção porque detecta a resposta imune mesmo quando a parasitemia é baixa. A PCR, por sua vez, agregou informação diretamente relacionada à presença de DNA parasitário detectável, com aplicações particularmente relevantes em situações de resultado sorológico inconclusivo, acompanhamento terapêutico e vigilância de reativação.

Os achados também evidenciam a necessidade de padronização. A variabilidade observada entre estudos não decorre apenas da biologia do parasito; resulta também de diferenças pré-analíticas, analíticas e pós-analíticas. A quantidade de sangue coletada, a forma de armazenamento, o método de extração, o alvo genético, os primers, a presença de controles internos e o critério de positividade precisam ser claramente definidos. A validação deve ser realizada para a plataforma e para a população em que o ensaio será empregado.

Uma limitação importante desta revisão foi a heterogeneidade do corpus. Os estudos não utilizaram necessariamente a mesma definição de caso, a mesma matriz, o mesmo padrão de referência ou o mesmo protocolo molecular. Por isso, não foi apropriado calcular uma nova estimativa combinada de sensibilidade e especificidade. A apresentação de valores foi feita como descrição dos estudos individuais, evitando que um número obtido em uma população específica fosse transformado em regra geral.

4. CONCLUSÃO

A presente revisão demonstrou que o diagnóstico da doença de Chagas na fase crônica continua dependente de uma abordagem integrada. A sorologia permanece como principal base para confirmação da infecção porque apresenta ampla disponibilidade, elevada capacidade de detectar resposta imune específica e desempenho geralmente favorável quando são utilizados testes complementares. A recomendação de utilizar metodologias sorológicas com princípios ou preparações antigênicas diferentes continua relevante para reduzir a possibilidade de resultados discordantes.

A PCR e, principalmente, a qPCR apresentaram avanços importantes. Os estudos analisados demonstraram capacidade de detectar DNA de *T. cruzi,* quantificar cargas parasitárias muito baixas em determinados protocolos e acompanhar a presença do parasito ao longo do tempo. A utilidade molecular foi particularmente evidente no monitoramento após tratamento e na vigilância de reativação em indivíduos imunossuprimidos. Também foi demonstrado que a repetição de amostras pode aumentar a

possibilidade de detecção em razão da natureza intermitente da parasitemia crônica.

Entretanto, os resultados não sustentaram a substituição universal da sorologia pela PCR. A sensibilidade molecular apresentou grande variação entre estudos, e essa diferença esteve relacionada à carga parasitária, matriz, volume de amostra, extração de DNA, alvo molecular, primers, plataforma e diversidade genética de *T. cruzi.* Consequentemente, um resultado negativo de PCR não deve ser utilizado isoladamente para excluir infecção crônica.

Os objetivos específicos também foram contemplados. A comparação de desempenho mostrou que a sorologia apresenta papel central, enquanto a PCR possui desempenho dependente do protocolo. As limitações técnicas foram identificadas principalmente na etapa pré-analítica, na padronização dos alvos e controles e na interpretação de cargas muito baixas. A utilidade clínica foi demonstrada no acompanhamento terapêutico e na reativação. Por fim, a análise permitiu propor uma integração racional entre métodos como caminho mais consistente para o aprimoramento dos fluxos diagnósticos.

Conclui-se, portanto, que o principal avanço não está em substituir um método pelo outro, mas em utilizar cada tecnologia de acordo com a pergunta clínica que se pretende responder. A combinação de sorologia e PCR/qPCR, apoiada por protocolos padronizados, controle de qualidade, capacitação profissional e acesso adequado aos laboratórios de referência, apresenta potencial para tornar o diagnóstico da doença de Chagas crônica mais seguro, informativo e eficiente. Para o Sistema Único de Saúde, a consolidação dessa abordagem depende não apenas de inovação tecnológica, mas

também de estratégias de implementação que garantam que os recursos moleculares estejam disponíveis quando realmente acrescentarem valor ao cuidado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL, Pedro E. A. A.; DE CASTRO, Liane; HASSLOCHER-MORENO, Alejandro M.; SANGENIS, Luiz H. C.; BRAGA, José U. ELISA versus PCR for diagnosis of chronic Chagas disease: systematic review and meta-analysis. BMC Infectious Diseases, v. 10, art. 337, 2010. DOI: 10.1186/1471-2334-10-337. Disponível em: https://doi.org/10.1186/1471-2334-10-337. Acesso em: 2 out. 2026.

CASTRO, A. M.; LUQUETTI, A. O.; RASSI, A.; RASSI, G. G.; CHIARI, E.; GALVÃO, L. M. C. Blood culture and polymerase chain reaction for the diagnosis of the chronic phase of human infection with Trypanosoma cruzi. Parasitology Research, v. 88, n. 10, p. 894-900, 2002. DOI: 10.1007/s00436-002-0679-3. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00436-002-0679-3. Acesso em: 2 out. 2026.

D'ÁVILA, Daniella Alchaar; GALVÃO, Lúcia Maria C.; SOUSA, Giovane R.; BRITTO, Constança; MOREIRA, Otacilio C.; CHIARI, Egler. Monitoring the parasite load in chronic Chagas disease patients: comparison between blood culture and quantitative real time PCR. PLOS ONE, v. 13, n. 11, e0208133, 2018. DOI: 10.1371/journal.pone.0208133. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208133. Acesso em: 2 out. 2026.

DIAS, João Carlos Pinto et al. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2015. Epidemiologia e Serviços de Saúde, Brasília, v. 25, n. esp., p. 7-86, 2016. DOI: 10.5123/S1679-49742016000500002. Disponível

em: https://doi.org/10.5123/S167949742016000500002. Acesso em: 2 out. 2026.

DUARTE, Luisa Fernanda et al. Comparison of seven diagnostic tests to detect Trypanosoma cruzi infection in patients in chronic phase of Chagas disease. Colombia Médica, Cali, v. 45, n. 2, p. 61-66, 2014. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95342014000200003. Acesso em: 2 out. 2026.

FREITAS, Vera Lúcia Teixeira de et al. Real-Time PCR in HIV/Trypanosoma cruzi Coinfection with and without Chagas Disease Reactivation: Association with HIV Viral Load and CD4+ Level. PLOS Neglected Tropical Diseases, v. 5, n. 8, e1277, 2011. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001277. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001277. Acesso em: 2 out. 2026.

LOPEZ-ALBIZU, Constanza; RIVERO, Rocío; BALLERING, Griselda; FREILIJ, Hector; SANTINI, María Soledad; BISIO, Margarita María Catalina. Laboratory diagnosis of Trypanosoma cruzi infection: a narrative review. Frontiers in Parasitology, v. 2, 1138375, 2023. DOI: 10.3389/fpara.2023.1138375. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fpara.2023.1138375. Acesso em: 2 out. 2026.

MAIA, A. R. S. Detecção do DNA de Trypanosoma cruzi por PCR-MULTIPLEX em sangue de pacientes com suspeita de doença de Chagas crônica e em dejetos de triatomíneos utilizados para xenodiagnóstico. 2012. 132 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Fortaleza, 2012.

MELO, Myllena F.; MOREIRA, Otacilio C.; TENÓRIO, Priscila et al. Usefulness of real time PCR to quantify parasite load in serum samples from chronic Chagas disease patients. Parasites & Vectors, v. 8, art. 154, 2015. DOI: 10.1186/s13071-015-0770-0. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s13071-015-0770-0. Acesso em: 2 out. 2026.

MORILLO, Carlos A.; WASKIN, Hetty; SOSA-ESTANI, Sergio et al. Benznidazole and Posaconazole in Eliminating Parasites in Asymptomatic T. cruzi Carriers: The STOP-CHAGAS Trial. Journal of the American College of Cardiology, v. 69, n. 8, p. 939-947, 2017. DOI: 10.1016/j.jacc.2016.12.023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.12.023. Acesso em: 2 out. 2026.

MURPHY, N. Development of Rapid Diagnostic Tests for Trypanosoma cruzi Lineage-Specific Serology, Comparative Epidemiology and for Monitoring Efficacy of Chemotherapy. 2024. Thesis (PhD) – London School of Hygiene & Tropical Medicine, London, 2024. DOI: 10.17037/PUBS.04673813. Disponível em: https://doi.org/10.17037/PUBS.04673813. Acesso em: 2 out. 2026.

PINAZO, María-Jesús et al. Clinical use of molecular methods for Trypanosoma cruzi infection in endemic and non-endemic countries: Benefits, limitations and challenges. Frontiers in Parasitology, v. 2, 1241154, 2023. DOI: 10.3389/fpara.2023.1241154. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fpara.2023.1241154. Acesso em: 2 out. 2026.

SCHIJMAN, Alejandro G.; ALONSO-PADILLA, Julio; LONGHI, Santiago A.; PICADO, Albert. Parasitological, serological and molecular diagnosis of acute and chronic Chagas disease: from field to laboratory. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 117, e200444,

2022. DOI: 10.1590/0074-02760200444. Disponível em: https://doi.org/10.1590/0074-02760200444. Acesso em: 2 out. 2026.

SCHIJMAN, Alejandro Gabriel; ALONSO-PADILLA, Julio; BRITTO, Constança; HERRERA BERNAL, Claudia Patricia. Retrospect, advances and challenges in Chagas disease diagnosis: a comprehensive review. The Lancet Regional Health – Americas, v. 36, 100821, 2024. DOI: 10.1016/j.lana.2024.100821. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.lana.2024.100821. Acesso em: 2 out. 2026.

SULLEIRO, Elena; SILGADO, Aroa; SERRE-DELCOR, Núria; SALVADOR, Fernando; TAVARES DE OLIVEIRA, Maykon et al. Usefulness of real-time PCR during follow-up of patients treated with Benznidazole for chronic Chagas disease: Experience in two referral centers in Barcelona. PLOS Neglected Tropical Diseases, v. 14, n. 2, e0008067, 2020. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008067. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008067. Acesso em: 2 out. 2026.

---

[1] Discete do curso de Biomedicina da Afya Centro Universitário São João del-Rei/MG. E-mail: acesse o artigo original para visualizar o e-mail

[2] Docente do curso de Biomedicina da Afya Centro Universitário São João del-Rei/MG. E-mail: acesse o artigo original para visualizar o e-mail

[3] Docente do curso de Biomedicina da Afya Centro Universitário São João del-Rei/MG. E-mail: acesse o artigo original para visualizar o e-mail

[4] Docente do curso de Biomedicina da Afya Centro Universitário São João del-Rei/MG. E-mail: acesse o artigo original para visualizar o e-mail