

## XENODIAGNÓSTICO ARTIFICIAL "POST-MORTEM" EM CHAGÁSICOS CRÔNICOS

Edison Reis Lopes<sup>1</sup>, Edmundo Chapadeiro<sup>1</sup>, Zigman Brener<sup>2</sup>, José Umberto Franciscon<sup>1</sup>, Jarbas E. Cardoso<sup>2</sup>, Sheila J. Adad<sup>1</sup> e Sebastião Tostes Júnior<sup>1</sup>.

*A fim de obter metodologias que permitam estabelecer, com segurança, o diagnóstico "post-mortem" da infecção chagásica, adaptou-se o xenodiagnóstico artificial a necropsiados com diferentes tempos de óbito. O teste foi positivo em três (30%) de dez chagásicos autopsiados. O tempo decorrido entre o êxito letal e o início do repasto pelos triatomíneos destes chagásicos foi de duas horas, duas horas e quinze minutos e sete horas, respectivamente.*

*Discutem-se os fatores que podem explicar a sobrevivência do Trypanosoma cruzi no hospedeiro morto bem como as aplicações práticas do achado.*

Palavras chaves: Doença de Chagas. *Trypanosoma cruzi*. Xenodiagnóstico.

O xenodiagnóstico<sup>5</sup> constitui o método parasitológico indireto mais empregado para o diagnóstico da infecção chagásica crônica tanto no homem como em outros animais. Basicamente consiste no achado de formas infectantes do *Trypanosoma cruzi* nas fezes dos triatomíneos, a partir de 30 dias, aproximadamente, após terem sugado diretamente o sangue do animal. No homem a positividade no teste pode alcançar 49,3%<sup>16</sup> ou até 68,5%<sup>6</sup>.

O método pode também ser realizado "in vitro" sendo denominado xenodiagnóstico artificial<sup>3 14 15</sup>. Este também baseia-se na multiplicação do *T. cruzi* no triatomíneo, mas lança-se mão, para a alimentação deste hematófago, de sangue previamente retirado de animal ou de paciente.

A necessidade de estabelecer com segurança o diagnóstico "post-mortem" da infecção chagásica levou-nos a empregar xenodiagnóstico artificial usando-se sangue de indivíduos necropsiados em diferentes períodos após o óbito.

### MATERIAL E MÉTODOS

Em linhas gerais, foi utilizada a metodologia aplicada por Nussenzweig e col<sup>14</sup> para o xenodiagnóstico artificial. O sangue para alimentação dos triatomíneos, foi retirado de 10 (dez) cadáveres de

chagásicos crônicos com tempo de óbito variável de 2 a 14:30 horas (Tabela 1). Foi coletado logo após a retirada do coração<sup>8</sup> precedida de punção do líquido pericárdico para os testes sorológicos. O sangue coletado, cerca de 200 a 500 ml foi transferido para um frasco vazio, esterilizado. A seguir, este sangue foi distribuído em placas de Petri, esterilizadas, de 10 cm de diâmetro, que após receberem o sangue, foram fechadas com luvas cirúrgicas.

A etapa seguinte consistiu em colocar essas placas em contato com outros frascos contendo triatomíneos. Estes últimos frascos tinham suporte de papelão, quadriculados que abrigavam os insetos da luminosidade mais intensa e serviam para que os insetos pudessem alcançar a fonte de alimento, isto é, o sangue contido nas placas de Petri. Cada frasco continha de 20 a 50 ninfas do 3º estágio de *Triatoma infestans* e *Dipetalogaster maximus* (Tabela 1). O conjunto, placas de Petri - frascos com triatomíneos, foi levado à estufa a 37° C durante cerca de 60 minutos. Isto foi feito baseado no papel do termotropismo na alimentação dos hematófagos empregados<sup>13</sup>.

O diagnóstico da doença de Chagas nos cadáveres, dos quais se extraiu o sangue, foi feito baseado na positividade das reações (fixação de complemento, imunofluorescência e hemaglutinação) realizadas no líquido pericárdico<sup>10</sup>, bem como nos achados morfológicos macro e microscópicos do coração<sup>2</sup>.

Após 30 e 60 dias foi feita a pesquisa nas fezes obtidas por compressão abdominal dos triatomíneos individualmente, o que evitou sacrificá-los e com finalidade de posteriormente haver possibilidade de tentar-se o isolamento de cepas de *T. cruzi*.

### RESULTADOS

A Tabela 1 mostra os resultados com 30 e 60 dias após a realização do xenodiagnóstico, bem como os dados principais dos chagásicos necropsiados. O

1. Departamento de Patologia, Medicina Legal e Deontologia Médica da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais.

2. Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ, Belo Horizonte, Minas Gerais.

Financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (PIDE V).

Endereço para correspondência: Dr. Edison Reis Lopes, Deptº de Patologia, Medicina Legal e Deontologia Médica da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, 38100 - Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

Recebido para publicação em 25/3/1986.

Tabela 1 – Xenodiagnóstico artificial em cadáveres de chagásicos crônicos

Nº de ordem	Necrópsia (anos)	Idade (anos)	Sexo	Tempo de óbito (horas)	Nº insetos		Resultado		Observações
					Triatoma infestans	Dipetalogaster maximus	30 dias	60 dias	
1	22/84	44	M	3 1/2	20	20	Neg.	Neg.	M.S
2	28/84	28	M	2	40	NU	Neg.	Neg.	M.S
3	29/84	52	M	12	40	NU	Neg.	Neg.	I.C.C
4	30/84	46	M	7	40	NU	Neg.	Neg.	I.C.C
5	75/84	27	F	2 1/4	50	150	Pos.	Pos.	M.S
6	01/85	50	M	7	50	150	Neg.	Neg.	I.C.C + Marca passo + suicídio
7	14/85	33	M	7	NU	100	Pos.	Pos.	I.C.C+M.E
8	24/85	41	F	3 1/2	NU	100	Neg.	Não lido	M.S.
9	61/85	59	F	2	NU	150	Pos.	NR	M.S
10	84/85	49	M	14 1/2	NU	150	Neg.	Neg.	M.S

Observações: M.S = Morte Súbita  
M.E = Megaesôfago  
I.C.C = Insuficiência Cardíaca Congestiva  
Neg. = Negativo

Pos. = Positivo  
NR = Não realizado  
NU = Não utilizado

xenodiagnóstico foi positivo em 3 casos e todos ocorreram com *D. maximus*. A maioria dos triatomíneos empregados nos 10 (dez) testes foi capaz de sugar o sangue retirado dos cadáveres.

### DISCUSSÃO

Conforme demonstram os presentes resultados em três (30%) dos dez chagásicos necropsiados, nos quais aplicou-se o xenodiagnóstico artificial, havia *T. cruzi* no sangue que foi sugado pelos triatomíneos utilizados no teste. Nos casos positivos, o tempo decorrido entre o êxito letal do hospedeiro até o início do repasto pelos triatomíneos foi de respectivamente duas horas, duas horas e quinze minutos e sete horas. Estes resultados demonstram a possibilidade de dispor-se de mais de um método para o diagnóstico "post-mortem" da infecção chagásica.

A tanatosemiologia mostra-nos que os fenômenos cadavéricos iniciam-se em tempo variável após a morte. No sangue, a hemólise começa 2 a 3 horas após o óbito, mas há oxigênio disponível no cadáver até várias horas após o óbito. Tanto isto é verdade que germens aeróbios como, por exemplo, o *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris* e outros permanecem atuando até que se esgote o oxigênio disponível. A partir daí germens anaeróbios, produtores de grande quantidade de gases, passam a agir e desencadeiam a putrefação o que não ocorreu nos nossos casos. Por outro lado, a queda da temperatura do hospedeiro, após a morte, pode favorecer a sobrevivência do parasita. No cadáver a temperatura sofre queda de 0,8 a 1° C por hora nas doze primeiras horas, o que nos

leva a calcular que em nossos casos, no momento de necrópsia, os corpos parasitados pelo *T. cruzi* tinham temperaturas aproximadas entre 35 e 28° C. Experimentalmente a temperatura afeta a infecção chagásica<sup>4</sup>. Na temperatura de 35-37° C há clara redução da parasitemia e do número de parasitas intracelulares, diminuindo significativamente a mortalidade de animais inoculados aos passo que entre 10-18° C há aumento da virulência da infecção<sup>9</sup>. Vê-se portanto que não é de estranhar-se que o *T. cruzi* possa permanecer vivo até várias horas após a morte do corpo do hospedeiro.

Estes achados somados à metodologia já empregada para o diagnóstico "post-mortem" da doença de Chagas, tais como reações sorológicas convencionais<sup>10</sup> e a lise mediada por complemento<sup>12</sup> realizados no líquido pericárdico, constituem importante contribuição para o desenvolvimento das pesquisas em curso para um melhor conhecimento da doença de Chagas especialmente em sua forma indeterminada na qual, com frequência, são escassas ou não se observam alterações morfológicas<sup>11</sup>.

Outra dedução prática de nossos achados aplica-se ao transplante de órgãos. Há relatos na literatura, de aquisição da infecção chagásica, no homem, via transplante de rim<sup>7</sup> embora o órgão transplantado tenha sido retirado do doador vivo. Teoricamente os presentes dados, mostram que fato similar pode ocorrer mesmo com a retirada das vísceras após o óbito.

Nossos achados mostram também que há necessidade de precauções por parte daqueles que

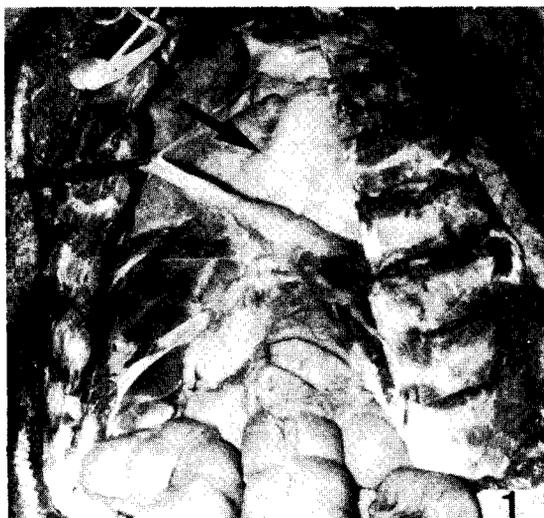


Figura 1 – Cavity pericárdica aberta. A seta indica o coração "in situ".

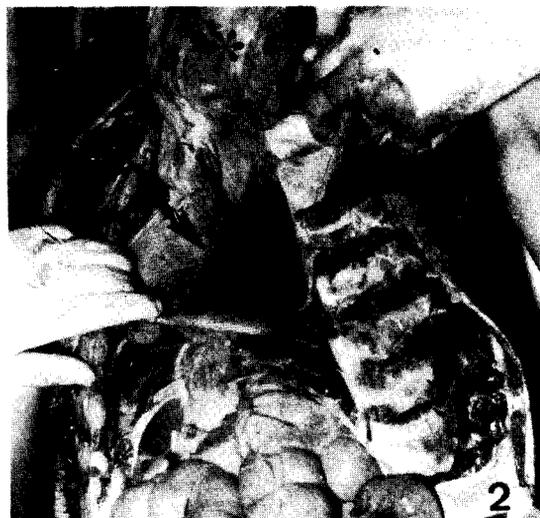


Figura 2 – Cavity pericárdica (seta) preenchida com sangue proveniente de secção da aorta. O asterisco indica coração rebaixado.



Figura 3 – Material utilizado para realização do xenodiagnóstico.

executam necrópsias, uma vez que ha condições de infecção pelo *T. cruzi*.

Finalmente, a possibilidade de obter-se xeno diagnósticos positivos após o óbito, abre também novos campos de estudo da patologia da doença de Chagas. A perspectiva de isolamento e caracterização do parasita que infecta o cadáver pode permitir estudos correlacionando achados anatomopatológicos com a cepa parasitária.

#### SUMMARY

Reliable post mortem diagnosis of Chagas' disease is highly desirable. Artificial xenodiagnosis

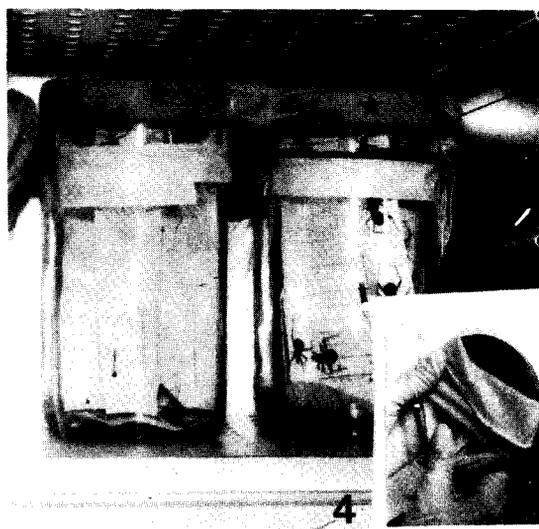


Figura 4 – Placas de Petri (asterisco) com sangue, aplicadas a frascos contendo triatomíneos estando o conjunto dentro de estufa a 37°C. No detalhe, placa de Petri contendo sangue, sendo fechada com luva cirúrgica.

was adapted for the human blood collected during autopsies in an attempt to reach that goal. The method was applied to ten proven chagasics. The test was positive in 3 (30%) of the cases which were autopsied 2, 2 1/4 and 7 hours after death.

*The survival of Trypanosoma cruzi in a dead host and the practical use of the findings are discussed.*

Key words: Chagas' disease. *Trypanosoma cruzi*. Xenodiagnosis.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos senhores José Antônio Alves Filho e Marta Aparecida Camilo, pelo auxílio na parte técnica e a senhora Sueli de Melo, pela parte datilográfica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bertelli MS. Influência da temperatura na diferenciação intracelular do *Trypanosoma cruzi* em cultura de tecido. Tese, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1975.
2. Bogliolo L. Miocárdio, endocárdio, pericárdio. In: Bogliolo L (ed) Patologia, 3ª edição, Guanabara-Koogan, 1982.
3. Borzone AR. Modificación de Borzone al método de Brumpt. In: Cornejo A. Enfermedad de Chagas - Mazza. Xenodiagnóstico. Semana Médica 56:181-183, 1949.
4. Brener Z. O parasita: relações hospedeiro-parasito. In: Brener A, Andrade Z. (ed). *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas, 1ª edição, Guanabara-Koogan, 1979.
5. Brumpt E. O xenodiagnóstico. Aplicação ao diagnóstico de algumas infecções parasitárias e, em particular à tripanossomose de Chagas. Anais Paulistas de Medicina e Cirurgia 3:97-102, 1914.
6. Castro CN. Influência da parasitemia no quadro clínico da doença de Chagas. Tese de Mestrado, Universidade de Brasília, 1978.
7. Chocair PR, Sabaga E, Amato Neto V, Shiroma M, Goes GM. Transplante de rim: nova modalidade de transmissão da doença de Chagas. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 23:280-182, 1981.
8. Franco EE. Manual Atlas de técnica de las autopsias, 1ª edição, Salvat Editores SA. Barcelona, 1929.
9. Kolodny MH. The effect of environmental temperature upon experimental trypanosomiasis (*Trypanosoma cruzi*) of rats. American Journal of Hygiene 32 (section C): 21-23, 1940.
10. Lopes ER, Chapadeiro E, Batista SM, Cunha Jr JG, Rocha A, Miziara L, Ribeiro JU, Patto RJ. "Post-mortem" diagnosis of chronic Chagas' disease: comparative evaluation of three serological tests on pericardial fluid. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 72: 244-246, 1978.
11. Lopes ER, Chapadeiro E, Andrade ZA, Almeida HO, Rocha A. Anatomia patológica de corações de chagásicos assintomáticos falecidos de modo violento. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 76:189-197, 1981.
12. Lopes ER, Pereira MES, Moraes C, Krettli AU, Brener Z. Anticorpos líticos detectados em líquido pericárdico de chagásicos crônicos. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 17:127-131, 1984.
13. Nicolle P, Mathis M. Le thermotropisme, facteur déterminant primordial pour la picure des Réduvidé hématophages. Compte Rendu Societé de Biologie 135:25-27, 1941.
14. Nussenzweig V, Sonntag R. Xenodiagnóstico artificial. Novo Processo. Primeiros resultados positivos. Revista Paulista de Medicina 40:41-43, 1953.
15. Romaña C, Gil L. Xenodiagnóstico artificial. Anales del Instituto de Medicina Regional 2:57-60, 1947.
16. Schenone H, Alfaro E, Rojas A. Bases y rendimiento del xenodiagnóstico en la infección chagásica humana. Boletín Chileno de Parasitología 29:24-26, 1974.