

## IMPORTÂNCIA DA REPETIÇÃO DO XENODIAGNÓSTICO PARA AVALIAÇÃO DA PARASITEMIA NA FASE CRÔNICA DA DOENÇA DE CHAGAS

Cleudson N. Castro, Maria Tereza Alves\* e Vanize O. Macêdo

*Selecionamos em Mambá (GO) 303 chagásicos com sorologia reagente, para estudo da parasitemia, realizada através de três xenodiagnósticos feitos com *Dipetalogaster maximus* e *Triatoma infestans*. Duzentos e dez (69,3%) pessoas apresentaram xenodiagnósticos positivos. O primeiro exame detectou parasitemia em 125 (41,2%) chagásicos, o segundo em outros 59 (19,5%) e o terceiro em mais 26 (8,6%) indivíduos. A positividade em 21 crianças de até nove anos foi 90,5%. Classificamos os chagásicos em três graus de parasitemia conforme a relação de "pools" positivos sobre "pools" examinados. Deste modo, 28 (9,2%) tiveram alta parasitemia, 73 (24,1%) média parasitemia e 202 (66,7%) baixa parasitemia. Nos indivíduos de alta e média parasitemia o *Trypanosoma cruzi* foi detectado nos dois primeiros xenodiagnósticos, enquanto nos de baixa parasitemia, a positividade de 22,8% no primeiro exame elevou-se para 41,1% e 54% no segundo e terceiro xenodiagnósticos, respectivamente. A repetição do xenodiagnóstico, especialmente nos indivíduos de baixa parasitemia, mostrou uma elevação significativa da positividade.*

Palavras chaves: Xenodiagnóstico. Parasitemia. Doença de Chagas, Diagnóstico Parasitológico. *Dipetalogaster maximus*.

O xenodiagnóstico é o método que tem oferecido melhores resultados no estudo parasitológico da fase crônica da doença de Chagas<sup>6 11 12 14</sup>. Este método é ainda mais valioso porque pode ser aplicado nos indivíduos, em casa, ou durante a atividade agrícola, por um auxiliar de saúde. No momento, este é o exame parasitológico mais prático, possível de ser realizado em larga escala em estudos de campo<sup>4 10 17</sup>.

A necessidade de se estabelecer o diagnóstico parasitológico a fim de selecionar pacientes para avaliar a eficácia de novas drogas tripanosomicidas, tem estimulado o aperfeiçoamento do xenodiagnóstico. Assim, Maekelt<sup>13</sup> utilizou maior número de triatomíneos por exame, centrifugou-os em "pool", filtrou o líquidificado e procedeu à leitura. Posteriormente, Schenone e cols.<sup>20 21 22</sup> passaram a realizar o xenodiagnóstico aplicando em

cada indivíduo duas caixas por dia, durante três dias consecutivos, examinando os insetos 30, 60 e 90 dias após o repasto. Cerisola e cols.<sup>6</sup> recomendam a aplicação simultânea de 40 insetos por exame e estudaram em insetário a longevidade, ovoposição, alimentação e produção em massa do *Triatoma infestans* com finalidade xenodiagnóstica. Pifano e cols.<sup>18</sup> mostraram em 1973, a vantagem de triatomíneos de maior tamanho sobre insetos menores. Um ano após, Marsden<sup>16</sup> transportou do México para o Brasil o *Dipetalogaster maximus* e Barreto e cols.<sup>1 2</sup> estudaram sua longevidade, fecundidade, ciclo ninfal e criação em massa, introduzindo-o para o xenodiagnóstico. Cuba e cols.<sup>8 9</sup> e Marsden e cols.<sup>1 5</sup> mostraram que o primeiro estágio do *D. maximus* equivale ao terceiro estágio do *T. infestans*, para demonstrar a parasitemia de chagásicos crônicos, com a vantagem da utilização do *D. maximus* em reduzir o trabalho e os custos de manutenção do insetário. No momento, o *D. maximus* de primeiro estágio é o único triatomíneo utilizado no Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília para os exames hospitalares e estudos de campo.

Estas pesquisas têm contribuído para uma maior sensibilidade do xenodiagnóstico, elevando

Núcleo de Medicina Tropical e Nutrição da Universidade de Brasília. Caixa Postal 153121 70919 Brasília-DF, Brasil.

\* Estudante de Medicina com Bolsa de Iniciação Científica do CNPq. Trabalho Financiado pelo CNPq, SIP/08-004 do PIDE.

Recebido para publicação em 3-1-83.

sua positividade que, em alguns laboratórios, era em redor de 30%<sup>7 19</sup> para igual ou superior a 50%<sup>6 19 21</sup>.

A finalidade deste trabalho é apresentar os resultados dos xenodiagnósticos realizados em grande número de indivíduos chagásicos na zona rural e enfatizar o valor da repetição deste exame no diagnóstico parasitológico dos casos crônicos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Esta investigação foi realizada no município de Mambai, Estado de Goiás, onde a prevalência de infecção chagásica, através de três diferentes sorologias, foi aproximadamente 30%. Em 1974, foram recenseadas no município 4.250 pessoas, das quais 3.740 viviam na zona rural, em habitações esparsas, que distam até 50 km da sede municipal. Foram estudadas aleatoriamente, através do xenodiagnóstico, 303 indivíduos que tinham as reações positivas de imunofluorescência indireta (IFI), hemaglutinação indireta (HI) e fixação do complemento (FC) para doença de Chagas e nunca tinham sido tratados especificamente. Dentre os 303 chagásicos, 240 tinham seis reações sorológicas positivas (duas IFI, duas HI e duas FC), 26 tinham cinco (duas IFI, uma HI e duas FC), 25 tinham três (IFI, HI e FC), 4 tinham quatro (duas IFI, uma HI e uma FC), 8 tinham três reações positivas (IFI, HI e FC) e três outras negativas (IFI, HI e FC). Como observamos, trinta chagásicos tinham quatro ou cinco determinações sorológicas positivas, porém uma ou duas reações foram: duvidosas, ou anticomplementares, negativas, ou o soro foi insuficiente para executá-las. As reações foram realizadas em alíquotas de um mesmo soro, em dois laboratórios de referência: por Cerisola em Buenos Aires, que expressou resultados qualitativamente, e por Camargo em São Paulo, que considerou a IFI e HI positivas na diluição de 1/40 ou maior e expressou a FC qualitativamente. Entretanto, 25 soros foram processados em apenas um laboratório.

Cento e dezoito pacientes eram do sexo masculino e 185 do sexo feminino, com idades compreendidas entre seis e sessenta anos ou mais. Trinta e dois residiam na sede municipal e 271 na zona rural.

A cada indivíduo foi explicado o método do xenodiagnóstico e todos os que aceitaram foram submetidos a três exames. O intervalo entre os

exames variou de três dias a mais de um ano, mas todos os xenodiagnósticos foram realizados entre julho de 1976 e setembro de 1978. Os xenodiagnósticos foram realizados quando os indivíduos estavam em casa, ou durante a ocupação na lavoura, sendo utilizadas duas espécies: o *T. infestans* de terceiro estágio e o *D. maximus* de primeiro estágio. A primeira espécie foi aplicada somente em 187 pessoas no primeiro xenodiagnóstico e o *D. maximus* foi usado no restante, totalizando 722 xenodiagnósticos. O total de exames realizados com as duas espécies de triatomíneos foi 909. Cada exame constou de quatro caixas de triatomíneos para o *D. maximus* e três para o *T. infestans* e cada caixa continha dez triatomíneos. Ao final dos três exames 43 pessoas que apresentaram xenodiagnósticos positivos e estavam na forma indeterminada fizeram tratamento específico.

Os insetos foram examinados aproximadamente 30 dias após o repasto e a unidade de exame foi o "pool". Quando em uma caixa havia insetos mortos um dos "pools" era formado com menos de 5. Cada "pool" obtido por dissecação intestinal de cinco triatomíneos foi depositado em lâmina, adicionado uma gota de salina, homogeneizado, retirado os restos intestinais e coberto com lâminula de 32 mm por 24 mm. O material foi examinado com aumento de 400x e as lâminas negativas foram observadas durante 15 a 20 minutos. Os triatomíneos mortos foram examinados, exceto os secos.

Após a leitura dos xenodiagnósticos, os pacientes foram classificados em três graus de parasitemia, de acordo com a percentagem do número de "pools" positivos, em relação ao número de "pools" examinados. A classificação foi: 1) Pacientes com alta parasitemia, quando 68% ou mais do total de "pools" examinados foram positivos. 2) Média parasitemia, quando 20 a 67,9% do total de "pools" examinados foram positivos. 3) Baixa parasitemia, quando zero a 19,9% do total de "pools" examinados foram positivos.

A análise estatística foi realizada através do teste de diferença de duas proporções.

## RESULTADOS

Dentre os 303 chagásicos estudados, 210 (69,3%) apresentaram xenodiagnósticos positivos, inclusive os oito que tinham três sorologias positivas e três negativas e 93 (30,6%) foram negativos.

Com referência ao sexo, dos 118 indivíduos masculinos, 89 (75,4%) apresentaram exames positivos, o mesmo ocorrendo com 121 (65,4%) entre os 185 do sexo feminino (Tabela 1), havendo positividade maior para os primeiros, estatisticamente significativa a nível de  $\alpha=0,05$ . Em relação à idade, o xenodiagnóstico foi mais positivo na primeira faixa etária (90,5%), decrescendo nas faixas etárias até os 49 anos (58,5%) e apresentando nova ascensão nas idades mais avançadas. Nas faixas de

40 a 49 e 50 a 59 anos houve elevação da positividade xenodiagnóstica no sexo masculino, maior que nas três faixas etárias precedentes, e muito maior que nas duas faixas correspondentes ao sexo feminino (Tabela 1). No conjunto, se compararmos os indivíduos xenopositivos até os 19 anos com os de 20 anos e mais, verificamos que o primeiro grupo apresenta maior positividade, estatisticamente significativa a nível de  $\alpha=0,01$  (Tabela 1).

Tabela 1 — Distribuição de 210 chagásicos com xenodiagnósticos positivos de acordo com a idade e sexo, entre 303 submetidos a três exames

Faixa Etária (anos)	Masculino			Feminino			Total		
	Examinados	Xenos Positivos		Examinados	Xenos Positivos		Examinados	Xenos Positivos	
	Nº	Nº	%	Nº	Nº	%	Nº	Nº	%
6 — 9	9	9	100,0	12	10	83,3	21	19	90,5
10 — 19	34	25	73,5	49	39	79,6	83	64	77,1
20 — 29	14	11	78,6	28	17	60,7	42	28	66,7
30 — 39	18	10	55,5	38	23	60,5	56	33	58,9
40 — 49	15	12	80,0	26	12	46,1	41	24	58,5
50 — 59	17	14	82,3	20	12	60,0	37	26	70,3
60 ≥	11	8	72,7	12	8	66,7	23	16	69,6
Total	118	89	75,4	185	121	65,4	303	210	69,3

(↔) A proporção de indivíduos xeno positivos até 19 anos é maior que dos 20 aos 60 (α = 0,01)

Considerando os 303 chagásicos em relação aos três xenodiagnósticos, observamos que no primeiro exame 125 (41,2%) pessoas apresentaram resultados positivos; no segundo exame, outras 59

(19,5%) e no terceiro mais 26 (8,6%) pessoas tornaram-se positivas, o que perfaz no final dos três exames uma positividade de 69,3% (Tabela 2).

Tabela 2 — Positividade segundo o grau de parasitemia entre 303 chagásicos submetidos a três xenodiagnósticos

Xenodiagnósticos	Alta Parasitemia 28		Média Parasitemia 73		Baixa Parasitemia 202		Total 303	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Primeiro	24	85,7	55	75,3	46	22,8	125	41,2
Segundo*	4	14,3	18	24,7	37	18,3	59	19,5
Terceiro**	0	0	0	0	26	12,9	26	8,6
Total	28	100,0	73	100,0	109	54,0	210	69,3

\* positivo no segundo xenodiagnóstico (negativo no 1º exame)

\*\* positivo no terceiro xenodiagnóstico (negativo no 1º e 2º exames)

Com referência ao nível de parasitemia, 28 (9,2%) pessoas foram classificadas com alta parasitemia, 73 (24,1%) com média e 202 (66,7%) com baixa parasitemia. A distribuição etária segundo o grau de parasitemia mostrou que 60,8% e 57,5% dos indivíduos com alta e média parasitemias, respectivamente, tinham até 19 anos, enquanto para o mesmo limite de idade, havia apenas 22,3% das pessoas com baixa parasitemia (Tabela 3). Analisando a positividade dos 28 indivíduos de alta parasitemia, 24 (85,7%) foram positivos no primeiro exame e quatro (14,3%) restantes o foram

no segundo exame. Dos 73 com média parasitemia, 55 (75,3%) apresentaram parasitemia no primeiro exame e 18 (24,7%) outros no segundo exame. Entre os 202 de baixa parasitemia, 46 (22,8%) foram positivos no primeiro xenodiagnóstico 37 (18,3%) outros tornaram-se positivos no segundo exame e 26 (12,9%) só se tornaram positivos no terceiro xenodiagnóstico, o que perfaz um total de 109 (54%) pessoas positivas no final dos três exames (Tabela 2). Noventa e três (46%) pessoas com baixa parasitemia foram negativas nos três xenodiagnósticos.

Tabela 3 — Distribuição de 303 chagásicos de acordo com a idade e o nível de parasitemia

Faixa Etária (anos)	Alta Parasitemia		Média Parasitemia		Baixa Parasitemia	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
6 — 9	5	17,9	10	13,7	6	3,0
10 — 19 ←	12	42,9 ←	32	43,8 ←	39	19,3 ←
20 — 29	2	7,1	6	8,2	43	16,8
30 — 39	4	14,3	8	11,0	44	21,8
40 — 49	2	7,1	3	4,1	36	17,8
50 — 59	2	7,1	8	11,0	27	13,4
60 ≥	1	3,6	6	8,2	16	7,9
<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>100,0</b>	<b>73</b>	<b>100,0</b>	<b>202</b>	<b>100,0</b>

(←) Na alta e média parasitemias predominam jovens de até 19 anos e na baixa parasitemia, pessoas de 20 a 60 ≥ anos ( $\alpha < 0,01$ )

## DISCUSSÃO

Na maioria dos pacientes que tiveram xenodiagnóstico positivo, a parasitemia foi detectada no primeiro exame, todavia nos dois exames subsequentes foi possível detectar parasitemia em outros 85 (28,1%) chagásicos. Este acréscimo de positividade em xenodiagnósticos seriados já havia sido assinalado por Freitas <sup>11</sup> quando, entre os pacientes estudados, analisou 32 que tornaram-se positivos ao realizarem três exames, sendo que 17 (53,1%) foram positivos no primeiro exame, 9 (28,1%) outros no segundo e 6 (18,7%) só foram positivos no terceiro exame.

Todos os indivíduos com alta e média parasitemia apresentaram resultados positivos com apenas dois xenodiagnósticos. De modo diverso comportaram-se os chagásicos de baixa parasitemia. Nestes, o primeiro xenodiagnóstico proporcionou uma positividade de apenas 22,8% e os dois exames subsequentes elevaram-na para 54%. Nestes pacientes, que são a maioria nas áreas endêmicas, há nítida vantagem na repetição do xenodiagnóstico pois exames seriados provavelmente sempre aumentam a positividade, ao menos nas primeiras repetições. Trinta chagásicos de nosso estudo que foram negativos nos três exames, ao realizarem um quarto xenodiagnóstico, seis tornaram-

se positivos. É provável que se repetirmos mais exames outras pessoas revelem parasitemia. Contudo, é difícil estabelecer quantos xenodiagnósticos tornam-se necessários para detectar parasitemia, no maior número possível de pessoas soropositivas.

Consideramos elevada a positividade de 69,3%, tendo em conta que para este trabalho foram selecionados, apenas, indivíduos com sorologia reagente. Este resultado é superior aos 43% de positividade encontrados por Boianain e Rassi<sup>3</sup> em cardiopatas crônicos que realizam três xenodiagnósticos. Nossos achados sugerem que pacientes soropositivos não tratados, devem ter parasitemia possível de ser detectada se o xenodiagnóstico for reiteradamente repetido, embora na prática este objetivo seja de difícil execução. Por outro lado, mesmo aqueles pacientes com xenodiagnósticos prévios positivos, é difícil demonstrar parasitemia em todos em exames posteriores. Salgado<sup>19</sup>, Cerisola e Rohwedder<sup>5</sup> conseguiram demonstrar parasitemia em todos os chagásicos crônicos mas para isto, realizaram um xenodiagnóstico mensal durante sete e dez meses, respectivamente.

Quanto à elevação da positividade xenodiagnóstica em ambos os sexos, nos indivíduos das últimas faixas etárias, não temos explicação satisfatória. Mais difícil é explicar porque nestas faixas etárias a positividade foi muito maior nos indivíduos do sexo masculino (Tabela 1). De qualquer modo, destacamos que 69,6% dos chagásicos com 60 ou mais anos apresentaram xenodiagnósticos positivos. Dentre estes, sete tinham 70 ou mais anos, sendo o mais velho de 74 anos. Admitindo-se que a maioria das infecções ocorrem nos primeiros anos de vida, infere-se que o indivíduo pode permanecer com parasitemia durante toda sua existência, sendo um reservatório longevo do *T. cruzi*.

### SUMMARY

In Mambai (GO), 303 people with positive serology for *T. cruzi* were subjected to three xenodiagnoses, using two bugs species, *Dipetalogaster maximus* and *Triatoma infestans* in order to study subpatent parasitemia. Two hundred and ten (69,3%) had a positive xenodiagnosis. The first test detected parasites in 125 (41,2%), the second in 59 (19,5%) and the third in a further 26 (8,6%) individuals. In 21 children up to nine years of age 90,5% were positive. Patients were classified in three groups depending on the intensity of infection detected in the bug fae-

ces. Using these criteria, 28 (9,2%) had high parasitemia, 73 (24,1%) had moderate parasitemia and 202 (66,7%) low parasitemia. High and moderate parasitemia were detected during the first two examination. Of the low parasitemia group 22,8% were positive in the first, 41,1% on the second and 54% on the third examination. The value of repeated xenodiagnosis, specially in people with small numbers of circulating parasites, is indicated by the date presented.

Key words: Xenodiagnosis. Parasitemia. Chagas disease. Parasitological diagnosis. *Dipetalogaster maximus*.

### AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos guardas sanitários Srs. Domingos das Virgens e Irani Magalhães, pela colaboração no trabalho de campo; à Srt<sup>a</sup> Maria Angelica das Virgens pelo auxílio na leitura dos xenodiagnósticos e ao professor Lauro Patzlaff, pela orientação nos testes estatísticos.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barreto AC, Marsden PD, Cuba CC, Alvarenga NJ. Estudo preliminar sobre o emprêgo de *Dipetalogaster maximus* (Uhler 1894) (Triatominae) na técnica do xenodiagnóstico em forma crônica de doença de Chagas. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 20:183-189, 1978
2. Barreto AC, Prata A, Marsden PD, Cuba CC, Trigueira CP. Aspectos biológicos e criação em massa de *Dipetalogaster maximus* (Uhler, 1894) (Triatominae). Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 23:18-27, 1981
3. Boianain E, Rassi A. Quadro Clínico e diagnóstico. Diálogo Médico, doença de Chagas. Publicação da Roche. Gráfica Olímpica Editora — Rio. Ano 5 nº 4.
4. Castro CN. Influência da parasitemia no quadro clínico da doença de Chagas. Revista de Patologia Tropical 9(1/2) :73-136, 1980
5. Cerisola JA., Rohwedder R. Comportamiento de la parasitemia y el inmunodiagnostico de la infección chagásica crónica. In: Sociedad Argentina de Parasitología (ed) Simposio internacional sobre Enfermedad de Chagas. Buenos Aires, p 271-275, 1972
6. Cerisola JA, Rohwedder R, Segura EL, Del Prado CE, Alvarez Me, De Martini GJW. El Xenodiagnóstico. Buenos Aires, 1974
7. Chiari E, Brener Z. Contribuição ao diagnóstico parasitológico da doença de Chagas na sua fase

- crônica. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 8:134-138, 1966
8. Cuba CC, Alvarenga NJ, Barreto AC, Marsden PD, Chiarini C. Nuevos estudios comparativos entre *Dipetalogaster maximus* y *Triatoma infestans* en el xenodiagnóstico de la infección chagásica crónica humana. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 20:145-151, 1978
  9. Cuba CC, Alvarenga NJ, Barreto AC, Marsden PD, Macedo V, Gama MP. *Dipetalogaster maximus* (Hemiptera, Triatominae) for xenodiagnosis of patients with serologically detectable *Trypanosoma cruzi* infection. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 73:524-527, 1979
  10. Dubois L. Morbidade da doença de Chagas. Estudo seccional em uma área endêmica. Tese de mestrado, FMUFRJ 82p, 1977
  11. Pedreira de Freitas JL. Contribuição para o estudo do diagnóstico da moléstia de Chagas por processos de laboratório. Tese de doutoramento FMUSP p 169, 1947
  12. Hoff R, Mott KE, Silva JF, Menezes V, Hoff NJ, Barret TV, Sherlock I. Prevalence of parasitemia and seroreactivity to *Trypanosoma cruzi* in a rural population of northeast Brasil. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 28:461-466, 1979
  13. Maekelt GA. A modified procedure of xenodiagnosis for Chagas disease. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 13:11-15, 1964
  14. Marsden PD, Mott KE, Prata A. The prevalence of *Trypanosoma cruzi* parasitemia in 8 families in a endemic area. Gazeta Médica da Bahia 69:65-69, 1969
  15. Marsden PD, Barreto AC, Cuba CC, Gama MB, Ackers J. Improvements in routine xenodiagnosis with first instar *Dipetalogaster maximus* (Uhler, 1894) (Triatominae). The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 28:649-652, 1979
  16. Marsden PD, Cuba CC, Alvarenga NJ, Barreto AC. Report on a field collection of *Dipetalogaster maximus* (Hemiptera, Triatominae) (Uhler, 1894). Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 21:202-206, 1979
  17. Petana WB, Willcox HPF, Abreu LL, Vieira W, Coura JR. Comportamento do xenodiagnóstico em pacientes crônicos com sorologia positiva para doença de Chagas. In: Resumos do XIII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical e II Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, Brasília, p 46, 1977
  18. Pifano C Felix, Morrel JR, Ortiz MD. Estudio comparativo entre el *Rhodnius prolixus* (Stal 1859) y el *Triatoma pallidipennis* (Stal, 1872) Pinto, 1927 en prueba xenodiagnóstico realizada em casos crônicos de enfermedad de Chagas. Archivos Venezolanos de Medicina Tropical y Parasitología Medica 5:85-94, 1973
  19. Salgado AA. Consideraciones sobre metodologia y sensibilidad del xenodiagnóstico. Boletim Chileno de Parasitologia 24:9-13, 1969
  20. Schenone H, Alfaro E, Reyes H, Taucher E. Valor del xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica. Boletim Chileno de Parasitologia 23:149-154, 1968
  21. Schenone H, Concha L, Aranda R, Rojas A, Alfaro E. Experiencia terapeutica con el Bay 2502 en la infección chagásica crónica del adulto. Importancia del uso adecuado del xenodiagnóstico. Boletim Chileno de Parasitologia 24:66-69, 1969
  22. Schenone H, Alfaro E, Rojas A. Bases y rendimiento del xenodiagnóstico em la infección chagásica humana. Boletim Chileno de Parasitologia 29:24-26, 1974