



ARTIGO DE REVISÃO

Doença de Chagas congênita: epidemiologia, diagnóstico laboratorial, prognóstico e tratamento

Congenital Chagas' Disease: epidemiology, laboratorial diagnosis, prognosis and treatment

**Edna Maria V. Reiche¹, Marta Mutsumi Z. Inouye¹,
Ana Maria Bonametti² e José Vitor Jankevicius³**

Resumo

Os autores revisam os aspectos epidemiológicos, clínicos e os métodos laboratoriais utilizados para o diagnóstico da doença de Chagas congênita, salientando as limitações quanto a sensibilidade e especificidade dos mesmos, e sugerem métodos alternativos que contribuiriam para um diagnóstico rápido e preciso, essencial para um tratamento eficaz.

J. pediatr. (Rio J.). 1996; 72(3):125-132: Doença de Chagas congênita, imunodiagnóstico, Trypanosoma cruzi.

Conceituação

A Doença de Chagas (DC) ou tripanosomíase americana é uma infecção generalizada, essencialmente crônica, causada por um protozoário hemoflagelado, o *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), transmitida naturalmente ao homem e a outros animais por intermédio de hemípteros hematófagos da subfamília *Triatominae*. Outras vias de transmissão são transfusão de sangue, transplante de órgãos, aleitamento materno, acidental, congênita e transmissão oral. Possibilidades excepcionais de transmissão podem ocorrer pelo coito, como já comprovada experimentalmente em animais, mas não em humanos. A transmissão pode ocorrer por outros vetores e pelo contato direto com fezes infectadas de triatomíneos¹. Na medida em que as formas clássicas de transmissão da DC, como a vetorial e a

Abstract

The authors review studies about epidemiology, clinical aspects and methods used in laboratorial diagnosis of congenital Chagas' disease, emphasizing the limitations in their specificity and sensibility, and suggest alternative methods to improve the accuracy and the quality of the laboratorial diagnosis of congenital Chagas' disease, essential to an efficient treatment.

J. pediatr. (Rio J.). 1996; 72(3):125-132: Congenital Chagas' disease, immunodiagnosis, Trypanosoma cruzi.

transfusão de sangue, estão sendo controladas, outras formas de transmissão menos freqüentes como o transplante de órgãos e a transmissão congênita vêm demonstrando importância crescente.

Desde a descrição da Doença de Chagas Congênita, (DCC) por Carlos Chagas em 1911, inúmeros autores têm demonstrado a importância da forma de transmissão congênita, não só experimentalmente, mas principalmente no homem, sendo o primeiro caso humano descrito em 1949, na Venezuela^{2,3}.

Epidemiologia

A prevalência de sorologia positiva para DC em mulheres grávidas e a incidência da DCC em várias regiões da América Latina, descritas por vários autores, apresentadas nas Tabelas 1 e 2, respectivamente, justificam a importância da forma de transmissão materna da doença.

O conceito pode adquirir a DC da mãe, via transplacentária, geralmente após o 6º mês de gestação, entre 22 e 37 semanas e parece depender de fatores ligados ao parasita e ao hospedeiro^{4,5}. A fase e as formas clínicas da infecção materna não parecem afetar a transmissão, embora a fase aguda, quando a parasitemia é alta e persistente,

1. Docente Adjunto de Imunologia Clínica, Depto. de Patologia Aplicada, Legislação e Deontologia do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina.

2. Docente Adjunto de Doenças Infecciosas e Parasitárias, Deto. de Clínica Médica do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina.

3. Docente Adjunto de Parasitologia Geral, Depto. de Patologia Geral do Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina.

apresente maior risco que a crônica. A infecção congênita pode ocorrer em 71% dos recém-nascidos de mães com infecção aguda durante a gravidez e em 1,6% na fase crônica de doença^{5,6}.

O *T. cruzi* atravessando o epitélio corial parasita o estroma vilositário, prolifera sob a forma amastigota e provoca alterações, sendo que o grau de envolvimento placentário está geralmente relacionado com a intensidade das lesões fetais.

Formas menos freqüentes de transmissão materna da DC podem ocorrer pela contaminação oral através do líquido amniótico, e a transmissão hematogênica, durante o trabalho de parto. Há também a possibilidade da transmissão pelo leite materno em mulheres que cursam a fase aguda da infecção ou quando ocorre sangramento dos mamilos^{10,22}.

Tabela 1 - Prevalência de sorologia positiva para Doença de Chagas em mulheres grávidas, segundo vários autores

Autor	Ano	Local	(%)
Amato Neto et al. ⁷	1977	São Paulo (SP)	1,01
Azogue et al. ⁴	1985	Bolívia	51,0
Freilij ⁸	1992	B. Aires (Argentina)	6,0 - 8,0
Bittencourt ⁵	1992	Centros Urbanos (América do Sul)	2,0 - 51,0
		Área Endêmica (América do Sul)	23,0-81,0
Lorca ⁹	1993	Chile (área de baixa endemicidade)	1,3
		Chile (área de alta endemicidade)	25,4
Sarasua ¹⁰	1993	Uruguai	5,6
Reiche et al. ¹¹	1994	Londrina (Paraná)	1,07

Diagnóstico Clínico

Como conseqüência da infecção materna, podem ocorrer abortamento e feto macerado, prematuridade, natimortalidade, retardo do crescimento intrauterino, deformações e neonatos vivos com ou sem sintomatologia de DC aguda. Dentre a sintomatologia apresentada pelo recém-nato são importantes a hepatoesplenomegalia, distúrbios neurológicos, meningoencefalites, tremores, convulsões, zonas de necrose com seqüelas, edemas generalizados, icterícia, hemorragias cutâneas, cianose, hidrocele, pneumonite, alterações bilaterais de fundo de olho, coriorretinite e opacificação do corpo vítreo, chagomas metastáticos, calcificações cerebrais e alterações gastrointestinais com intensa destruição neural originando manifestações digestivas como megacólon e megaesôfago na fase aguda^{23,24,25,26}.

Tabela 2 - Incidência da Doença de Chagas Congênita nos países da América Latina segundo vários autores

Autor	Ano	Local	(%)
Howard ¹²	1962	Chile	0,5
Bittencourt et al. ¹³	1972	Salvador (Bahia)	
		- Aborto	6,2
		- Prematuro	10,5
		- Autópsia	2,0
Bonet ¹⁴	1972	Argentina	2,3 - 10,4
Szarfman et al. ¹⁵	1975	B. Aires (Argentina)	0,7
Amato Neto et al. ⁷	1977	São Paulo	0
Bittencourt ¹⁶	1984	Bahia (área endêmica)	1,29
Azogue et al. ⁴	1985	Santa Cruz (Bolívia)	4,0
Arteaga-Fernandes et al. ¹⁷	1987	São Paulo (SP)	3,0
Azogue et al. ¹⁸	1991	Santa Cruz (Bolívia)	9,5
Medina-Lopes ¹⁹	1992	Brasília (DF)	2,2
Azogue et al. ²⁰	1993	Santa Cruz (Bolívia)	9,5
Lorca ⁹	1993	Chile	
		-área de baixa endemicidade	11,5
		-área de alta endemicidade	1,9
Sarasua ¹⁰	1993	Artigas (Uruguai)	4,0
Mota ²¹	1993	Belo Horizonte	1,8

Resultados de um estudo em 820 recém-nascidos com peso menor que 2500 gr. ao nascimento, da Maternidade Percy Boland, Santa Cruz, Bolívia, revelaram a freqüência de 21 assintomáticos entre os 78 infectados, o que pode ser devido a uma transmissão recente, nos últimos dias de gestação¹⁸. No entanto, a maioria dos recém-natos infectados congenitamente não é prematura, apresenta peso normal e sem sintomas clássicos de fase aguda, sendo difícil detectar a infecção congênita clinicamente a não ser por estudos longitudinais ou prospectivos²⁷.

Diagnóstico Laboratorial

As alterações laboratoriais inespecíficas de fase aguda descritas são hipoproteinemia total, diminuição da albuminemia, aumento da bilirrubina indireta, leucocitose discreta ou moderada, linfocitose atípica, neutropenia, plasmocitose, aumento da velocidade de hemossedimentação, elevação das alfa-2 e gamaglobulinas e presença de Proteína C Reativa, sendo que essas manifestações tendem a desaparecer no fim de algumas semanas ou meses após a infecção²⁸.

Diagnóstico Parasitológico

Os exames laboratoriais específicos compreendem a demonstração do *T. cruzi* em sangue periférico ou líquido cefalorraquidiano (LCR) por métodos a fresco, com coloração, concentrado de Strout ou microhematócrito, bióp-

sia de lesão cutânea, conjuntiva, linfonodos, demonstração do parasita por técnica imunocitoquímicas, xenodiagnóstico e hemocultura. A demonstração direta do *T. cruzi* pelo método a fresco (entre lâmina e lamínula), após coloração, pelo método de concentração de Strout ou pelo microhematócrito é em geral positiva nas primeiras semanas da doença. O *T. cruzi* é regularmente e facilmente encontrado em amostras de sangue do recém-nato com DCC, em contraste com que ocorre na DC adquirida. Parasitas circulantes podem estar presentes ao nascimento, mas aparecem entre 10 a 20 dias de vida em todos os casos analisados. A parasitemia aumenta de valores baixos ao nascimento a números máximos em 1 a 2 meses de vida, para então, lentamente, declinar nos próximos 5 a 8 meses. Em poucos casos o *T. cruzi* tem sido identificado no LCR²⁹.

Em um estudo prospectivo de 178 recém-natos de mães chagásicas crônicas, o *T. cruzi* foi demonstrado através de pesquisa direta no sangue de cordão ou no periférico em 2 recém-natos. Os demais 176 foram acompanhados por até 4 anos, sendo que em 3, assintomáticos ao nascimento, detectou-se a fase aguda entre 2 a 7 meses de idade¹⁹. Utilizando-se do método de Strout, de cortes histopatológicos da placenta, de microhematócrito e xenodiagnóstico foi possível demonstrar a infecção congênita em 78 recém-natos, sendo que 35 não apresentaram o parasita no sangue de cordão umbilical, embora a sorologia materna fosse reagente. Após 7, 15, 30 e 60 dias, 27 desses recém-natos demonstraram o *T. cruzi* pelos métodos propostos¹⁸.

Através do método de concentração por microhematócrito, o diagnóstico imediato de DC aguda e congênita foi realizado em 12 dos 15 pacientes estudados³⁰. O método de Strout, embora com 95% de sensibilidade e diagnóstico imediato, não é indicado para o uso pediátrico, pois a necessidade de 10 ml de volume sanguíneo é um fator limitante. Há relatos que observações a fresco são menos sensíveis que o método de Strout, detectando-se 54% das infecções agudas humanas.

O método imunocitoquímico de peroxidase e anti-peroxidase foi aplicado em tecidos de natimorto macerado de II - III graus, para coloração específica de amastigostas do *T. cruzi* em casos de DCC. O encontro de ninhos de amastigotas foi muito facilitado e apresentou como resultado uma avaliação mais precisa da intensidade do parasitismo³¹.

O xenodiagnóstico não é usualmente realizado em crianças com DCC, embora seja o método de escolha para detecção de *T. cruzi* em suas mães²⁹. A realização do xenodiagnóstico é importante nos estágios crônicos da infecção, pois embora a parasitemia esteja subaparente, os parasitas ainda podem ser demonstrados por esse método. À medida que a doença se torna crônica, a frequência dos xenodiagnósticos positivos diminui cerca de 40% em dez anos de evolução³². Na fase crônica da DC, resultados positivos no xenodiagnóstico variam entre 30 e 50% dos casos, e a proximidade do tempo de aquisição da infecção

aguda correlaciona-se com a frequência com que um xenodiagnóstico positivo pode ser obtido²⁸.

Subinoculação de tecidos infectados em animais de laboratório e hemocultura também têm sido utilizados para demonstração parasitológica do *T. cruzi*, mas com sucesso muito limitado.

Embora o *T. cruzi* possa ser facilmente cultivado em meio axênico contendo derivados de hemina, como o LIT³³, a positividade da hemocultura não apresenta resultados satisfatórios. Resultados de estudos em vários grupos de pacientes com DC demonstraram 55,08% de positividade na hemocultura e 27,5% no xenodiagnóstico. A idade do paciente, a duração da infecção crônica, o volume de sangue utilizado, a remoção ou não do plasma e o meio de cultura utilizado podem afetar a positividade das hemoculturas³⁴. Por outro lado, a hemocultura vem sendo utilizada como um importante procedimento para o isolamento de cepas para estudos bioquímicos do *T. cruzi*.

Hemoculturas realizadas em pacientes chagásicos não tratados em diferentes grupos etários apresentaram uma positividade de 95% no grupo de 20 a 30 anos; 72% entre 40 a 59 anos; e 80% entre 60 a 82 anos. Demonstrando uma sensibilidade mais elevada que as técnicas descritas anteriormente na literatura. São atribuídas como causas dessa maior sensibilidade a rapidez no processamento da amostra, o volume maior de sangue e o tempo de leitura prolongado (até 4 meses)³⁵. A hemocultura revelou-se importante como método indireto da demonstração do *T. cruzi* no sangue periférico especialmente na fase crônica da infecção, quando houve um período maior de observação das culturas (5 meses), empregando-se técnicas a fresco e coradas na leitura das mesmas³⁶.

Diagnóstico Sorológico

Diante das limitações dos diagnósticos clínicos e parasitológicos, a pesquisa de anticorpos séricos contra componentes do *T. cruzi* representa importante contribuição para o diagnóstico da DCC. A detecção das respostas imunes específicas a antígenos do parasita é um método indireto para o diagnóstico da infecção pelo *T. cruzi*. Vários métodos sorológicos têm sido utilizados com graus variáveis de sensibilidade e especificidade. Entre eles precipitação, floculação, aglutinação direta (AD), aglutinação indireta (AI), hemaglutinação indireta (HAI), fixação de complemento (FC), imunofluorescência indireta (IFI) e métodos imunoenzimáticos (ELISA). Reações cruzadas com soros de pacientes com outras doenças infecciosas são encontradas por todos os métodos sorológicos, em função da diversidade antigênica que tem sido observada em *T. cruzi*³².

A reação de FC, devido à difícil padronização dos reagentes, apresenta grande variabilidade de resultados, tendo sua positividade variando de 64 a 95% em diferentes laboratórios^{37,38}. Estudos revelam uma sensibilidade de 73,1% para a FC contra 95,2% para IFI, 98,5% para ELISA e 75,2% para HAI. Esses dados justificam sua limitação no

diagnóstico de DC, em face da existência de metodologias mais sensíveis e específicas³⁹.

A reação de aglutinação com látex foi avaliada na triagem de pacientes portadores de DC. Os resultados mostraram baixos índices de sensibilidade, especificidade e co-positividade quando comparados com FC e HAI⁴⁰. As elevadas porcentagens de falsos negativos excluem a possibilidade do uso do látex como método diagnóstico da DCC.

A reação de aglutinação direta quantitativa realizada com ou sem tratamento prévio do soro com 2-mercaptoetanol (2-ME) em 10 pacientes com DCC e 20 com DC aguda revelou uma diferença entre os títulos obtidos pela AD sem e com 2-ME em 3 pacientes agudamente infectados, sendo que nos demais pacientes não foram encontradas diferenças significativas. Esses dados indicam que anticorpos da classe IgM (sensíveis ao 2-ME) podem não ser demonstrados por esta metodologia⁴¹. Altos títulos de anticorpos foram demonstrados nas reações de AD em casos agudos, mas resultados falsos positivos foram obtidos devido à presença de anticorpos heterófilos⁴².

A reação de HAI emprega hemácias humanas ou de carneiro taninizadas e sensibilizadas com diferentes extratos antigênicos do *T. cruzi*. Extratos sonicados de *T. cruzi*, tratados e preservados com aldeído, mostraram-se mais eficientes para a fase crônica da infecção⁴³. Um reagente estável, polissacarídico, foi desenvolvido e empregado na HAI para o diagnóstico da infecção recente ou aguda. Testes positivos com altos títulos de anticorpos em casos de DC aguda tornaram-se negativos após o tratamento do soro com 2-ME⁴⁴. Eritrócitos de carneiro sensibilizados com extrato aquoso de formas epimastigostas de *T. cruzi* também foram utilizados para o estudo de soros de pacientes com leishmaniose⁴⁵.

A técnica de IFI emprega formas epimastigostas ou tripo-mastigostas do *T. cruzi* fixadas em lâminas de vidro, tendo possibilidade de detectar anticorpos das classes IgG e IgM anti-*T. cruzi*, através da utilização de conjugados fluorescentes anti-IgG e anti-IgM humanas, respectivamente⁴⁶. Com isso, tem grande aplicação não só no diagnóstico sorológico da fase crônica da DC como também na detecção de anticorpos IgM na fase aguda da doença e na DCC.

Objetivando avaliar a evolução da resposta imune humoral e o reconhecimento de antígenos do *T. cruzi* em um indivíduo acidentalmente infectado, foram utilizadas várias metodologias, entre elas IFI e ELISA. Anticorpos específicos das classes IgM e IgG contra *T. cruzi* foram detectados por ambos os métodos somente após 35 dias da infecção, sendo que anticorpos IgG foram detectados ao mesmo tempo que os da classe IgM, alcançando um pico cinco dias após terem sido inicialmente detectados⁴⁷.

A IFI foi avaliada para detectar anticorpos IgM contra *T. cruzi* em casos agudos e crônicos da DC. Em 100 casos crônicos, anticorpos IgM não foram detectados, porém em 20 agudos, o teste apresentou-se positivo em todos, com

títulos variando de 1:40 a 1:2560⁴⁸.

Objetivando avaliar a ocorrência da transmissão congênita da DC em hospital previdenciário de São Paulo, 492 soros de mulheres grávidas foram analisados, sendo que 22 apresentaram dados de infecção pelo *T. cruzi*. No entanto, anticorpos da classe IgM não foram detectados no sangue dos recém-natos, pela técnica de IFI, demarcando a inexistência da infecção congênita⁷.

Um estudo parasitológico e sorológico realizado durante o primeiro ano de vida de 721 recém-natos de mães com sorologia positiva para DC na cidade de Córdoba, Argentina, demonstrou uma absoluta correlação entre a detecção dos parasitas e a persistência dos anticorpos depois dos 6 meses de vida. O emprego de metodologias acessíveis a laboratórios de média complexidade, como pesquisa de tripomastigotas circulantes pelo método de Strout, hemocultura e pesquisa de anticorpos anti-*T. cruzi* por FC, HAI ou IFI permitiu diagnosticar a DCC com alto grau de confiabilidade⁴⁹.

A detecção da persistência de anticorpos anti-*T. cruzi* após os 6 meses de vida, praticamente confirmando a existência da infecção, torna-se um procedimento laboratorial de grande valia, na medida em que a detecção de anticorpos específicos da classe IgM pode ser passível de inúmeros erros, como a passagem placentária anormal de IgM materna e a presença de anticorpos tipo fator reumatóide dirigidos contra alotipos da IgM materna, ocasionando resultados falsos positivos. Falsos negativos também podem ocorrer, havendo inúmeros relatos descritos na literatura que os comprovam, entre eles um caso de DCC com megaloesôfago, em que a detecção do *T. cruzi* através de exame direto do sangue do recém-nato foi positivo, mas anticorpos da classe IgM não foram detectados pela IFI, somente por reações imunoenzimáticas; e um outro caso de DCC agudo com predominante envolvimento do sistema nervoso central no qual foram realizados vários testes sorológicos de IFI-IgM anti-*T. cruzi*, todos negativos^{26,50}. Essas reações falsamente negativas devem ocorrer quando anticorpos fetais da classe IgM formam complexos com presença de excesso de antígeno. A ausência de anticorpos IgM anti-*T. cruzi* na IFI também foi verificada em um caso de DCC com presença de calcificações cranianas no exame da criança após 5 meses de vida²⁷. Anticorpos IgM anti-*T. cruzi* por IFI não foram observados em dois dos seis soros de recém-natos com DCC de área não endêmica de DC (Buenos Aires, Argentina), ou seja, 66% de positividade, reforçando que um resultado negativo não exclui a DCC¹⁵.

As possíveis explicações para a não detecção de anticorpos IgM por IFI são que a baixa concentração de conjugado anti-IgM em relação ao anti-IgG dificultaria a detecção desses anticorpos; a diluição inicial de 1:8 do soro a ser examinado poderia interferir na sensibilidade do teste; e o fato da IgM ser uma boa aglutinina poderia promover forte aglutinação, mesmo em baixas concentrações⁵¹.

Várias outras causas de falsos positivos e falsos negativos na detecção específica de anticorpos IgM são relatadas. Entre elas a presença do fator reumatóide, mecanismos de imunossupressão da resposta imune, soro coletado após um tempo relativamente curto da infecção e a competição pelo excesso de IgG materna. A formação de imunocomplexos IgM seria outra razão da falta de positividade nos testes de IFI-IgM em certos casos da fase aguda da DC. Em 30 casos de DC aguda, anticorpos IgM foram demonstrados por IFI em 86,6%, sendo 13,3% (4 casos) em títulos menores que 1:16; 60% (18 casos) com 1:16; 16% (5 casos) com 1:32; 3% (1 caso) com 1:64; e 6% (2 casos) com 1:256⁵².

Resultados do xenodiagnóstico e testes sorológicos para DC em 150 pacientes de várias áreas endêmicas revelaram depressão humoral específica em 4 pacientes cronicamente infectados pelo *T. cruzi*. Nestes casos, o diagnóstico foi possível pelo xenodiagnóstico, a despeito de sua baixa sensibilidade. Em um dos pacientes detectou-se grande quantidade de antígenos no soro, empregando-se a imunoeletoforese⁵³.

A imunossupressão durante a evolução de infecções parasitária é muito freqüente e já foi demonstrada em outras infecções por protozoários. Quatro principais mecanismos do *T. cruzi* na evasão da resposta imune do hospedeiro têm sido demonstrados. Entre eles está a severa imunossupressão induzida por antígeno do parasita. Uma ativação policlonal de linfócitos B é seguida por um período de imunossupressão, como observado também na malária e tripanosomíase africana. Um segundo mecanismo de evasão seria a capacidade de as formas tripomastigotas do *T. cruzi* ligarem-se à porção Fc das imunoglobulinas, interferindo em mecanismos de citotoxicidade celular e ativação do complemento dependentes de anticorpos, pois ambos requerem a exposição do domínio Fc da IgG na célula alvo. Como terceiro, está o processo de "FABulação", no qual formas tripomastigotas do *T. cruzi* podem clivar moléculas de IgG ligadas à sua membrana pela elaboração de uma protease específica. Esse processo resulta na liberação da porção Fc, e os fragmentos Fab dos anticorpos específicos anti-*T. cruzi* permanecem ligados à superfície do parasita, permitindo-o circular livremente. Escapes dos mecanismos específicos da defesa são possíveis também pelo processo de capeamento de imunocomplexos na superfície de *T. cruzi*⁵⁴. A liberação contínua ou intermitente de antígenos pelo *T. cruzi* na circulação, ligando-se e inativando os anticorpos específicos também possibilitaria a persistência do parasita na corrente sanguínea⁵².

Os métodos imunoenzimáticos (ELISA) vêm fornecendo melhores resultados na detecção de antígenos, anticorpos e imunocomplexos circulantes na DC. Vários autores relatam resultados satisfatórios empregando o ELISA^{26,47}.

Diagnóstico laboratorial empregando a Biologia Molecular

Mais recentemente, avanços da biotecnologia têm contribuído para diagnóstico da DC através da Reação de Polimerase em cadeia (PCR), obtenção de antígenos através de DNA recombinante e pesquisa de antígenos solúveis nos fluidos biológicos. O emprego de antígenos recombinantes em substituição aos antígenos totais do *T. cruzi* vem contribuir para uma maior especificidade e sensibilidade no método imunoenzimático. Como consequência, a detecção da DC é mais eficiente e mais precoce. A positividade de anticorpos da classe IgM com antígenos totais foi de 8,3%, enquanto que com antígenos recombinantes foi de 75%⁵⁵. Outros autores detectaram uma positividade de 50 a 60% no ELISA com antígenos totais e 90% de positividade com antígenos recombinantes, sendo que anticorpos IgG contra SAPA (*Shed acute phase antigen*) seriam produzidos durante a fase aguda da infecção no feto⁵⁶.

A amplificação de seqüências do DNA pela Reação de Polimerase em Cadeia (*Polymerase chain reaction* - PCR) marca uma nova era nos métodos de diagnóstico, apresentando uma grande sensibilidade e especificidade, particularmente útil para a detecção da infecção quando os agentes infecciosos estão em baixos títulos.

A detecção do *T. cruzi* em amostras de sangue de pacientes com infecção crônica pela amplificação de seqüências do minicírculo do kDNA indicaram 100% de sensibilidade e 90% de especificidade^{57,58}. A amplificação de seqüências específicas repetitivas do DNA ou seqüências do minicírculo do kDNA permitem a detecção de 10 moléculas do minicírculo ou 0,01% do kDNA de um único parasita⁵⁹. A possibilidade de detecção de um único parasita em 20 ml de sangue faz dessa metodologia uma alternativa rápida, específica e sensível para o diagnóstico da DCC.

A detecção de exoantígenos solúveis do *T. cruzi* em fluidos biológicos pode representar um diagnóstico confirmatório, principalmente quando os testes que detectam anticorpos forem negativos ou duvidosos. Os antígenos parasitários eliminados na urina são principalmente glicoproteínas e sua detecção oferece possibilidades não só de diagnóstico, mas também para o controle e avaliação da resposta ao tratamento em pacientes com infecção congênita.

A detecção de antígenos solúveis de *T. cruzi* em amostras de urina concentrada de pacientes com DC aguda e congênita coletadas antes do tratamento foram positivas pelo ELISA para pesquisa de antígenos urinários e tornaram-se negativas após os pacientes serem tratados com drogas específicas⁶⁰.

A detecção e caracterização parcial de antígenos solúveis de *T. cruzi* na urina, bem como a demonstração de antígenos parasitários circulantes no soro de crianças com DCC e DC aguda foram realizadas por diferentes metodologias como a aglutinação e o ensaio imunoenzimático de

captura^{41,61,62}. Através de um método simples e altamente sensível para detecção de antígenos do *T. cruzi* (DOT-BLOTTING) foi possível demonstrar antigenemia em 14 (87,5%) de 16 crianças congenitamente infectadas⁶³.

A eliminação urinária de antígenos do *T. cruzi* foi verificada em 12 pacientes com DC, e foi sugerido o uso combinado da pesquisa de antígenos urinários com os testes sorológicos para a avaliação do tratamento em pacientes com DCC⁶⁴.

A pesquisa de antígenos solúveis possibilitaria um diagnóstico rápido da infecção, ainda durante a permanência da mãe e de recém-nascido no hospital, viabilizando o tratamento precoce. Os demais métodos parasitológicos disponíveis pelo tempo prolongado no fornecimento dos resultados retardariam o início do tratamento, comprometendo a possibilidade de cura destes pacientes.

Prognóstico

Devido às possibilidades de que essa transmissão congênita da DC possa ocorrer em 1% a 4% das mulheres com reação sorológica positiva para DC, de que as crianças infectadas possam desenvolver sintomas ao nascimento ou durante as primeiras semanas de vida e de que nem sempre é detectada no momento do nascimento por exames clínicos, parasitológicos e sorológicos, há necessidade de novas metodologias de diagnóstico e de um seguimento do recém-nato, pelo menos, durante o primeiro mês de vida, principalmente quando existem dados de risco como baixo peso e hepatoesplenomegalia ao nascimento^{18,66}.

De 64 crianças infectadas por via congênita que foram acompanhadas, 7,8% morreram no primeiro ano de vida, 35,9% foram a óbito durante os primeiros 4 meses após o nascimento, 9,3% morreram entre 4 a 24 meses de idade e 42,2% sobreviveram por mais de 4 meses. Entre as crianças sobreviventes por mais de 2 anos, 74% não apresentaram sintomas clínicos graves, apesar de apresentarem parasitemia contínua⁶⁶.

Entre 4252 grávidas acompanhadas no período de 1982 a 1990 em Artigas, Norte do Uruguai, considerada uma zona endêmica de DC, 240 (5,6%) apresentaram sorologia reagente para DC, e 10 recém-natos (4%) apresentaram exames parasitológicos positivos. Submetidos ao tratamento específico, todos obtiveram cura, revelada por controles parasitológicos e sorológicos repetidos¹⁰.

Em Buenos Aires, Argentina, área não endêmica para DC, 6 a 8% das mulheres grávidas foram reativas na sorologia para *T. cruzi*, 4% delas infectaram os recém-nascidos, 67% assintomáticos. Considerando as 63 crianças estudadas, observou-se cura parasitológica e sorológica em 95% das que iniciaram o tratamento antes dos 6 meses; em 83%, entre 6 meses e 1 ano; em 86%, entre 1 e 2 anos; em 66%, entre 3 e 4 anos; e em 0% das crianças que iniciaram o tratamento com mais de 4 anos de idade⁸. Portanto, o diagnóstico da DCC torna-se de grande valor na medida em que quanto mais precocemente se comprovar a infecção, maior a possibilidade de cura parasitológica.

Tratamento

Empregando o conhecimento sobre o ciclo biológico do *T. cruzi* no hospedeiro humano, foi sugerido, em 1961, um esquema de tratamento por tempo prolongado para manter uma alta concentração da droga no sangue periférico dos pacientes com DC⁶⁷. Infelizmente o *T. cruzi* não é susceptível à maioria das drogas já testadas nas décadas passadas, incluindo aquelas que são efetivas contra tripanossomas africanos, *Leishmania sp* e outros protozoários. Dessa forma, a terapia atual para DC é insatisfatória⁶⁸.

Em 1962, o "Grupo de Estudo para Tratamento da Doença de Chagas" elaborou critérios para a seleção de drogas, esquemas terapêuticos e avaliação dos resultados⁶⁹. Diversos ensaios clínicos foram, então, conduzidos em pacientes agudos e crônicos, e duas drogas, pelo menos, mostraram resultados promissores: o Nifurtimox e o Benzonidazol⁶⁹. Ambas as drogas foram testadas com a utilização dos mesmos métodos em vários ensaios clínicos, e os resultados credenciam a conclusão de que existe variação geográfica na ação parasiticida das duas drogas^{67,69}. O Nifurtimox foi efetivo em 80% dos pacientes agudos e crônicos no Chile, Argentina e Rio Grande do Sul, mas esta efetividade foi de somente 40% em pacientes chagásicos de outras regiões do Brasil. Esta diferença geográfica não foi evidenciada com o uso do Benzonidazol⁶⁷.

O Nifurtimox (Lampit) não é disponível no Brasil. Nos Estados Unidos da América essa droga é utilizada para tratamento da DC, porém seu uso em infecção chagásica congênita encontra-se em fase experimental⁶⁶.

Em 1986, durante a II Reunião de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas foram definidas as situações em que o tratamento etiológico está indicado⁶⁷. Uma dessas situações é a DCC. Atualmente apenas o Benzonidazol encontra-se disponível no mercado brasileiro. É apresentado em comprimidos de 100mg, devendo ser administrado na dose de 5mg/kg de peso corpóreo por dia para adultos e de 5 a 10mg/kg/dia para crianças de até 15 anos de idade, devendo essa posologia ser administrada em duas tomadas diárias, durante 60 dias^{67,69}.

Conclusão

O campo do diagnóstico de moléstias parasitárias está em rápida e constante evolução. Um avanço gigantesco foi realizado pelo desenvolvimento de métodos radioativos, seguidos quase imediatamente pelos ensaios imunoenzimáticos e pelo desenvolvimento de anticorpos monoclonais. Um dos problemas de todas essas novas metodologias baseadas em caros procedimentos de Biologia Molecular é o custo ao paciente ou à instituição que as realiza⁶⁵. Assim, uma cuidadosa análise do custo e do impacto nos cuidados de saúde são essenciais antes de qualquer mudança tecnológica significativa ser introduzida no laboratório de diagnóstico. No caso da DCC, a introdução de novos métodos pode representar a possibilidade de cura de pacientes recém-nascidos de uma doença que na fase

crônica não dispõe mais de um tratamento eficaz. Somente esse argumento representa um impacto na Saúde Pública que justifica a introdução de novas metodologias na rotina laboratorial.

Referências bibliográficas

- Dias JCP. Epidemiology of Chagas Disease. In: Wendel S, Brener Z, Camargo ME & Rassi A. Chagas disease (American Trypanosomiasis): Its impact on transfusion and clinical medicine. ISBT Brazil 92-São Paulo;1992.
- Nattan-Larrier L. Herédité des infections experimentales a *Schizotrypanum cruzi*. Bull Soc Path Exot 1921; 14:232-238.
- Dao L. Otros casos de enfermedad de Chagas en el Estado Guárico (Venezuela). Formas agudas y crónicas. Observación sobre enfermedad de Chagas congénita. Rev Policlin (Caracas) 1949; 17:17-32.
- Azogue E, La Fuente C, Darras C. Congenital Chagas' disease in Bolivia: epidemiological aspects and pathological findings. Trans of the Royal Soc Trop Med Hyg 1985; 79:176-180.
- Bittencourt AL. Possible risk factors for vertical transmission of Chagas' disease. Rev Inst Med Trop São Paulo 1992; 34:403-408.
- Freilij H, Altchek J, Storino R. Chagas Congenito. In: Storino R, Freilij H. Enfermedad de Chagas, Doyma, Argentina. 1994: 67-278.
- Amato-Neto V, Rojas JR, Camargo ME, Silva LJ da. Estudo baseado na pesquisa de anticorpos IgM anti-tripanosoma no soro, destinado a avaliar a transmissão congênita da doença de Chagas em hospital previdenciário da cidade de São Paulo. Rev Soc Bras Med Trop 1977; 11:1-4.
- Freilij H. Congenital Chagas' disease in a non endemic area. Mem Inst Oswaldo Cruz 1992; 97:78-79.
- Lorca M. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in Chile. Rev Soc Bras Med Trop 1993; 26:2-28.
- Sarasúa WM. Detection of the transmission congenita de la enfermedad de Chagas en Artigas - Uruguay. Rev Soc Bras Med Trop 1993; 26: 28.
- Reiche EMV, Inouye MMZ, Pontello R, Vogler IH, Jankevicius JV. Prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in patients attended by different clinics at Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná, Londrina, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 1994; 89:166.
- Howard JE. Enfermedad de Chagas congenita. Monografía Biológica nº 16. Universidad de Chile, Santiago, 1962; p. 37.
- Bittencourt AL, Barbosa HS, Rocha T, Sodré A. Incidência da transmissão congênita da doença de Chagas em partos prematuros na maternidade Tsylla Albino (Salvador-Bahia). Rev Inst Med Trop São Paulo 1972; 14:131-134.
- Bonet AH. Epidemiologia de la enfermedad de Chagas en la República Argentina. Ann Simp Inter Enferm Chagas Buenos Aires 1972; p.163.
- Szarfman A, Cossio PM, Arana RM, Urman J et al. Immunologic and immunopathologic studies in congenital chagas' disease. Clin Immunol and Immunopathol 1975; 4:489-499.
- Bittencourt AL. Doença de Chagas congênita na Bahia. Rev Baiana Saúde Pública 1984; 11:159-209.
- Arteaga-Fernandez E, Barreto ACP, Ianni BM, Vianna C et al. Incidência da transmissão congênita na doença de Chagas. Arq Bras Cardiol 1987; 49:47-49.
- Azogue E, Darras C. Estudio prospectivo de la enfermedad de Chagas en recién nacidos com infección placentária por *Trypanosoma cruzi* (Santa Cruz- Bolivia). Rev Soc Bras Med Trop 1991; 24:105-109.
- Medina-Lopes M das D. Transmissão materno-infantil da doença de Chagas: incidência da forma congênita e da adquirida durante aleitamento. Rev Soc Bras Med Trop 1992; 25:99.
- Azogue E. La mujer y la enfermedad de Chagas congénita en Santa Cruz-Bolivia: aspectos epidemiológicos y socio culturales. Rev Soc Bras Med Trop 1993; 26:26-27.
- Mota C de CC. Significado diagnóstico e conduta na doença de Chagas congênita. Rev Soc Bras Med Trop 1993; 26:76-78.
- Mazza S, Montana A, Benitez C & Janzi EZ. Transmisión del *Schizotrypanum cruzi* al niño por leche de la madre con enfermedad de chagas. Public MEPR 1936; 28:41.
- Bittencourt AL. Transmissão congênita da doença de Chagas. In: Caçado JR. Doença de Chagas, Belo Horizonte: 1968. 100-129.
- Pehrson PO, Wahlgren M, Bengtsson E. Intracranial calcifications probably due to congenital Chagas' disease. Am J Trop Med Hyg 1982; 31:449-451.
- Almeida MAC de, Barbosa HS. Megalocolon chagásico congênito. Relato de um caso. Rev Soc Bras Med Trop 1986; 19:167-169.
- Bittencourt AL, Vieira GO, Tavares HC, Mota E, Maguire J. Esophageal involvement in congenital Chagas' disease. Am J Trop Med Hyg 1984; 33:30-33.
- Moya P. Enfermedad de Chagas congénita. Conference I curso Latinoamericano de doença de Chagas. Programa Salud Humana, Secretaria de Saúde de Minas Gerais- Uberaba, MG, Brasil. 1983.
- Rassi A, Porto CC, Rezende JM de. Doença de Chagas. In: Amato-Neto V, Baldy JL da S. Doenças Trasmisíveis. 3ª ed. São Paulo: Sarvier, 1991:247-263.
- Howard JE. Clinical aspects of congenital Chagas' disease. In: New Approaches in American Trypanosomiasis Research. Pan American Health Organization. Sc Publ 1976; 38:212-215.
- Freilij H, Muller L, Cappa SMG. Direct micromethod for diagnosis of acute and congenital Chagas' disease. Journal of Clin Microbiol 1983; 18:327-330.
- Lana AMA, Silva EL, Barbosa AJA, Garcia A. Doença de Chagas congênita: avaliação imocitoquímica do parasitismo em tecidos de feto macerado. Rev Soc Med Trop 1986; 19:95-98.
- Teixeira ARL. Doença de Chagas e outras doenças por tripanossomas. Editora Universidade de Brasília. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-Brasília. 1987:161.
- Camargo EP. Growth and differentiation in *Trypanosoma cruzi*. I. Origin of metacyclic Trypanosomes in liquid media. Rev Inst Med Trop São Paulo 1964; 6:93-100.
- Chiari E, Dias JCP, Lana M, Chiari C. Hemocultures for the parasitological diagnosis of human chronic Chagas' disease. Rev Soc Bras Med Trop 1989; 22:19-23.
- Luz ZMP, Garcia MC, Caçado JR, Krettli AU. High possibility of hemocultures in untreated patients in different age groups. Mem Inst Oswaldo Cruz 1993; 88:244.
- Goedbloed EM. Hemoculture compared with xenodiagnosis for the detection of *T. cruzi* infection in man and in animals. In: New Approaches in American Trypanosomiasis Research. Pan-Am Health Org Sc Publ 1976; 318:245-252.

37. Prata A, Mayrink W, Sodré AG, Almeida JO. Discrepância entre resultados de reações de Guerreiro-Machado executadas em diferentes laboratórios. *Rev Soc Bras Med Trop* 1976; 10:103-105.
38. Camargo ME, Hoshino -Shimizu S, Macedo V, Peres BA, Castro C. Diagnóstico sorológico da infecção humana pelo *Trypanosoma cruzi*. Estudo comparativo de testes de fixação de complemento, imunofluorescência, hemaglutinação e flocculação em 3.624 soros. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1977; 19:254-260.
39. Fuchs AP, Fioratti NL, Mello VA de, Boainain E. Diagnóstico na doença de Chagas. Estudo comparativo de diferentes técnicas. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1980; 22:24-245.
40. Baruffa G, Filho AA. Comparação entre a fixação de complemento em placa, a hemaglutinação e a prova de aglutinação com látex no diagnóstico sorológico da doença de Chagas na zona do Rio Grande do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop* 1975; 9:121-126.
41. Freilij HL, Corral RS, Katzin AM, Grinstein S. Antigenuria in infants with acute and congenital Chagas' disease. *Journal of Clin Microbiology* 1987; 25:133-13.
42. Muniz J, Freitas G. Contribuição para o diagnóstico da doença de Chagas pelas reações de imunidade. I Estudo comparativo entre as reações de aglutinação e de fixação de complemento. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1944; 41:303-333.
43. Camargo ME, Hoshino S, Siqueira GRV. Hemagglutination with preserved, sensitized cells, a practical test for routine serologic diagnosis of American trypanosomiasis. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1973; 15:81-85.
44. Hoshino-Shimizu S, Camargo ME, Nagasse TK. A stable polysaccharide-hemagglutination reagent for the diagnosis of acute or recent *Trypanosoma cruzi* infection. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1978; 20:208-212.
45. Neal RA, Miles RA. Indirect haemagglutination test for Chagas' disease, with a simple method for survey work. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1970; 12:325-332.
46. Camargo ME. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1966; 8:227-234.
47. Araujo FG, Israelski DM, Titto EH de. Human Chagas' disease: evolution of the antibody response and recognition of antigens of *Trypanosoma cruzi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1988; 83:52-526
48. Camargo ME, Amato-Neto V. Anti-*Trypanosoma cruzi* IgM antibodies as serological evidence of recent infection. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1974; 16:200-202
49. Moya P, Moretti E, Paolasso R, Basso B, Blanco S, Sanmartino C, De Cura AS. Enfermedad de Chagas neonatal. Diagnóstico de laboratorio en el primer año de vida. *Medicina (Buenos Aires)* 1989; 49:594-599.
50. Vieira GO, Maguire J, Bittencourt AL, Fontes JAS. Doença de Chagas congênita. Apresentação de um caso com paralisia cerebral. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1983; 25:305-309.
51. Peralta JM, Magalhães FCR, Abreu L et al. The direct agglutination test for chronic Chagas' disease. The effect of pre-treatment of test samples with 2-mercaptoethanol. *Trans Royal Soc Trop Me Hyg* 1981; 75:695-698.
52. Corral R, Freilij H, Grinsteins S. Specific circulating immune complexes in acute Chagas' disease. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1987; 29:26-32.
53. Breniere SF, Poch O, Selaes H et al. Specific humoral depression in chronic patients infected by *Trypanosoma cruzi*. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1984; 26:254-258.
54. Brener Z, Krettli AU. Immunology of Chagas' disease. In: Wyler DJ, Freeman WH and Company. *Modern Parasite Biology Celular, Immunological and Molecular Aspects*. New York: 1990:24-261.
55. Lorca M, Veloso C, Munhoz P et al. Detection of specific IgA, IgM and IgG through recombinant *T. cruzi* antigens in congenital infected infants. *Rev Soc Bras Med Trop* 1993; 26:100-101.
56. Reyes MB, Lorca M, Munoz P, Frasch ACC. Fetal IgG specificities against *Trypanosoma cruzi* antigens in infected newborns. *Proc Nat Ac Sci USA* 1990; 87:2846-2850.
57. Gonzales A, Prediger E, Huecas ME et al. Minichromosomal repetitive DNA in *Trypanosoma cruzi*: its use in a high sensitivity parasite detection assay. *Proc Nath Acad Sc USA* 1984; 81:3356-3360.
58. Avila HA, Pereira JB, Thiemann NO. Detection of *Trypanosoma cruzi* in blood specimens of chronic chagasic patients by polymerase chain reaction amplification of kinetoplast minicircle DNA: comparison with serology and xenodiagnosis. *Journal of Clinical Microbiology* 1993; 21:2421-2426.
59. Degrave W, Fragoso SP, Britto et al. Peculiar sequence organization of kinetoplast DNA minicircles from *Trypanosoma cruzi*. *Molec Biochem Parasitol* 1988; 27:63-70.
60. Corral R, Freilij H, Montemayour A, Grinsteins S. *Trypanosoma cruzi* antigens in urine from patients with Chagas' disease. *IRCS Med Sci* 1984; 12:1034-1035.
61. Katzin AM, Marcipar A, Freilij H et al. Rapid determination of *Trypanosoma cruzi* urinary antigens in human chronic Chagas disease by agglutination test. *Exp Parasitol* 1989; 68:208-215.
62. Alexandre SR, Altchek J, Bertot G et al. Detection of urine antigens in chronic chagasic patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1994; vol 89:163.
63. Corral RS, Orn A, Grinstein S. Detection of soluble exoantigens of *Trypanosoma cruzi* by a dot-immunobinding assay. *Am J Trop Med Hyg* 1992; 46:31-38.
64. Corral R, Altchek J, Bertot G et al. Antigenuria in congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1993; 88:206.
65. Araujo FG. Diagnosis of parasitic diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1988; 83:464-465.
66. Arvin AM & Maldonado YA. Protozoan and Helminth Infection (including *Pneumocystis carinii*). In: Remington JS & Klein JO. *Infectious Diseases of the fetus newborn infant*. 4ª ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1995.
67. Fragata Filho AA, Da Silva MA & Boainain E. Ethiological treatment of acute and chronic Chagas' heart disease. *São Paulo Medical Journal / RPM* 1995; 113: 857-872.
68. Kirchhoff LV. *Trypanosoma* species (American Trypanosomiasis, Chagas' Disease): Biology of Trypanosomes. In: Mandell LG, Bennett JE & Dolin R. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Churchill Livingstone. 4ª ed. New York; 1995.
69. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Medicina. Núcleo de Estudos em Doença de Chagas. Manejo clínico em Doença de Chagas. Belo Horizonte, 1995.

Endereço para correspondência:

Dra. Edna Maria Vissoci Reiche

Av. Robert Koch, 60 - CEP 86038-440 - Londrina - PR