

ESTUDO EXPERIMENTAL DE AMOSTRAS DO *TRYPANOSOMA CRUZI* ISOLADAS DE GESTANTES CHAGÁSICAS * 11

SONIA G. ANDRADE ** ACHILÉA L. BITTENCOURT ** ROZÁLIA M. FIGUEIRA *** MARIA LUIZA CARVALHO ***

RESUMO

O estudo de diferentes amostras do *Trypanosoma cruzi*, isoladas de cinco pacientes gestantes chagásicas não mostrou diferenças nas características das mesmas, quer quando provinham de casos em que houve transmissão da infecção ao feto, quer de casos em que não houve transmissão congênita da doença. As diferentes amostras foram caracterizadas do ponto de vista biológico, morfológico e histopatológico. Como se trata de um estudo feito em um número reduzido de casos, não se pode concluir sobre a importância de diferenças de cepas na transmissão congênita da doença de Chagas. Verificou-se, entretanto, que todas as amostras pertenciam a um mesmo padrão o qual foi considerado como facilmente transmissível, levando-se em conta que, de cinco pacientes das quais as amostras foram isoladas, houve transmissão congênita da infecção em duas.

O presente estudo poderá servir de base para estudos comparativos posteriores utilizando cepas do *T. cruzi* isoladas de áreas em que a incidência de transmissão congênita da infecção é considerada baixa ou inexistente.

INTRODUÇÃO

A transmissão congênita da doença de Chagas no ser humano já foi confirmada desde os estudos de Dao⁽⁹⁾. Nota-se, entretanto, que não há uma concordância entre os diversos autores que têm estudado o problema em diferentes áreas geográficas, quanto à incidência desta transmissão, que parece ser maior em algumas áreas que em outras. Assim, em algumas séries de casos em que foi pesquisada a transmissão congênita da infecção chagásica, esta não foi constatada^(3, 13, 14, 17), enquanto em outras^(4, 5, 7, 8, 10, 11) foi assinalada uma significativa incidência de transmissão. Sabendo-se que o *Trypanosoma cruzi* pode determinar lesões histopatológicas diferentes de acordo com a cepa⁽¹⁾, poder-se-ia supor que este fator também tivesse importância na determinação da passagem transplacentária do parasito para o feto e, portanto, nas diferenças de transmissão. Com a finalidade de investigar este as-

* A parte experimental deste trabalho foi realizada com o auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas - (T.C. 13.320).

** Professoras Assistentes da Universidade Federal da Bahia

*** Biologistas da Fundação Gonçalo Moniz.

pecto, resolvemos fazer um estudo de amostras parasitárias provenientes de gestantes chagásicas, a fim de verificar se havia diferenças nas características entre amostras isoladas de casos em que houve transmissão da doença ao feto e de casos em que esta transmissão não se deu.

As amostras estudadas foram isoladas a partir de triatomídeos utilizados para o xenodiagnóstico das gestantes, sendo que o estudo e a caracterização destas amostras foi feito sem o conhecimento prévio de quais os casos em que houve transmissão, utilizando técnicas já descritas em trabalho anterior⁽²⁾. O xenodiagnóstico das pacientes era feito no dia do parto, precedendo o mesmo.

MATERIAL E MÉTODOS

1 — Amostras parasitárias — foram isoladas a partir de triatomídeos utilizados para xenodiagnóstico de 5 pacientes gestantes chagásicas, constituindo 5 grupos experimentais. O conteúdo do intestino posterior dos triatomídeos (*Rhodnius prolixus*) era diluído em salina e a suspensão obtida era inoculada em camundongos recém-nascidos, por via intra-peritoneal. A partir desta primeira inoculação, foram feitas passagens sucessivas em camundongos recém-nascidos (peso: 4 a 5 g) ou adultos jovens (10 a 12 g). As amostras parasitárias foram estudadas detalhadamente na 10^a, 20^a e 30^a passagens, a fim de se conseguir estabilidade de suas características. O estudo destas amostras constou de: 1) Estudo da parasitemia, feito dia-

riamente, pela contagem dos tripomastigotas no sangue periférico, entre lâmina e lamínula, em 50 campos microscópicos (400x); 2) Estudo morfológico dos parasitos no sangue periférico em esfregaços corados pelo May Grünwald-Giemsa com contagem de formas largas e delgadas e verificação da percentagem destas formas durante o curso da infecção; 3) Estudo histopatológico feito em animais sacrificados em diferentes fases da infecção cujos órgãos foram fixados em formol a 10% e incluídos em parafina e as secções coradas pela hematoxilina e eosina.

2 — Grupos experimentais — em n.º de cinco correspondendo a cada uma das amostras parasitárias isoladas das gestantes chagásicas através do xenodiagnóstico (Tabela I). As pacientes eram provenientes do Recôncavo Baiano e vinham sendo acompanhadas por um de nós (A.B.) na Maternidade Tsylla Balbino (Salvador - Bahia). Por ocasião do parto, foram estudadas as placentas e os recém-nascidos bem como os nati e os neo-mortos, de acordo com rotina já estabelecida⁽⁷⁾. Foram os seguintes os grupos experimentais estudados:

Grupo I — Camundongos inoculados com a amostra parasitária isolada da paciente A.P., 23 anos, natural de Mata de São João - Bahia, sem queixas, com reação de Machado Guerreiro: Reagente no título de 4, 14. Não apresentava sinais clínicos de cardiopatia. Teve 4 gestações (das quais 2 foram abortamento e um parto prematuro). Na presente gestação, o feto era macerado, pesando 750g; foi autopsia-

TABELA I

ESTUDOS DE AMOSTRAS DO T. CRUZI ISOLADAS DE GESTANTES CHAGÁSICAS

AMOSTRAS PARASITÁ- RIAS	DADOS REFERENTES ÀS GESTANTES				DADOS REFERENTES AOS FETOS			PLACENTA	Transmissão da doença de Chagas
	Grupos Esper.	Idade (Anos)	Reação M. G.	Alterações * Cardíacas	Gestações Anteriores	Peso (G)	Condições		
I	23	Reag. 4,14	Não	2 Abort. 1 Premat. 1 a Termo	750	Macerado	Sífilis Congênita	Placentite Sifilítica	Não
II	33	Não Reag.	Hiperfonese Desdobramento P2	4 a termo com 1 neomor.	1.800	Prematuro	—	Sem Alterações	Não
III	40	Não Reag.	SS Foco A Hiperfonese A2	1 a termo 3 abort. 4 premat.	1 350	Neomorto	Membrana Hialina	Sem Alterações	Não
IV	29	Reag. 3,63	Não	3 abort. 2 premat. 2 natimor. 1 neomorto	1.600	Macerado Hidrópico	Infecção Chagásica	Placentite Chagásica	Sim
V	30	Reag. 3,0	Não	7 a termo com 2 natimortos	500	Hidrópico	Infecção Chagásica	Placentite Chagásica	Sim

* Não há estado eletrocardiográfico destas pacientes.

do e o diagnóstico anátomo-patológico foi de sífilis congênita. O exame da placenta revelou placentite sífilítica. **Não houve transmissão congênita da infecção chagásica.**

Grupo II — Camundongos inoculados com amostra parasitária isolada da paciente V.M., 33 anos, natural de São Félix - Bahia, sem queixas clínicas, com reação de Machado Guerreiro: não reagente. Ao exame clínico do aparelho circulatório apresentava hiperfonese e desdobramento de P2. Teve 4 gestações todas a termo, com um neo-morto. Na gestação atual, o parto foi prematuro. O recém-nascido pesou 1.800 g e o xenodiagnóstico do mesmo foi negativo. A placenta não mostrou evidências de infecção chagásica. **Não houve transmissão da infecção chagásica ao feto.**

Grupo III — Camundongos inoculados com amostra parasitária proveniente da paciente V.S., 40 anos natural de Cachoeira-Bahia apresentando edema de membros inferiores. Reação de Machado Guerreiro não reagente. Ao exame do aparelho circulatório apresentava sopro sistólico em ejeção no foco aórtico e hiperfonese de A2. Teve 8 gestações sendo: 1 parto a termo, 3 abortamentos, 4 prematuros (3 neo-mortos). Na presente gestação, recém-nascido de 1350 g, que viveu apenas 5 horas. A autópsia revelou como causa de mortis, insuficiência respiratória devido à membrana hialina nos pulmões, não havendo evidências de infecção chagásica. O exame da placenta não mostrou alterações inflamatórias nem presença

de parasitos. **Não houve transmissão congênita da infecção chagásica.**

Grupo IV — Camundongos inoculados com amostra parasitária isolada da paciente L.S., 29 anos, natural de Nazaré-Bahia, sem queixas clínicas, com reação de Machado Guerreiro reagente, no título de 3,63. Não apresentou alterações ao exame clínico do aparelho circulatório. Teve 8 gestações com 3 abortamentos, 2 partos prematuros, 2 natimortos e um neo-morto. Na presente gestação teve feto macerado, hidrópico, pesando 1.600 g. O exame anátomo-patológico mostrou processo inflamatório em coração, pele e músculo esquelético, tendo-se identificado formas amastigotas do *T. cruzi* no interior das fibras musculares. Placenta com lesões de placentite chagásica e presença de formas amastigotas do parasito. **Trata-se de um caso em que houve transmissão congênita da doença de Chagas.**

Grupo V — Camundongos inoculados com amostras parasitária isolada da paciente E.F., 30 anos, natural de Maragogipe-Bahia, sem queixas clínicas, com reação de Machado Guerreiro reagente, no título de 3,0. Não apresentava alterações ao exame clínico. Teve 7 gestações, todas a termo, com dois natimortos. Presente gestação: feto macerado, de 5 meses, pesando 500 g, hidrópico, com processo inflamatório crônico no miocárdio, pele e músculo esquelético, não tendo sido, entretanto identificados parasitos nos tecidos. Placenta com lesões características da placentite chagásica e presença de for-

mas amastigotas do *T. cruzi*. **Este é um caso em que houve transmissão congênita da infecção chagásica.**

RESULTADOS

1 — Estudo histopatológico — As 5 amostras parasitárias determinaram no animal experimental um quadro histopatológico semelhante, variando apenas a intensidade de parasitismo de um grupo para outro. Foram observados os seguintes aspectos gerais os quais foram comuns às 5 amostras: a) ausência de parasitismo de células do Sistema Retículo-Endotelial em todo o curso da infecção; b) parasitismo tissular moderado ou discreto, com aparecimento inicial em coração (14º dia) e, mais tardiamente, em músculo esquelético (2º dia); c) processo inflamatório predominante em miocárdio que é discreto até o 14º dia de infecção e se acentua entre o 25º e o 30º dias de infecção, presente mesmo quando são escassos os parasitos nos tecidos (Figs. 1 e 2); lesões discretas, focais, irregulares, em músculo esquelético e intestinal.

2 — Estudo da parasitemia — Observou-se em todos os grupos um mesmo padrão de parasitemia, isto é, elevação lenta e progressiva do número de parasitos no sangue periférico, com piques irregulares entre 12º e o 20º dias de inoculação, variando, entretanto, os níveis atingidos com as diferentes amostras como mostra a Fig. 3. Em 3 amostras (Grupos III, IV, V), os níveis parasitemicos sempre se conservaram baixos, nas diversas passa-

gens, enquanto que nas amostras correspondentes aos Grupos I e II os piques parasitemicos atingiram níveis mais elevados.

3 — Estudo morfológico — Em todos os grupos observou-se predominância do número de formas largas no sangue periférico durante todo o curso da infecção.

4 — Índices de mortalidade — A mortalidade nos diversos grupos variou paralelamente com os índices de parasitemia, sendo de 50% até 20 dias de inoculação, nos grupos I e II e nula, no mesmo período para os grupos III, IV e VI.

CONCLUSÕES

a) as amostras parasitárias, nos 5 grupos estudados, se comportaram de maneira quanto ao tropismo tissular e às lesões histopatológicas, que determinaram no animal experimental, observando-se, em todos, nítido miocardiotropismo e processo de miocardite de intensidade variável; b) do ponto de vista da morfologia das formas tripomastigotas no sangue periférico, o quadro também foi idêntico em todos os grupos; c) houve diferenças nos índices de mortalidade e nas curvas de parasitemia o que foi atribuído a uma maior ou menor virulência da amostra parasitária; os grupos com níveis parasitemicos mais elevados correspondiam a um parasitismo tissular mais acentuado. Ao que parece, as 5 amostras têm um padrão de comportamento semelhante, variando apenas na sua virulência.

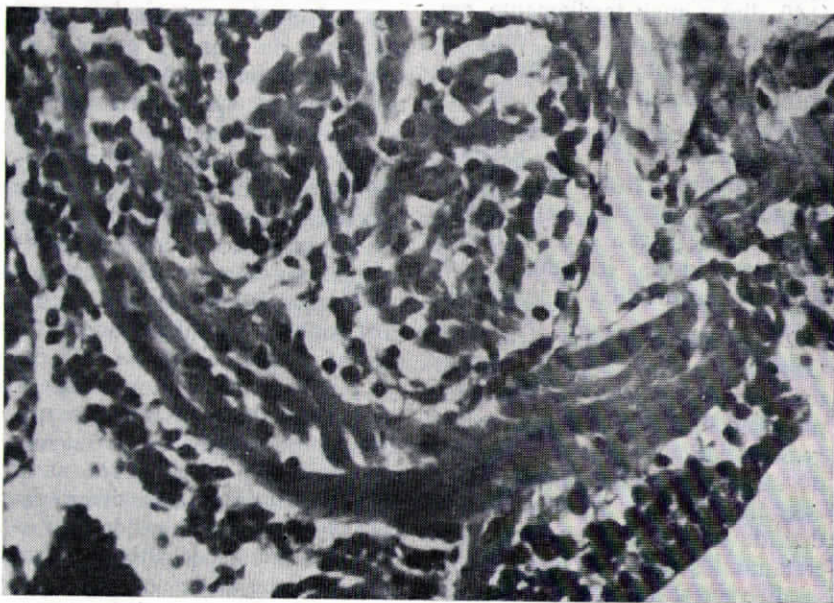
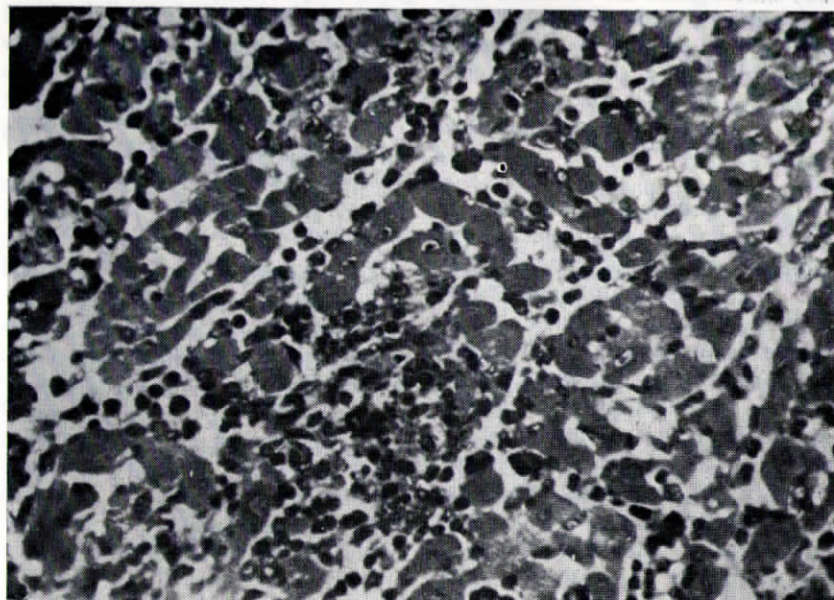


FIG. 1 — Infiltração linfocitária sub-epicárdica e intersticial da aurícula, na ausência de parasitos (Grupo I - 30.º dia de infecção) (400X).

FIG. 2 — Foco de destruição de fibra parasitada no ventrículo com infiltração linfo-histiocitária. (Grupo II - 250.º dia de infecção) (400X).

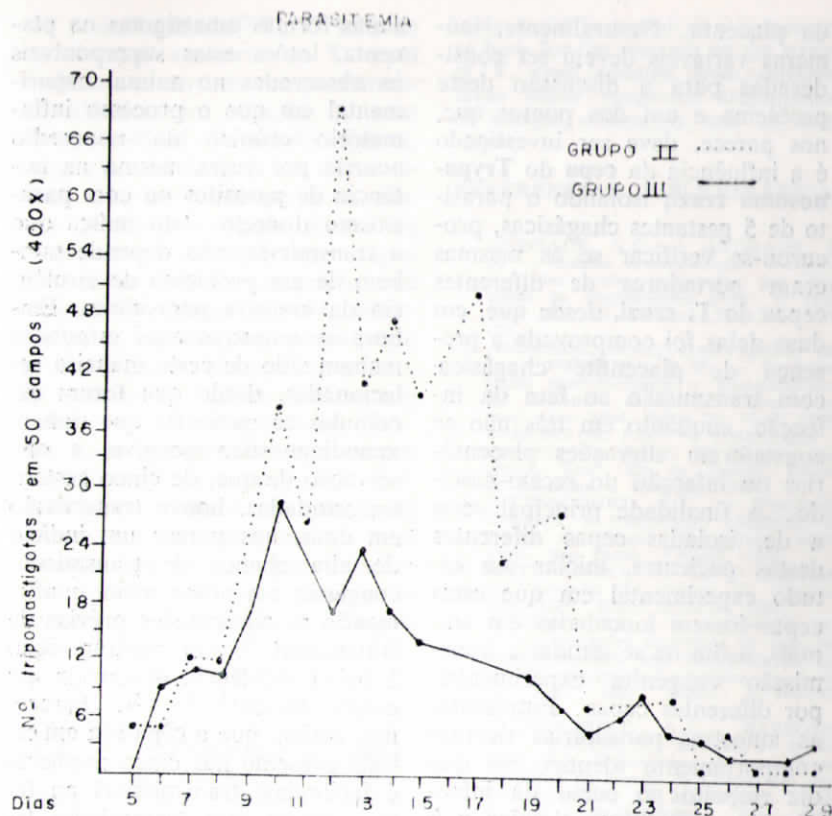


FIG. 3 — Parasitemias obtidas em camundongos recém-nascidos inoculados com diferentes amostras (grupos II e III), a primeira cursando com níveis parasitemicos médios e a segunda com níveis baixos, mostrando entretanto padrões semelhantes.

COMENTÁRIOS

No estudo da transmissão congênita da doença de Chagas, um dos aspectos que chamam a atenção é a irregularidade desta transmissão. Em nosso meio (Salvador-Bahia), Bittencourt⁽⁷⁾ teve a oportunidade de verificar em 95 chagásicas que tiveram parto prematuro, uma incidência de 10,5% de transmissão da doença e em 48 chagásicas que tiveram abortamento⁽⁸⁾, a incidência de transmissão foi de 6,2%. No Chile, Howard⁽¹¹⁾ comprovou vá-

rios casos de transmissão congênita, numa frequência de um chagásico para cada duzentos prematuros. Outros autores, estudando séries de pacientes gestantes chagásicas, não puderam comprovar a transmissão, como Rezende et al⁽¹⁷⁾, Oliveira⁽¹⁴⁾, Passos⁽¹⁵⁾, Rassi et al⁽¹⁶⁾ e Barcelos⁽³⁾. Além disto, em uma mesma gestante, a transmissão pode ocorrer em uma gestação e não ocorrer em outra⁽⁶⁾. Devem, pois, existir fatores ainda não bem conhecidos que condicionam a transmissão do parasito através

da placenta. Naturalmente, inúmeras variáveis devem ser consideradas para a discussão deste problema e um dos pontos que, nos parece, deve ser investigado é a influência da cepa do *Trypanosoma cruzi*; isolando o parasito de 5 gestantes chagásicas, procurou-se verificar se as mesmas eram portadoras de diferentes cepas do *T. cruzi*, desde que, em duas delas foi comprovada a presença de placentite chagásica com transmissão ao feto da infecção, enquanto em três não se constataram alterações placentárias ou infecção do recém-nascido. A finalidade principal seria a de, isoladas cepas diferentes destas pacientes, iniciar um estudo experimental em que estas cepas fossem inoculadas em animais, a fim de se estudar a transmissão congênita experimental, por diferentes cepas. Entretanto, as amostras parasitárias tiveram comportamento idêntico no que diz respeito ao curso da infecção, ao parasitismo tissular e à morfologia, caracteres estes que, estudados em conjunto, nos parecem suficientes para a identificação de cepas do *T. cruzi* (2). Apesar de se constituírem aparentemente em uma mesma cepa, mostraram diferenças de virulência, o que pode ocorrer com qualquer cepa de acordo com diversas variáveis, comportando-se em dois grupos com virulência muito atenuada, e que corresponderam justamente aos casos em que houve transmissão congênita. É de se assinalar que as lesões fetais nestes dois casos foram discretas, localizadas em músculo e coração, com baixo parasitismo tissular, em um deles com rarís-

simas formas amastigotas na placenta, lesões estas superponíveis às observadas no animal experimental em que o processo inflamatório crônico do miocárdio ocorria por vezes mesmo na ausência de parasitos ou com parasitismo discreto. Isto indica que a transmissão não depende também de um problema de virulência da amostra parasitária. Embora as amostras aqui estudadas tenham sido de certa maneira selecionadas, desde que foram escolhidas as pacientes que tinham xenodiagnóstico positivo, a observação de que, de cinco gestantes estudadas, houve transmissão em duas, nos parece um indício de alta chance de transmissão congênita em nosso meio, confirmando as observações prévias de Bittencourt (5), em contraposição à baixa incidência observada em outros meios (3, 14, 15). Parece-nos, assim, que a cepa ora em estudo presente nas cinco mulheres é facilmente transmissível ao feto, embora esta transmissão tenha sido diferente de um caso para outro, o que não é de se estranhar quando se sabe que em uma mesma mulher, a possibilidade de transmissão da infecção ao feto varia de uma gestação para outra (6). No rápido resumo da história obstétrica das pacientes, pode-se ver que, em quase todas, havia alta incidência de abortamentos e de partos prematuros, podendo-se supor que em gestações anteriores, a doença de Chagas de que são portadoras tivesse contribuído para esta história obstétrica, desde que a transmissão congênita do *T. cruzi* tem sido considerada como importante fator de abortamento e

de prematuridade (7,8). O fato de as diversas amostras do *T. cruzi* isoladas terem um comportamento idêntico em relação às suas características morfológicas, acrescido ao fato de se tratar de uma amostra muito pequena, não nos permitiu concluir acerca da importância de diferentes cepas na transmissão congênita da doença de Chagas. Vale, entretanto, o registro de que a cepa presente nas mulheres em estudo, é facilmente transmissível e isto poderá servir para estudos comparativos posteriores com cepas isoladas em áreas em que a incidência da transmissão congênita é baixa, permitindo, assim, uma melhor avaliação do papel da cepa do *T. cruzi* na transmissão congênita da doença de Chagas.

SUMMARY

EXPERIMENTAL STUDY OF SAMPLES OF *TRYPANOSOMA CRUZI* ISOLATED FROM PREGNANT WOMEN WITH CHAGAS' DISEASE

Samples of *Trypanosoma cruzi* isolated from five pregnant women living in the same endemic area were studied. The behaviour in the experimental animal, morphological aspects of the blood — forms and histopathological lesions in mice were considered. Although in two of the women, congenital transmission of the infection to the foetus has been observed, we could not observe differences between the strains of *T. cruzi* isolated from those cases and the strains isolated from the cases in which no congenital transmission occurred. The five samples of *T. cruzi* seem to belong to the same strain pattern. The number of cases here studied was not sufficient for any conclusions about the influence of different strains of *T. cruzi* on congenital transmission of the infection. However we think that the present

study could be useful as a comparative basis for the research on the strains of *T. cruzi* isolated from different areas where congenital transmission of Chagas disease is rare or even absent.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDRADE, S.C. & ANDRADE, Z. A. — Estudo histopatológico comparativo das lesões produzidas por duas cepas do *Trypanosoma cruzi*. O Hospital (Rio de Janeiro) 70:1.267-1.278, 196.
2. ANDRADE, S.G.; CARVALHO, M. L. & FIGUEIRA, R.M. — Caracterização morfológica e histopatológica de diferentes cepas do *Trypanosoma cruzi*. Gaz. Méd. Bahia 70: 32-42, 1970.
3. BARCELLOS, J.M. — Contribuição à patogenia da doença de Chagas congênita. Tese. Rio de Janeiro, Escola de Medicina e Cirurgia, 1960.
4. BITTENCOURT, A.L. — Placentite chagásica e transmissão congênita da doença de Chagas. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo. 5:62-67, 1963.
5. BITTENCOURT, A. L. — Transmissão congênita da doença de Chagas. Gaz. Méd. Bahia 67:39-64, 1967.
6. BITTENCOURT, A.L. & GOMES, M. C. — Gestações sucessivas de uma paciente chagásica com ocorrência de casos de transmissão congênita da doença. Gaz. Méd. Bahia. 67:166-172, 1967.
7. BITTENCOURT, A.L.; BARBOSA, H.S.; RACHA, T.; SODRÉ, I. & SODRÉ, A. — Incidência da transmissão congênita da doença de Chagas em partos prematuros na Maternidade Teylla Baldino (Salvador-Bahia). Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo 14:131-134, 1972.
8. BITTENCOURT, A.L. & BARBOSA, H.S. — Incidência da transmissão congênita da doença de Chagas em abortos. Rev. Inst. Méd. Trop. São Paulo, 14:257-259, 1972.
9. DAO, L. — Otros casos de enfermedad de Chagas en el Estado Guarico (Venezuela). Formas agudas y crónicas. Observación sobre enfermedad de Chagas congénita. Rev. Policl. Caracas. 17:17(32), 1949.
10. ESPINAL, L.F. — La enfermedad de Chagas congénita. Arch. Venez. Med. Trop. y Parasit. Med. 4:243-264, 1962.
11. HOWARD, J.E. — La enfermedad de Chagas congénita. Santiago — Universidad de Chile, 1972 (Tese).
12. LISBOA, A.C. — Sobre a forma congênita da doença de Chagas (Estudo anátomo-patológico de 6 casos). Rev. Inst. M d. Trop. São Paulo. 2:319-334, 1960.
13. LOPES, E.R.; CHAPADEIRO, E.; OLIVEIRA, F.C.; ALONSO, M.T.; PEREIRA, F.E.; ALMEIDA, H.O. & HIAL, W. — Doença de Chagas e gravidez. V — Estudo de 50 placentas de gestantes chagásicas crônicas. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo. 9:393-396, 1967.

14. OLIVEIRA, F.C. — A doença de Chagas no ciclo grávido-puerperal. Tese. Uberaba. Faculdade Med. Bras. 1958.
15. PASSOS, B.M.C. — Moléstia na clínica obstétrica. Tese. São Paulo — Fac. Nac. Med. Univ. Brasil. 1960.
16. RASSI, A.; BORGES, C.; KOEBERLE, F. & PAULA, C.H. — Sobre a transmissão congênita da doença de Chagas. Rev. Goiana Me. 4:319-332, 1958.
17. REZENDE, C.L.; CANELAS, A.; BRENER, Z. & PELEGRINO, J. — Sobre a transmissão placentária de infecção chagásica humana. J. Pediat. (Rio de Janeiro) 19:21-76, 1954.