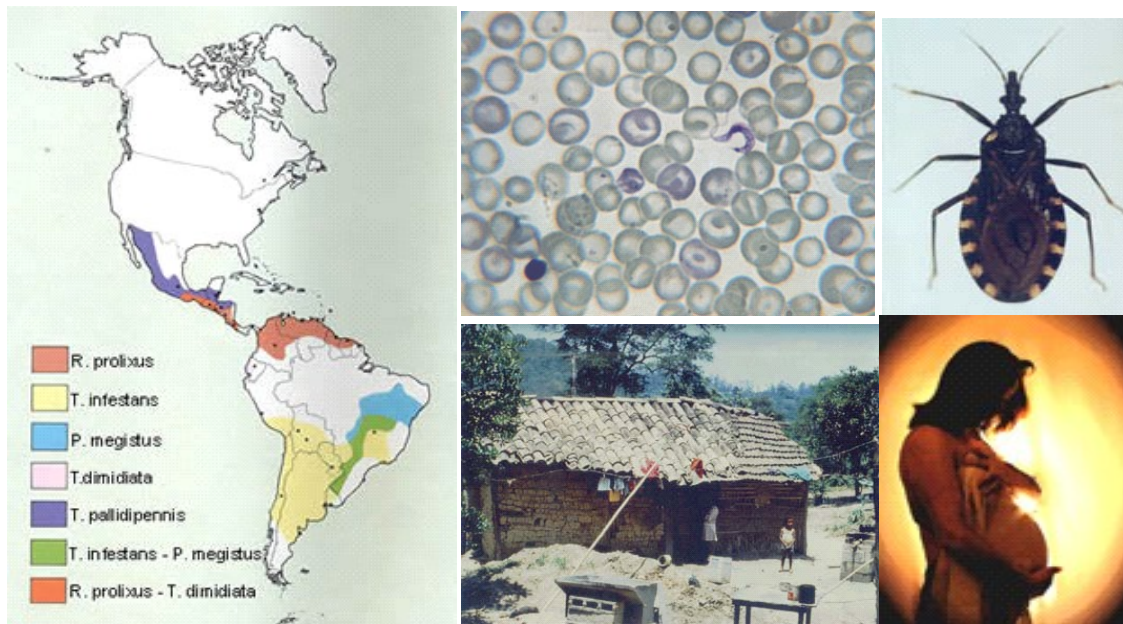


UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO

**INFLUÊNCIA DA GESTAÇÃO NA PARASITEMIA POR  
HEMOCULTURA EM GESTANTES INFECTADAS PELO  
*TRYPANOSOMA CRUZI* NA FASE CRÔNICA.**



**LILIANE DA ROCHA SIRIANO**  
**GOIÂNIA-GO**  
**2007**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**LILIANE DA ROCHA SIRIANO**

**INFLUÊNCIA DA GESTAÇÃO NA PARASITEMIA POR HEMOCULTURA  
EM GESTANTES INFECTADAS PELO *TRYPANOSOMA CRUZI* NA FASE  
CRÔNICA**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA.  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
GOIÂNIA-GO  
2007**

# **INFLUÊNCIA DA GESTAÇÃO NA PARASITEMIA POR HEMOCULTURA EM GESTANTES INFECTADAS PELO *TRYPANOSOMA CRUZI* NA FASE CRÔNICA**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical, área de concentração Parasitologia como requisito parcial para obtenção do grau de mestre, desenvolvida no Laboratório de Biologia, Fisiologia e Imunologia de Protozoários de interesse humano – Departamento de Imunologia, Microbiologia, Parasitologia e Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública em colaboração com Laboratório de Pesquisa da Doença de Chagas FM/HC e IDP/APAE –GO.**

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Ana Maria de Castro

**Co-orientadora:** Dr<sup>a</sup> Neusa Gonçalves Leal Marra

## **Colaboradores:**

**Dr. Alejandro Luquetti Ostermayer**

Laboratório de Pesquisa da Doença de Chagas - FM/HC – UFG

**Equipe Técnica:** Instituto de Diagnóstico e Prevenção (IDP) da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de Goiânia (APAE).

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade de ter concluído esse mestrado pela determinação, coragem que me foram dados.

Profª Drª Ana Maria de Castro, um orientador é um realizador de sonhos .Obrigada por ter realizado meu sonho, pelas horas de dedicação, paciência e amizade durante esses dois anos.

Mamãe ( Rita Saraiva da Rocha Siriano ), sei que é motivo de orgulho esta conclusão. Obrigada pelas orações, pelo apoio, carinho e exemplo de uma mulher forte, determinada e sábia. Muito do que sou hoje devo à senhora. MUITO OBRIGADA!Te amo.

Pai ( Antonio Siriano Sobrinho ), onde quer que o senhor esteja sei que está feliz pelo meu feito e pela minha felicidade. Um homem que ficou marcado pela alegria e pelos momentos de felicidade que proporcionava a quem estava ao seu lado. Retidão e integridade foram marcas de um homem que sentia orgulho de seus filhos e que teve uma esposa que o amava mais que qualquer pessoa nesse mundo.

À minha irmã Leila Maria da Rocha Siriano Bonagura, uma das pessoas mais admiráveis que conheço e a quem tenho um amor incondicional. Exemplo de filha dedicada, irmã maravilhosa e muito amiga, mãe extremamente cuidadosa e companheira de seus filhos Caroline Siriano Bonagura e Gustavo Siriano Bonagura ,amores da minha vida a quem eu amo sem limites. Esposa dedicada de Eduardo Bonagura, a quem serei eternamente grata pelo carinho e cuidado dedicados à minha família e especialmente ao meu pai.

Aos meus irmãos, Carlos Antonio da Rocha Siriano e Fernando da Rocha Siriano pelo apoio e companheirismo dados em momentos tão difíceis.

Dandan ( Daniel Siriano de Melo ) e Juju (Júlia Siriano de Melo), obrigada pelos momentos de compreensão, solidão, colegas de salas de aula (mesmo forçadamente) e as horas que passamos juntos no IPTSP mesmo sem saber direito por que estavam lá, mais estavam pelo simples motivo de quererem estar com a mamãe.

Ao meu sobrinho Heitor Fantinatti Siriano,que mesmo estando longe tem uma tia que ama muito esse pretinho!

As minhas grandes e eternas amigas: Jacqueline Aparecida de Moura, Adriana Calaça Guimarães, Tatyany Flávia Barbosa Oliveira, Rosane Matos, Ana Cristina Mendes, Flávia Martins Nascente, Delisiê Araújo, Alessandra Marques Cardoso, Candyce Morgado, Viviane Aparecida Vasconcelos. Obrigada a todas pelos momentos de apoio, amizade e compreensão.

Ao meu ídolo, professor Luís Murilo Martins Araújo. Homem de extrema inteligência, a minha eterna admiração e respeito. Foi a pessoa que sem saber me incluiu e ensinou tudo o que sei na hematologia.

Às colegas do Laboratório de Chagas, meu muito obrigada.

Juju (Juliana Boaventura Avelar) muito obrigada pela ajuda e parceria durante todo o nosso curso, ela tem momentos de “pré- mestrado, in mestrado e com certeza pós-mestrado”.

Ao professor Alejandro Luquetti Ostermayer, o meu MUITO OBRIGADA, pelas horas dedicadas, pelo interesse, sugestões e ensinamentos dados.

A Ereni Ferreira de Melo, Patric Mols, Andréia Ferreira de Melo, João Mols, Tomás Mols e Alice Araújo de Melo pela grande ajuda nos momentos de desespero total, por terem sido companheiros dos meus filhos durante as minhas ausências. Muito obrigada!

A Edson Esposito Guimarães e Natividade Rosa Guimarães agradeço o interesse pelo meu mestrado e o convívio de todos esses anos.

A toda a minha família que mesmo estando longe sei que estão felizes por mais essa realização na minha vida.

Aline Almeida Barbaresco o meu muito obrigada.

Rosiléia Rodrigues dos Santos, pelos 9 anos de convivência e cuidado com meus filhos.

A todas as participantes dessa pesquisa, em especial, às grávidas que entenderam o significado e a importância desse estudo.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico essa minha conquista a meus filhos, Daniel e Júlia, que ela seja motivo de orgulho e exemplo para que acreditem em seus potenciais e que quando desejarem algo que a palavra limite não exista, mesmo quando tudo pareça inatingível. AMO VOCÊS!

## Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

° C	Grau Celsius
DC	Doença de Chagas
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
EPI	Forma epimastigota
FC	Forma Cardíaca
FD	Forma Digestiva
FI	Forma Indeterminada
FEM	Feminino
g	Força centrífuga
g/L	Gramas por litro
h	horas
HAI	Reação de Hemaglutinação Indireta
HC	Hospital das Clínicas
HEMO	Hemocultura
H <sub>2</sub> Odd	Água destilada e deionizada
IFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
IgG	Imunoglobulina G
IL	Interleucina
LIT	<i>Liver Infusion Tryptose</i>
M	Média
M	Molar
Min	Minutos
mL	Mililitros
µL	Microlitros
MOL	Moles
N <sub>2</sub>	Nitrogênio
PBS	Salina tamponada com fosfato
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
pH	Potencial de Hidrogênio
RNA	Ácido Ribonucléico
SBF	Soro Bovino Fetal
SC	Sorologia Convencional
WHO	World Hearth Organization
X	Média
UFG	Universidade Federal de Goiás
%	Porcentagem



## LISTA DE FIGURAS e TABELAS

**Figura 1:** Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*. 5

### Artigo:

**Figura 1:** Epidemiologia das mulheres infectadas pelo *Trypanosoma cruzi* que participaram da pesquisa. 32

**Tabela 1.** Estratificação da positividade das hemoculturas com faixa etária das mulheres grávidas e do grupo controle 33

**Tabela 2.** Análise das hemoculturas por tempo de cultivo, número de tubos positivos 34

**Tabela 3** – Positividade pela técnica de Hemocultura segundo o trimestre gestacional do grupo de gestantes 34

# Sumário

AGRADECIMENTOS	IV
DEDICATÓRIA	VI
LISTA DE ABREVIATURAS	VII
LISTA DE FIGURAS e TABELAS	VIII
RESUMO	X
ABSTRACT	XI
1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	1
1.1. Ciclo Evolutivo	2
1.2. Mecanismos de Transmissão	6
1.3. A Doença	6
1.4. Diagnóstico Laboratorial	10
1.4.1. Diagnóstico Parasitológico	10
1.4.2. Diagnóstico Imunológico	12
2 - JUSTIFICATIVA	14
3 - OBJETIVOS	17
3.1. Objetivo Geral	17
3.2. Objetivos Específicos	17
4 - MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1. Seleção dos Pacientes	18
4.2. Diagnóstico Imunológico	18
4.2.1. Imunofluorescência Indireta - IFI	19
4.2.2. Teste Imunoenzimático - ELISA	19
4.2.3. Hemaglutinação Indireta - HAI	20
4.3. Diagnóstico Parasitológico	20
4.4. Análises estatísticas	21
5-RESULTADOS – ARTIGO	22
6-CONCLUSÕES GERAIS	45
7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
8-ANEXOS	59

## RESUMO

A sensibilidade da técnica de hemocultura foi estudada em 150 mulheres infectadas pelo *Trypanosoma cruzi* na fase crônica da doença de Chagas, sendo 100 gestantes e 50 não gestantes (grupo controle). Os testes sorológicos foram positivos por dois ou três testes sorológicos de princípios diferentes em todas as mulheres.

Segundo o trimestre gestacional, 4 pacientes estavam no primeiro trimestre, 62 no segundo e 34 no terceiro. As gestantes tinham idade média de 29,2 anos (de 17 a 44 anos) e no grupo controle a média de idade foi de 34,1 anos (de 18 a 49 anos). Maior positividade foi observada no grupo das gestantes, 59% (59/100) em relação com o grupo controle: 32% (16/50).

Foram realizados 7 tubos para cada hemocultura realizada perfazendo um total de 1.050 tubos que foram examinados mensalmente, até no 150º dia, um total de 5.250 exames microscópicos realizados. Foi analisado o perfil de parasitemia pelo número de tubos positivos: no grupo das grávidas, a parasitemia foi baixa em 41 % dos tubos, média em 21%, e alta em 38%. No grupo controle, a parasitemia foi baixa em 68%, média em 18% e em 14% alta.

Em relação a naturalidade a maioria (56) eram provenientes do estado da Bahia, com 58,9 % de hemocultivos positivos, 36 mulheres de Goiás (61,0% positivos) e 8 de outros estados (50% de positividade).

Estes resultados demonstram que a técnica de hemocultura permitiu detectar diferenças significativas ( $p < 0,001$ ) quanto a parasitemia, em gestantes em relação ao grupo controle. Este aumento devido à gestação poderia favorecer assim um maior risco de transmissão congênita. Outrossim, poderia ser uma indicação de tratamento específico após a gravidez.

## ABSTRACT

The sensitivity of the technique of hemoculture was studied in 150 women infected by *Trypanosoma cruzi* in the chronic phase of Chagas disease, and 100 pregnant and 50 not pregnant (control group). The serologic tests were positive for two or three serologic tests of different principles in all women. According to the gestational trimester, 4 patients were in the first trimester, 62 in the second and 34 in the third. The pregnant had average age of 29.2 years (from 17 to 44 years) and the control group the mean age was 34.1 years (from 18 to 49 years). More positivity was observed in the group of pregnant, 59% (59/100) in relation with the control group: 32% (16/50). Been made 7 tubes for each hemoculture held for a total of 1,050 tubes that were examined monthly, until the 150th day, a total of 5,250 tests conducted microscopic. It examined the profile of parasitemia by the number of tubes positive, In the pregnant group, the parasitemia was low in 41% of the tubes, average at 21%, and high in 38%. In the control group, the parasitemia was low at 68%, average at 18% and 14% high. For naturalness most (56) were from the state of Bahia, with 58.9% of hemocultures positive, 36 women of Goiás (61.0% positive) and 8 of other states (50% positive). These results show that the technique of hemoculture identified significant differences ( $p < 0.001$ ) in parasitemia in pregnant in relation to the control group. This increase due to pregnancy could well encourage an increased risk of congenital transmission. Also, it could be an indication of specific treatment after pregnancy.

## 1-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA:

A doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, e descoberta por Carlos Chagas, em 1909, é endêmica na América Latina (Schmunis 1991). *O T. cruzi* bem como seus transmissores, reservatórios e a doença causada por este protozoário foram descobertos há 80 anos, em Lassance (MG) por Carlos Chagas (Chagas 1909) evento ímpar nas descobertas científicas.

A doença de Chagas ainda representa um dos principais problemas de saúde nas Américas do Sul e Central (Brener 1973) onde é a doença mais importante transmitida por insetos vetores, depois da malária (Schofield 1985). A prevalência da infecção humana é estimada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 12 a 15 milhões de pessoas infectadas, e um grande contingente populacional ainda vive sob o risco de adquiri-la (WHO 2002). No Brasil, estima-se a existência de 2,0 a 2,5 milhões de indivíduos infectados, encontrados em quase todos os estados brasileiros, porém com grande predomínio nas regiões Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste, nesta, devido ao grande fluxo migratório rural para grandes centros urbanos (Feitosa et al. 1991, Vinhaes & Dias 2000).

Lima & Silveira (1985) demonstraram que 4,4 % da população rural apresenta anticorpos anti-*T. cruzi*.

Nas últimas décadas acentuou-se a urbanização de indivíduos infectados, aumentando de início os riscos de transmissão por meio de transfusões de sangue, o que obrigou rigorosa seleção de doadores nas regiões endêmicas. (Dias & Macedo 2005), conseqüentemente houve uma progressiva queda da taxa de prevalência geral da infecção entre candidatos à doação no País, hoje, os riscos de transmissão da doença de Chagas transfusional no Brasil são mínimos, tendo sido

estimados entre três e vinte ocorrências no contexto de mais de 4 milhões de transfusões anuais (Dias 2006).

É importante ressaltar que, além dos malefícios individuais, a doença de Chagas apresenta-se como uma importante doença de contexto social, uma vez que esta constitui uma enfermidade crônica debilitante e incapacitante. Na América Latina, a doença de Chagas produziu o maior ônus de enfermidade entre as denominadas doenças tropicais. O ônus que produz a doença de Chagas é o quarto em importância entre as enfermidades infecciosas prevalentes na região, somente as infecções respiratórias agudas, as doenças diarreicas e a AIDS apresentam maior impacto (Schmunis 2000).

## **1.1-CICLO EVOLUTIVO:**

A doença de Chagas ou tripanossomíase americana é uma infecção generalizada, causada por um protozoário hemoflagelado, o *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), transmitida naturalmente ao homem e a outros animais por intermédio de hemípteros hematófagos - barbeiros( Dias 1992). Nos vertebrados, o *T. cruzi* circula no sangue e multiplica-se nos tecidos. Nos barbeiros, as formas infectantes multiplicam-se no tubo digestivo, sendo eliminadas com suas fezes e urina. A transmissão da infecção ocorre, principalmente, pela deposição de fezes do vetor sobre os tecidos cutâneos e mucosas do homem (Coura 2003).

A infecção chagásica primitiva estava inicialmente restrita ao ambiente silvestre entre os seus reservatórios e vetores. A ocupação dos espaços pelo homem e a ação antrópica com os desmatamentos e afastamento dos animais silvestres - fonte alimentar dos triatomíneos, aliados à sua domiciliação, foram gradativamente transformando o ciclo silvestre em peridoméstico e

doméstico. Há indícios de que no Brasil, na época da mineração, quando os desmatamentos eram restritos, a infecção chagásica estava limitada à transmissão acidental ou em cavernas onde o homem podia conviver com alguns triatomíneos (Coura et al. 2000).

O parasito apresenta as formas evolutivas epimastigotas e tripomastigotas no inseto vetor e, amastigota intracelular e tripomastigota sangüíneo, no hospedeiro vertebrado (Hoare & Wallace 1966). As diferentes formas do *T. cruzi* são identificadas ao microscópio ótico, pela posição relativa do cinetoplasto em relação ao núcleo celular, sendo este na porção posterior ao núcleo nos tripomastigotas, e medial nos epimastigotas. As amastigotas são formas arredondadas mostrando, por microscopia eletrônica, um curto flagelo intracelular. O *T. cruzi* representa uma população constituída por uma variedade de cepas que circulam no homem, vetores e reservatórios silvestres (Brener 1985). O ciclo evolutivo do *T. cruzi* no hospedeiro vertebrado representa a integração de fenômenos biológicos que resultam da fase circulante do parasito, de seu ciclo intracelular, da resposta imune do hospedeiro, das peculiaridades da população infectante, e de uma multiplicidade de fatores ambientais que podem influenciar no curso da infecção (Brener 1979).

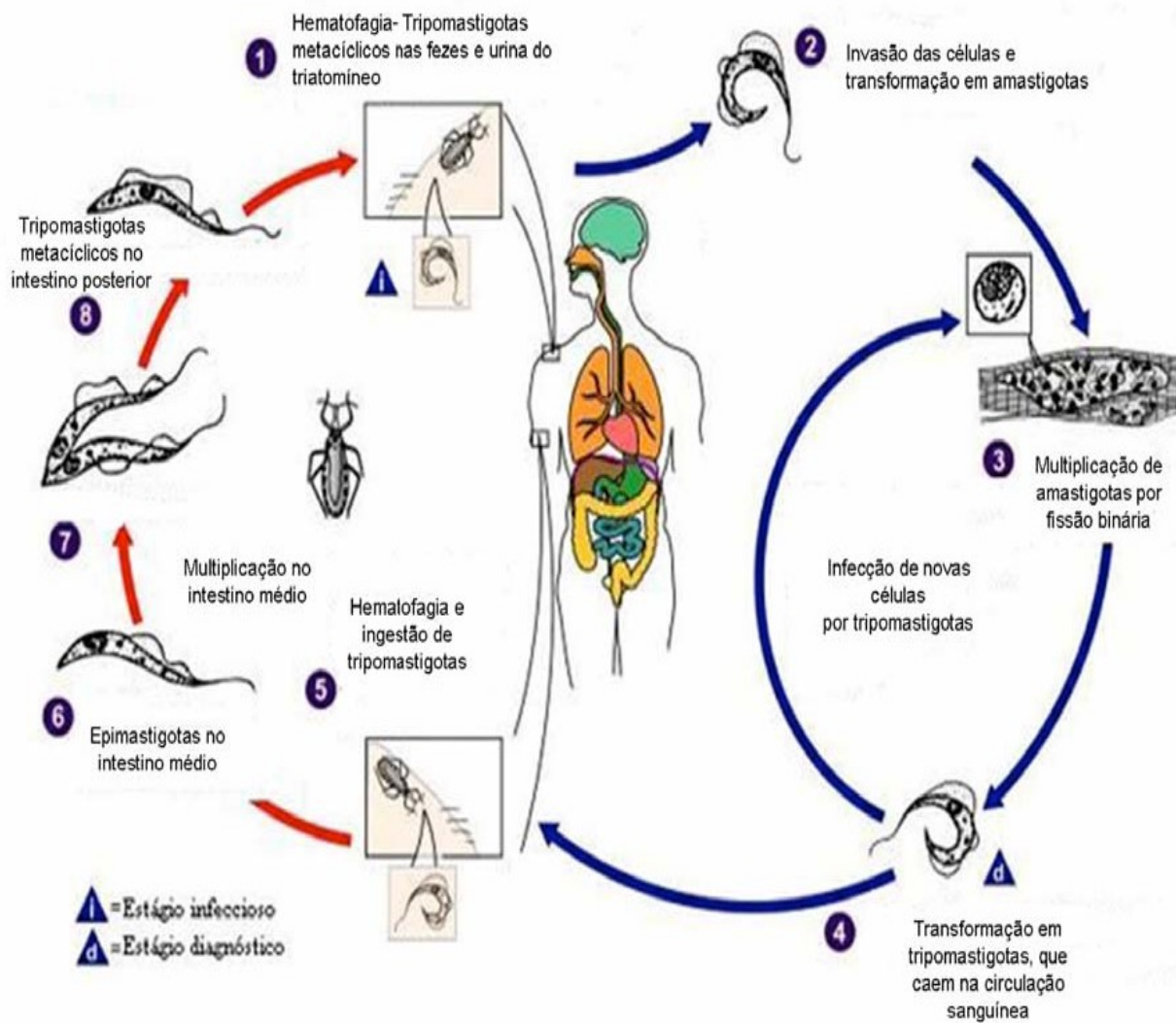
A interação parasito-hospedeiro é bastante dinâmica, envolvendo múltiplos fatores que atuam na patogênese da doença de Chagas, alguns inerentes ao parasito, tais como polimorfismo das formas sangüíneas, tropismo tecidual, constituintes antigênicos, carga parasitária além daqueles relacionados ao hospedeiro, como constituição genética, estado nutricional, idade e sexo (Brener 1997). Tanto no homem como nos animais, a penetração tecidual do parasito é seguida de um período pré-patente, que reflete o baixo parasitismo inicial, onde, nas células dos hospedeiros vertebrados, as formas amastigotas se multiplicam exponencialmente, formando assim o foco primário da infecção, e se diferenciam em seguida em tripomastigotas que, após o

rompimento da célula são liberadas no sangue periférico (Figura 1). Esse parasitismo tende ao declínio, frente à eficiente resposta imune do hospedeiro, tornando-se sub-patente quando se inicia a fase crônica. Nos tecidos dos hospedeiros vertebrados, o *T. cruzi* pode induzir, em qualquer tecido ou órgão, três processos patológicos fundamentais: a resposta inflamatória, lesões celulares e fibrose, os quais podem ser seqüenciais ou o que é mais habitual, serem simultâneos ou inter-relacionados (Lopes & Chapadeiro 1997).

É certo que a transmissão natural da doença de Chagas no país foi grandemente reduzida e que há tecnologia bastante para sustentar os níveis de controle alcançados. Em particular, o Brasil e outros países do Cone Sul (Uruguai e Chile) estão comemorando a eliminação do *Triatoma infestans* em vastas regiões, o que representou significativa redução nos índices de incidência e de impacto da doença humana. Aliás, a redução da transmissão vetorial sempre resulta também na diminuição em médio prazo de doadores de sangue e de gestantes infectados, o que reduz os riscos de transmissão transfusional e congênita (Dias & Coura 1997, Dias & Schofield 1998).

Os principais desafios da doença de Chagas no Brasil a serem enfrentados, nos próximos anos, são: os riscos de reemergência da transmissão pelo *Triatoma infestans*; a adaptação (Borges 1999) de outras espécies de triatomíneos, *secundários*, ao domicílio; a desativação dos programas de controle e de vigilância vetorial em muitos municípios; a necessidade de atenção médica e social à grande massa de chagásicos crônicos necessitando de tratamento; o estudo e a prevenção de mecanismos alternativos de transmissão, como por via oral; e o controle do ufanismo de pesquisadores, sanitaristas e executivos de agências nacionais e internacionais que consideram a doença de Chagas com os dias contados, o que não é verdade e possibilita redução ainda maior nos recursos e prioridades destinados ao controle da doença (Dias 2002).





**Figura 1:** Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*. Fonte: WHO 2005.

## **1.2-MECANISMOS DE TRANSMISSÃO:**

Atualmente, na dinâmica da transmissão da doença de Chagas, embora ainda predomine a via vetorial na maioria do continente, tem aumentado a importância relativa de formas secundárias e alternativas de transmissão como a transfusional, a congênita, por transplantes de órgãos e por acidentes laboratoriais (Dias 2000).

Como decorrência de tal situação as conhecidas formas de infecção rotuladas como alternativas passaram a merecer maior atenção, porquanto os atingidos pela protozoose continuam podendo causar novos comprometimentos, capazes então de prejudicar o pleno êxito de medidas preventivas adotadas até agora (Rassi et al. 2004).

Têm sido descritos outros mecanismos menos importantes epidemiologicamente (Dias 1979) de transmissão do *T. cruzi*, como através de transplante de rim (Dias 1987), da ingestão de leite materno (Medina-Lopes 1988), pela via oral que embora nem sempre bem caracterizado, via de regra o fato comum se prende à estada de indivíduos suscetíveis em espaços geográficos definidos e em momento restrito, implicando-se como veículo de transmissão diferentes tipos de alimento, como comida caseira, suco de cana ou açaí, sopas e caldos, carne de caça semicrua, leite etc, quase sempre se registrando a presença de vetores e/ou reservatórios infectados nas imediações do evento ou na área de produção ou manuseio do alimento (Dias 2006).

## **1.3-A DOENÇA:**

A doença de Chagas é caracterizada por duas fases distintas: a fase aguda com intensidade e duração variáveis, ocorrendo uma intensa multiplicação parasitária que origina manifestações clínicas como febre, mal estar, astenia, presença de sinais de porta de entrada (sinal de Romaña e Chagoma de inoculação), edema, esplenomegalia e hepatomegalia, porém a

grande maioria dos indivíduos não apresenta nenhuma sintomatologia. Na passagem para a fase crônica estão envolvidos importantes fenômenos de imunomodulação, como declínio acentuado da parasitemia e redução progressiva dos fenômenos inflamatórios. Em geral, a fase crônica inicia-se com a forma indeterminada, também denominada latente, sub-clínica, apresentando eletrocardiograma, raios-X do coração, cólon e esôfago normais. Aproximadamente 20-25% dos indivíduos infectados evoluem para cardiopatia chagásica crônica, apresentando progressivo dano cardíaco resultante da destruição maciça de cardiomiócitos e do sistema condutor e, 5-10% são acometidos de síndromes digestivas, destacando-se a esofagopatia e a colopatia (Cunha-Neto et al. 1995). Vários trabalhos têm apontado para a existência de fatores supressivos da resposta do hospedeiro na infecção crônica suspeita-se da existência de células supressoras e demonstra-se, *in vitro*, que os linfócitos apresentam inibição na produção de IL-2 (Arribada et al. 1986, Luquetti 1987).

Desde a década de 1960 diversas publicações têm demonstrado que o *T. cruzi* pode comportar-se como um patógeno oportunista em pacientes portadores de diversas condições imunossupressoras, tais como neoplasias hematológicas, transplante de órgão sólido (rins, coração, fígado) e mais recentemente na Síndrome da Imunodeficiência Adquirida-AIDS (Ferreira 2001).

Estudos, tanto *in vitro* quanto no homem, têm demonstrado que a infecção aguda pelo *T. cruzi* causa severa imunodepressão no hospedeiro. Também foi demonstrado que na fase aguda, o *T. cruzi* tem a capacidade de induzir diminuição na expressão das moléculas de superfície CD3+, CD4+ e CD8+, bem como de receptores de IL-2 (Higuchi 1995).

Se a imunodepressão também está presente na fase crônica da doença de Chagas, é assunto controvertido. Estudos experimentais têm mostrado deficiência da função *helper* na fase crônica da doença de Chagas (Higuchi 1995).

A gestante, com infecção aguda ou crônica pode transmitir a infecção ao feto em qualquer período da gestação, inclusive no primeiro trimestre, quando o trofoblasto é mais espesso (Freilij & Altchek 1995) e, até no canal do parto, pelo contato das mucosas do feto com o sangue da mãe infectada.

O grau de parasitemia e as características da cepa nas mães infectadas, fatores placentários, obstétricos e da imunidade e nutrição maternas podem estar relacionados com esta transmissão, mas esses fatores ainda são pouco conhecidos (Torrìco et al.2004, Hermann et al.2004, Streiger et al.1995, Moretti et al. 2005).

A transmissão congênita do tripanosoma parece depender de fatores como reinfecções freqüentes e/ou infecção com cepas mais virulentas (Hermann et al. 2004), e a alta parasitemia materna está relacionada, em geral, com maior transmissão. Mas, embora sejam raros os relatos de gestantes com infecção chagásica aguda, Moretti et al. (2005) relatam o achado de mães com infecção aguda, parasitemia elevada, e filhos não infectados. Com o controle da transmissão vetorial em países endêmicos como a Bolívia, certamente haverá menor índice de reinfecções nas gestantes e conseqüentemente, uma provável redução da morbidade e mortalidade da infecção congênita (Torrìco et al. 2004).

O conceito pode adquirir a infecção da mãe, via transplacentária, geralmente após o 6º mês de gestação, entre 22 e 37 semanas o que parece depender de fatores ligados ao parasito e ao hospedeiro (Garcia 2001, Freilij & Altchek 1995). 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, 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 (Freilij & Altchek 1995, Torrico et al. 2004).

Formas menos frequentes de transmissão materna da doença de Chagas 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 (Sarasúa 1993, Mazza et al. 1936).

Como consequência da infecção materna, pode ocorrer desde abortamento e feto macerado, prematuridade, natimortalidade, retardo do crescimento intra-uterino, deformações, até neonatos vivos com ou sem sintomatologia de doença de Chagas 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, corioretinite 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 (Bittencourt 1968, Pehrson et al. 1982, Almeida & Barbosa 1986).

Devido às possibilidades de que essa transmissão congênita da doença de Chagas possa ocorrer em 1% a 4% das mulheres com reação sorológica positiva para Chagas, de que as crianças infectadas possam desenvolver sintomas ao nascimento ou durante as primeiras semanas de vida, e de que a doença 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 (Azogue & Darras 1991, Arvin & Maldonado 1995).

## **1.4-DIAGNÓSTICO LABORATORIAL:**

O diagnóstico etiológico da infecção pelo *T. cruzi* deve ser realizado por meio da procura do parasito ou de anticorpos dirigidos contra antígenos desses parasitos, dentro de contexto epidemiológico e clínico (Luquetti 2000).

A infecção pode-se encontrar na fase aguda ou crônica, e os exames solicitados vão depender da suspeita clínica quanto à fase da infecção, ou seja, testes parasitológicos para o correto diagnóstico etiológico da fase aguda e testes sorológicos quando a suspeita é de fase crônica (Luquetti 2000).

### **1.4.1 DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO:**

Na fase aguda, devido a parasitemia patente, o encontro de tripomastigotas do *T. cruzi* pode ser feito por métodos diretos, ao microscópio ótico. Em geral, nesta fase, e durante muitos anos na maioria dos pacientes, há ausência de manifestações clínicas. Portanto, quando há suspeita clínica esta deve ser considerada num contexto epidemiológico e ser confirmada pela demonstração de anticorpos contra o *T. cruzi* e/ou pela presença de parasitos circulantes (Luz 1994). Neste período, a procura do parasito a fresco, entre lâmina e lamínula, torna o teste mais fácil, econômico e eficaz. Às vezes, a parasitemia menor exige técnicas diretas de concentração como a de Strout ou microhematócrito, utilizado em lactentes. Em raras circunstâncias, quando existe suspeita clínica de fase aguda, sem se encontrar o parasito pelas técnicas citadas, pode-se

solicitar a pesquisa de anticorpos da classe IgM anti- *T. cruzi* que, embora seja positiva em mais de 90% dos soros de pacientes que adquiriram a infecção por mecanismo transfusional ou vetorial, pode apresentar reações falso-positivas quando existe fator reumatóide (Luquetti 2000).

Os métodos parasitológicos indiretos, hemocultura e xenodiagnóstico, utilizados na pesquisa do *T. cruzi* na fase crônica são em geral de baixa sensibilidade e a parasitemia é habitualmente baixa, motivo pelo qual a pesquisa do parasito não é utilizada rotineiramente (Castro et al. 2002, Luquetti 2000).

A utilização da hemocultura como método de diagnóstico parasitológico da doença de Chagas durante a fase crônica tem sido limitada pelos baixos índices de positividade obtidos. No entanto, permanece a necessidade de padronização de métodos que permitam detectar o *T. cruzi* em pacientes na fase crônica. A análise dos resultados obtidos por Chiari & Brener (1966), quando utilizaram o meio LIT em hemoculturas seriadas poderia aumentar a sensibilidade do método, permitindo o seu emprego na seleção de pacientes parasitologicamente comprovados que se destinam a ensaios clínicos e na avaliação terapêutica da ação de novos compostos (Mourão & Chiari 1975).

Embora o *T. cruzi* possa ser facilmente cultivado em meio axênico, contendo derivados de hemina, como o LIT (Camargo 1964), a positividade da hemocultura não apresenta resultados satisfatórios. Resultados de estudos em vários grupos de pacientes com doença de Chagas 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 hemoculturas (Chiari et al. 1989). Por outro lado, a hemocultura vem sendo utilizada como um importante procedimento para o isolamento de cepas para estudos bioquímicos do *T. cruzi*.

Outros métodos parasitológicos como a inoculação em animais, camundongos ou cobaias e a cultura de células *in vitro*, são pouco recomendáveis para fins de diagnóstico (Ferreira 2001). As técnicas de biologia molecular que detectam DNA e/ou RNA de agentes infecciosos, dentre eles o *T. cruzi*, visando ao diagnóstico, surgiram bastante promissoras, principalmente com a descrição da PCR (Luz 1994).

As técnicas baseadas na hibridização do DNA com sondas moleculares marcadas com substâncias radioativas, biotina ou substratos quimioluminescente (Ashall et al. 1988, Solari et al. 1991, Almeida et al. 1994) ou na amplificação de seqüências específicas do DNA ou RNA (ácido ribonucléico), obtidas pela PCR tem sido utilizadas (Saiki et al. 1985, Mullins & Faloona 1987).

#### **1.4.2 DIAGNÓSTICO IMUNOLÓGICO:**

Os ensaios sorológicos são bastante sensíveis, entretanto seu desempenho pode variar em função dos reagentes, procedimentos técnicos e diferentes critérios de avaliação dos resultados (Camargo et al. 1986). Resultados falsos negativos podem ocorrer, devido à variação nos títulos de anticorpos na fase crônica com resultados transitoriamente negativos (Rassi et al. 1969) e nos casos de indivíduos sorologicamente negativos, porém parasitologicamente positivos (Luquetti 1987, Pless et al. 1992, Brenière et al. 1984, Brenière et al. 1989). Além disso, resultados falsos positivos ocorrem devido à reatividade antigênica cruzada em *Leishmania* sp (Araújo 1986, Chiler et al. 1990), *T. rangeli* (Basso et al. 1991, Saldaña et al. 1995, Saldaña & Souza 1996) ou a presença de auto-anticorpos capazes de reagir com lipídeos, carboidratos e epítopos polipeptídicos comuns ao parasito e aos hospedeiros (Laguens et al. 1991, Levin et al. 1991, Petry & Van Voorhis 1991, Velasquez et al. 1993).



Os três testes mais empregados são a HAI, a imunofluorescência indireta (IFI) e o teste imunoenzimático (ELISA por *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) em face da existência de conjuntos diagnósticos no mercado de diferentes procedências. Estes três tipos de testes têm sido empregados no diagnóstico sorológico da infecção pelo *T. cruzi* nos últimos 25 anos, em diferentes países, com excelentes resultados, sendo por isso conhecidos como testes convencionais. Outros testes sorológicos, não convencionais, alguns já comercializados, podem também ser empregados, desde que acompanhados de um dos três convencionais. Dentre os novos testes, encontram-se alguns que utilizam antígenos purificados ou recombinantes ou peptídeos sintéticos. Outros empregam novas tecnologias, como a quimioluminescência, a precipitação em gel, o emprego de fitas de nitrocelulose contendo antígenos, e o Fluorescence Activated Cell Sorter (FACScan). As vantagens destes novos testes incluem maior rapidez nos resultados e especificidade aumentada, porém a maioria apresenta, em maior ou menor grau, sensibilidade menor, além de aumento dos custos (Luquetti 2000).

As formas tripomastigotas do *T. cruzi* em cultivo de tecido liberam, espontaneamente, no meio de cultura, antígenos (polipeptídios) de diferentes pesos moleculares (Ouaissi et al. 1990) que também têm sido empregados com sucesso no diagnóstico da infecção chagásica, assim como no acompanhamento de paciente pós-tratamento etiológico (Jazin et al. 1991, Krautz et al. 1994). Jazin et al. (1991) relataram a mudança de reconhecimento de antígenos na fase aguda (SAPA-Shed acute phase antigen e AG de 45-55 KDa) para a fase crônica (160-170 KDa) em soros de pacientes infectados com populações de *T. cruzi* resistentes à terapêutica específica após um ano de acompanhamento.

## 2-JUSTIFICATIVA

Desde a descrição da doença de Chagas congênita, 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 (Nattan-Larrier 1921, Dão 1949).

A frequência da transmissão vertical varia de acordo com a região e a metodologia de estudo de 1,6 a 18,5% (Bittencourt 2000). Trata-se de mecanismo de perpetuação dessa enfermidade parasitária que vem crescendo de importância nas últimas décadas em regiões endêmicas e urbanas, onde estão concentrados muitos migrantes acometidos pelo *T. cruzi*. Os fatores possibilitadores da transmissão materno-fetal do *T. cruzi* não estão bem esclarecidos: a cepa e a presença de parasitas circulantes no sangue podem estar envolvidas. O diagnóstico é muitas vezes confirmado pela presença do protozoário no sangue do recém-nascido, analisado pelo exame direto ou pelo xenodiagnóstico. Os anticorpos da classe IgM anti-*T. cruzi* são detectáveis por imunofluorescência indireta e ELISA, cumprindo assinalar que, às vezes, são de aparecimento tardio (decorridos vários meses após o nascimento), exigindo pesquisas múltiplas para sua detecção, ao contrário do observado em casos agudos não-congênicos (Bittencourt 1984). A persistência de anticorpos específicos da classe IgG por um período maior que 6 meses indica infecção congênita (Bittencourt 2000).

A forma definitiva de caracterizar a infecção ativa pelo *T. cruzi* em pacientes chagásicos é a demonstração de tripomastigotas sanguíneos circulantes através dos testes parasitológicos. No entanto, na fase crônica da doença de Chagas estes métodos parasitológicos são de baixa sensibilidade. Por exemplo, os testes de hemocultura e o de xenodiagnóstico são capazes de

detectar o parasito em média em 50% dos casos não tratados quando feitos uma só vez (Chiari 1992).

A repetição seriada da hemocultura aumenta sua positividade. A presença intermitente e inconstante de parasitos circulantes permite compreender a presença de protozoários no sangue sugado por um triatomíneo apenas, entre os 40 aplicados, assim como em um tubo dos seis/sete utilizados no hemocultivo, que por vezes não se encontra nos 10 ml obtidos para o PCR. Todas essas técnicas implicam na reprodução dos escassos parasitos obtidos, após prazos de 30 a 180 dias conforme a técnica empregada, ou, no caso da PCR, na amplificação de fragmentos do DNA em contato com iniciadores apropriados. Nenhuma destas técnicas se encontra ainda disponível no mercado, sendo todas de custo elevado, seja pelo tempo despendido na sua realização, seja pelos reagentes empregados (Castro et al. 2002, Luquetti & Rassi 2000).

O estado de incompetência imunológica temporária que a mulher apresenta durante a gestação por “aceitar”, o feto seria o responsável pela melhoria de muitos quadros de hipersensibilidade que ocorrem na gestação. Estas alterações geralmente surgem na segunda metade da gravidez. Por outro lado, o feto poderia produzir um estímulo imunológico e determinar uma piora destes mesmos sintomas. Portanto, estariam explicadas as manifestações de piora a alguns sensibilizadores, enquanto que outras acusam melhora (Black et al. 2002, Schatz et al. 1993). Estas alterações imunológicas que normalmente ocorrem na gravidez podem ser agravadas pelos vários graus de anemia e pelo estado nutricional da gestante. Alguns autores têm proposto que a imunodepressão associada à anemia, deficiência de ferro ou à desnutrição severa, predispõe as pacientes grávidas a infecções (Vaz et al. 1990).

O grau de parasitemia e as características da cepa do *T. cruzi* nas mães infectadas, fatores placentários, obstétricos e da imunidade e nutrição maternas podem estar relacionados com esta

transmissão (Freilij et al.1994, Amato-Neto et al. 1977, Freilij 1992, Sarasúa 1993), mas esses fatores ainda são pouco conhecidos. A alta parasitemia materna está relacionada, em geral, com maior transmissão.

## **3-OBJETIVOS**

### **3.1- OBJETIVO GERAL**

Avaliação do perfil de parasitemia num grupo de 150 mulheres infectadas pelo *T.cruzi*, sendo 100 grávidas e 50, não grávidas, pela técnica da hemocultura.

### **3.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Correlacionar a epidemiologia das pacientes chagásicas com idade, idade gestacional *versus* parasitemia.
- Comparar o parasitismo sanguíneo das pacientes chagásicas grávidas com as não grávidas.

## **4-MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 – SELEÇÃO DOS PACIENTES:**

A população estudada foi constituída de 150 mulheres infectadas pelo *T. cruzi*, sendo 100 grávidas e 50 não grávidas (grupo controle), atendidas e acompanhadas no Ambulatório e Laboratório de Chagas do Hospital das Clínicas da UFG, Goiânia, GO, no período de 06/2006 a 07/2007. As gestantes infectadas foram selecionadas por estarem em período gestacional e as mulheres do grupo controle, tinham exames prévios positivos para diagnóstico da doença de Chagas. As mulheres envolvidas neste projeto foram esclarecidas quanto aos objetivos do mesmo, e dele participaram somente aquelas que concordaram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), em anexo. Este projeto de pesquisa foi submetido e aprovado no Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da UFG, CEPMHA/HC/UFG N° 056/06 Goiânia, GO.

Toda parte experimental deste projeto foi realizada com o conhecimento dos resultados da sorologia convencional.

### **4.2 DIAGNÓSTICO IMUNOLÓGICO:**

Todas as amostras dos soros coletados foram submetidas aos testes sorológicos convencionais: Imunofluorescência Indireta - IFI (Camargo 1966), Hemaglutinação Indireta-HAI (Camargo et al. 1973) e ensaio Imunoenzimático - *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* – ELISA (Voller et al. 1975).

### **4.2.1 IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA - IFI:**

Consistiu na incubação durante 30 min a 37°C do soro diluído com antígeno de epimastigotas do *T. cruzi* fixados em lâminas de microscopia convenientemente demarcada. Após lavagens sucessivas, procedeu-se a incubação com conjugado (FITC-Biomeriéux®, França) nas mesmas condições anteriormente descritas, seguidas de novas lavagens em recipientes próprios com PBS. As lâminas secaram à temperatura ambiente e foram montadas com lamínulas e glicerina tamponada. As leituras foram realizadas em microscópio de fluorescência, cuja luz ultravioleta ativa o isotiocianato de fluoresceína presente apenas nos parasitos que apresentaram anticorpos ligados à sua superfície. Os soros foram testados numa diluição inicial de 1:10 e considerados positivos aqueles que apresentaram fluorescência superior à 1:40.

### **4.2.2 TESTE IMUNOENZIMÁTICO - ELISA**

As formas epimastigotas do *T. cruzi* (antígeno bruto), foram adsorvidas em microplacas de microtitulação, onde foram adicionados 0,1ml dos soros em diluição única de 1:100. Após a incubação de 2h e lavagem adicionou-se o conjugado previamente testado e titulado, composto por anticorpos anti-IgG humana conjugada a enzima peroxidase (Sigma Chemical® Co, USA). Após 2h de incubação a 37°C e novamente lavadas, adicionou-se o substrato (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e o cromógeno (orto-fenileno-diamina), substância incolor que adquire coloração sob ação do substrato. Essa reação foi interrompida em até 30 min com adição de ácido sulfúrico. A seguir, procedeu-se à leitura da intensidade da cor obtida em cada poço da microplaca com auxílio de espectrofotômetro (Teçam-Espectra Classic®, USA) que, indicou a reatividade de cada cavidade em densidade óptica (DO) e foram consideradas positivas todas as amostras que possuíram DO

maior que o ponto de corte. O valor do ponto de corte (*Cut-off*) foi determinado por placa. Este valor foi calculado a partir da média de controles negativos e positivos de baixa reatividade. O índice de referência foi calculado pela divisão da DO pelo *cut-off*.

### **4.2.3 HEMAGLUTINAÇÃO INDIRETA - HAI**

Consistiu basicamente na diluição progressiva dos soros em microplacas de poliestireno de 96 poços de fundo em “V” com capacidade de 0,25ml por poço, inicialmente de 1:32 seguida de diluição seriada por 4 poços da placa. A seguir, adicionou-se o antígeno, constituído pelas hemácias de carneiro sensibilizadas (Kit–Wiener®). Após uma hora em repouso à temperatura ambiente realizou-se a leitura da imagem obtida em cada poço, quando foram visualizadas as imagens puntiformes sedimentadas no fundo do poço, as reações foram consideradas negativas, e positivas, quando uma “rede” ou “tapete” de hemácias cobriram todo ou parcialmente o fundo da placa observada.

### **4.3 DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO:**

Trinta mililitros de sangue de cada paciente foram colhidos para realização da hemocultura em meio LIT, idealizado por Yaeger e descrito por Fernandes & Castellani (1964) e Camargo (1964). O protocolo utilizado foi o de Chiari et al. (1989) com algumas modificações sugeridas por Luz et al (1994). O sangue venoso foi coletado utilizando tubos *vacutainer* contendo heparina sódica e processado no máximo em 4 horas. O sangue foi centrifugado a 1.000 g durante 10 min a 4°C em centrífuga (Janetzki-K24) e o plasma removido e centrifugado à parte, ao seu sedimento adicionou-se 3 ml de LIT. Ao sedimento de hemácias acrescentou-se igual volume do plasma removido de meio de cultura LIT *Liver Infusion Tryptose* (Camargo,



1964) centrifugado a 1.000 g durante 10 min a 4°C. A seguir, desprezou-se o sobrenadante e o sedimento de hemácias foi ressuspenso em meio LIT. Após homogeneização, alíquotas de 2-3ml foram distribuídas em seis tubos plásticos de 15ml (Falcon®, USA) contendo 3 ml de meio LIT.

Os tubos foram mantidos em estufa BOD (General Eletric-FANEN-LTDA) a 28°C e homogeneizados duas vezes por semana para aeração. Alíquotas de 0,01 ml da suspensão de cada tubo foram examinadas entre lâmina e lamínula ao microscópio com aumento de 400x aos 30, 60, 90, 120 e 150 dias após o exame. A partir das hemoculturas positivas foram realizados repiques em meio LIT e criopreservação em N<sub>2</sub> líquido a -196°C e estes estoques serão utilizados posteriormente para estudos biológicos e moleculares.

#### **4.4-ANÁLISES ESTATÍSTICAS:**

Para o cálculo das análises estatísticas foi utilizado o teste do X<sup>2</sup> (qui- quadrado) e o programa EPI INFO versão 6.04 – Janeiro / 2001 / WHO.

## **5-RESULTADOS**

Serão apresentados em forma de Artigo.

Este artigo será submetido a Experimental Parasitology. ELSEVIER, <http://ees.elsevier.com/ep>.

### **INFLUÊNCIA DA GESTAÇÃO NA PARASITEMIA POR HEMOCULTURA EM MULHERES INFECTADOS PELO *Trypanosoma cruzi* NA FASE CRÔNICA**

**Liliane da Rocha Siriano<sup>a</sup>, Neusa Gonçalves Leal Marra<sup>b</sup>, Alejandro Ostermayer Luquetti<sup>a, b</sup> and Ana Maria de Castro<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia GO, Brasil; <sup>b</sup> Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina – Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, Brasil.

Corresponding author: Ana Maria de Castro, Laboratório de Biologia, Fisiologia e Imunologia de Protozoários de interesse humano – DIMPP do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública  
Rua 235 esq. com 1a. Avenida s/n, 74605-020 Goiânia, GO, Brazil.

Tel. 55 62 35211840, fax. 55 62 3521 1839

*E-mail address: amaria@iptsp.ufg.br*

**RESUMO:**

A sensibilidade da hemocultura foi estudada em 150 mulheres na fase crônica da doença de Chagas, 100 gestantes e 50 não gestantes (controle). 4 mulheres estavam no primeiro trimestre de gestação, 62 no segundo e 34 no terceiro. As gestantes tinham idade média de 29,2 anos e 34,1 anos, no grupo controle. Nas gestantes foram observados 59% de positividade, enquanto no grupo controle 32%. Foram realizados 7 tubos para cada hemocultura, num total de 1.050 tubos examinados mensalmente, até no 150º dia, totalizando 5.250 exames microscópicos. Nas gestantes, a parasitemia foi baixa em 41 % dos tubos, média em 21%, e alta em 38% e no grupo controle, foi baixa em 68%, média em 18% e alta, em 14%. 56 gestantes eram provenientes da Bahia, com 58,9 % de hemocultivos positivos, 36 de Goiás com 61,0% positivos e 8 de outros estados com 50% de positividade. Estes resultados demonstraram que a hemocultura permitiu detectar diferenças significativas ( $p < 0,001$ ) quanto à parasitemia, em gestantes em relação ao controle.

**Palavras Chaves:** Hemocultura, gravidez, *Trypanosoma cruzi*, perfil de parasitemia

**ABSTRACT:**

The sensitivity of hemocultura was studied in 150 women in the chronic phase of Chagas disease, 100 pregnant and 50 not pregnant (control). 4 women were in the first trimester of gestation, 62 in the second and 34 in the third. The pregnant had average age of 29.2 years and 34.1 years in the control group. In pregnant were observed 59% of positivity, whereas in the control group 32%. Been made 7 tubes for each hemocultura, for a total of 1,050 tubes examined monthly, until the 150th day, totaling 5,250 examinations microscopic. In pregnant, the parasitemia was low in 41% of the tubes, average at 21%, and high in 38% and the control group was low in 68%, average by 18% and high, at 14%. 56 pregnant were from Bahia, with 58.9% of hemocultivos positive, 36 of Goiás with 61.0% positive and 8 from other states with 50% of positivity. These results demonstrated that hemocultura identified significant differences ( $p < 0001$ ) on the parasitemia in pregnant on control.

**Keywords:** Blood culture, pregnant, *Trypanosoma cruzi* and Parasitemia profile

## INTRODUÇÃO:

A doença de Chagas é uma das enfermidades de maior prevalência no continente americano. No Brasil, estima-se a existência de 2,0 a 2,5 milhões de indivíduos infectados, encontrados em quase todos os estados brasileiros, porém, com grande predomínio nas regiões Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste, nesta, devido ao grande fluxo migratório rural para grandes centros urbanos (Feitosa e Krieguer 1991; Vinhaes e Dias 2000). Com a implementação de programas de eliminação do vetor, a situação epidemiológica da doença é de controle em vários países da América Latina (Moncayo 1999; Silveira e Vinhaes 1998 e 1999; WHO 2000). O Brasil recebeu no dia 9 de junho de 2006, a Certificação Internacional de Eliminação da Transmissão da Doença de Chagas pelo *Triatoma infestans*, conferida pela Organização Pan-Americana da Saúde (MS 2006). Entretanto, surgem, nos últimos anos, casos agudos decorrentes de outras formas de transmissão da doença, como a transfusional, por transplante de órgãos, casos de reagudização da infecção, em decorrência de estado de imunossupressão, como quimioterapia, após transplante de órgãos e em portadores da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida e a oral, com dois surtos recentes, (Chieffi e Amato-Neto 2000). A infecção por via oral é possível, pela ingestão de alimentos contaminados por fezes de triatomíneos, tais como, cana-de-açúcar, banana, milho e feijão, bem como pela ingestão de carne crua de animais infectados (Shikanai-Yasuda et al. 1991). Na região amazônica, há relatos indicando que indivíduos infectaram-se ingerindo suco de açaí, fruto de uma palmeira que é habitat de espécies de *Rhodnius* (Valente et al. 1999). A doença de Chagas é caracterizada por duas fases distintas: a fase aguda com intensidade variável, ocorrendo uma intensa multiplicação parasitária que origina manifestações clínicas como febre, mal estar, astenia, presença de sinais de porta de entrada (Romaña e Chagoma de inoculação), edema, esplenomegalia e hepatomegalia podem ocorrer, porém a grande maioria

dos indivíduos não apresenta nenhuma sintomatologia. Na passagem para a fase crônica estão envolvidos importantes fenômenos de imunomodulação como declínio acentuado da parasitemia e redução progressiva dos fenômenos inflamatórios (Cunha-Neto et al. 1995). É importante ressaltar que, além das alterações individuais, a doença de Chagas apresenta-se como uma importante doença de contexto social, uma vez que constitui uma enfermidade crônica debilitante e incapacitante (Schmuñis et al. 2000).

Na doença de Chagas crônica, apesar da forte resposta imune desenvolvida pelo hospedeiro, o parasito sobrevive em níveis sub patentes e pode ser recuperado do sangue circulante por meio de métodos parasitológicos indiretos como a hemocultura e o xenodiagnóstico. É bem conhecido o fato de que a imunossupressão pode levar a recrudescência na fase crônica da doença de Chagas, tanto em animais como no homem (Jost et al.1977; Monteverde et al.1976).

Possivelmente, a imunossupressão permita a ativação de subpopulações do parasito bloqueadas pela resposta imune do hospedeiro, as quais podem apresentar características biológicas e genéticas diferentes da população inicial como neurotropismo (Pacheco e Brito 1999).

O período gestacional representa um modelo único na natureza. Compreende um estado imunológico altamente complexo, com freqüente exacerbação de enfermidades ou alterações pré-existentes. Do ponto de vista imunológico tem sido um grande desafio tentar entender quais os mecanismos envolvidos na não rejeição da placenta pelo sistema imunológico materno, já que a mesma, por ser de origem embriônica, contém material genético tanto materno como paterno (Medawar1953).

O estado de incompetência imunológica temporária que a mulher apresenta durante a gestação por “aceitar”, o feto seria o responsável pela melhoria de muitos quadros de hipersensibilidade que ocorrem na gestação. Estas alterações geralmente surgem na segunda metade da gravidez.

Por outro lado, o feto poderia produzir um estímulo imunológico e determinar uma piora destes mesmos sintomas. Portanto, estariam explicadas as manifestações de piora a alguns sensibilizadores, enquanto que outras acusam melhora (Black et al. 2002; Schatz et al. 1993). Estas alterações imunológicas que normalmente ocorrem na gravidez podem ser agravadas pelos vários graus de anemia e pelo estado nutricional da gestante. Alguns autores têm proposto que a imunodepressão associada à anemia, deficiência de ferro ou à desnutrição severa, predispõe as pacientes grávidas a infecções (Vaz et al. 1990).

A prevalência da infecção chagásica em gestantes, principal fator de risco para a infecção congênita, varia de 2 a 51% em áreas urbanas e de 23 a 81% nas áreas rurais da América Latina (Freilij e Altcheh 1995). No Brasil esta prevalência varia entre 0,3 e 33% (WHO 1991).

A taxa de transmissão da infecção chagásica da mãe infectada para o filho varia de 1 a 18,5% na maioria dos estudos, de acordo com a metodologia utilizada, podendo ser ainda maior em algumas regiões (Hermann et al. 2004; Nisida et al. 1999; Moretti et al. 2005; Rassi et al. 2004). No Brasil a taxa de transmissão varia de 1 a 4%, sendo, em Minas Gerais, de 1,7% (Gontijo et al. 1998). Como há diferenças geográficas na frequência da transmissão congênita da doença de Chagas, a origem das mães pode eventualmente representar um fator de risco (Bittencourt, 1992). A gestante, com infecção aguda ou crônica pode transmitir a infecção ao feto em qualquer período da gestação, inclusive no primeiro trimestre, quando o trofoblasto é mais espesso e, até no canal do parto, pelo contato das mucosas do feto com o sangue da mãe infectada (Bittencourt, 1992). O grau de parasitemia e as características da cepa nas mães infectadas, fatores placentários, obstétricos e da imunidade e nutrição maternas podem estar relacionados com esta transmissão (Torrice et al. 2004; Hermann et al. 2004; Streiger et al. 1995; Moretti et al. 2005), mas esses fatores ainda são pouco conhecidos. A elevada parasitemia materna está relacionada,

em geral, com maior transmissão. Mas, embora sejam raros os relatos de gestantes com infecção chagásica aguda, Moretti et al. (2005) relatam o achado de mães com infecção aguda, parasitemia elevada, e filhos não infectados. Com o controle da transmissão vetorial, certamente, haverá menor índice de infecções nas gestantes, com provável redução da morbidade e mortalidade da infecção congênita (Freilij et al. 1994).

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 parasito e ao hospedeiro (Azogue et al. 1985; Bittencourt 1992). 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, 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 (Bittencourt 1992; Freilij et al. 1994). Formas menos frequentes 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 (Sarasúa 1993; Mazza et al. 1936).

Desta forma, este trabalho tem como objetivo a avaliação do perfil de parasitemia num grupo de 150 mulheres chagásicas crônicas, sendo 100 grávidas e 50 não grávidas, pela técnica da hemocultura, a comparação da idade, possível estado de aquisição da infecção, faixa etária e idade gestacional *versus* parasitemia.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

**Local de Realização:** Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia, Fisiologia e Imunologia de Protozoários de Interesse Humano do DMIPP/IPTSP - UFG em colaboração com



Laboratório de Pesquisa em Doença de Chagas do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, que detém a maior concentração de pacientes portadores da Doença de Chagas, atendidos na cidade de Goiânia - Goiás e com de Instituto de Diagnóstico e Prevenção (IDP) da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de Goiânia (APAE).

**População estudada:** A população alvo desta pesquisa constituiu-se de 150 mulheres infectadas pelo *T. cruzi*, sendo 100 gestantes e 50 em idade fértil (grupo controle) no período de 06/2006 a 07/2007. Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Médica e Animal do Hospital das Clínicas, CEPMHA/HC/UFG N°. 056/06. As participantes desta pesquisa foram atendidas e acompanhadas no Ambulatório e Laboratório de Chagas do Hospital das Clínicas da UFG, Goiânia, Goiás. Foram esclarecidas quanto aos objetivos da mesma e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, previamente aprovado pelo Comitê de Ética. Após o esclarecimento, responderam a um questionário, com dados epidemiológicos como idade, local de nascimento, quantidades de abortos e filhos, doença prévia e no grupo das gestantes foi incluído o mês de gestação.

**Critérios de inclusão:** Infecção confirmada por provas sorológicas; confirmação de participação neste estudo. No grupo das gestantes foram incluídas aquelas que estavam grávidas e infectadas pelo *T. cruzi*, independente da idade e que quiseram participar da pesquisa. No grupo controle foi incluído mulheres em idade fértil e que tinha sorologia prévia positiva conhecida, todas participaram voluntariamente da pesquisa.

**Critérios de exclusão:** Pacientes que não quiseram participar da pesquisa e que não estavam no período fértil.

### **Diagnóstico Laboratorial das Mulheres Infectadas - Sorologia Convencional**

Foram coletadas amostras de sangue periférico de todas as pacientes para realização da hemocultura; do plasma obtido no processamento da hemocultura, foram realizados os testes confirmatórios para Tripanossomíase Americana. As técnicas utilizadas na sorologia convencional foram: ELISA segundo Voller et al. 1975; IFI Camargo 1966 e HAI, Camargo et al. 1973.

### **Diagnóstico Parasitológico – Hemocultura**

Trinta mililitros de sangue de cada paciente foram colhidos para realização da hemocultura em meio LIT, idealizado por Yaeger e descrito por Fernandes e Castellani (1964) e Camargo (1964). O protocolo utilizado foi o de Chiari et al. (1989) com algumas modificações por Luz et al. (1994). O sangue venoso foi coletado, utilizando tubos *vacutainer*, contendo heparina sódica e processado no máximo em 4 horas. O sangue foi centrifugado à 1000g durante 10 min a 4°C em centrífuga refrigerada (Janetzki-K24) após o que, o plasma foi removido e transferido a tubo separado. Este foi centrifugado posteriormente, e após, a retirada do sobrenadante, foi adicionado 3 ml de LIT ao sedimento (Tubo 1). Ao sedimento de hemácias (papa) acrescentou-se igual volume do plasma removido de meio de cultura LIT-*Liver Infusion Tryptose* (Camargo 1964) centrifugado a 1000g durante 10 min a 4°C. A seguir, desprezou-se o sobrenadante e o sedimento de hemácias foi ressuspenso em meio LIT, após homogeneização, foram feitas alíquotas de 2-3ml distribuídas em seis tubos plásticos de 15ml (Falcon, USA) contendo 3 ml de meio LIT (Tubos 2 a 7). Os tubos foram mantidos em estufa BOD (General Electric-FANEN-LTDA) a 28°C e homogeneizados duas vezes por semana para aeração. Alíquotas de 0,01 ml da suspensão de cada tubo entre lâmina e lamínula foram examinadas ao microscópio com aumento de 400x aos 30, 60, 90, 120, e 150 dias após o exame. A partir das hemoculturas positivas foram

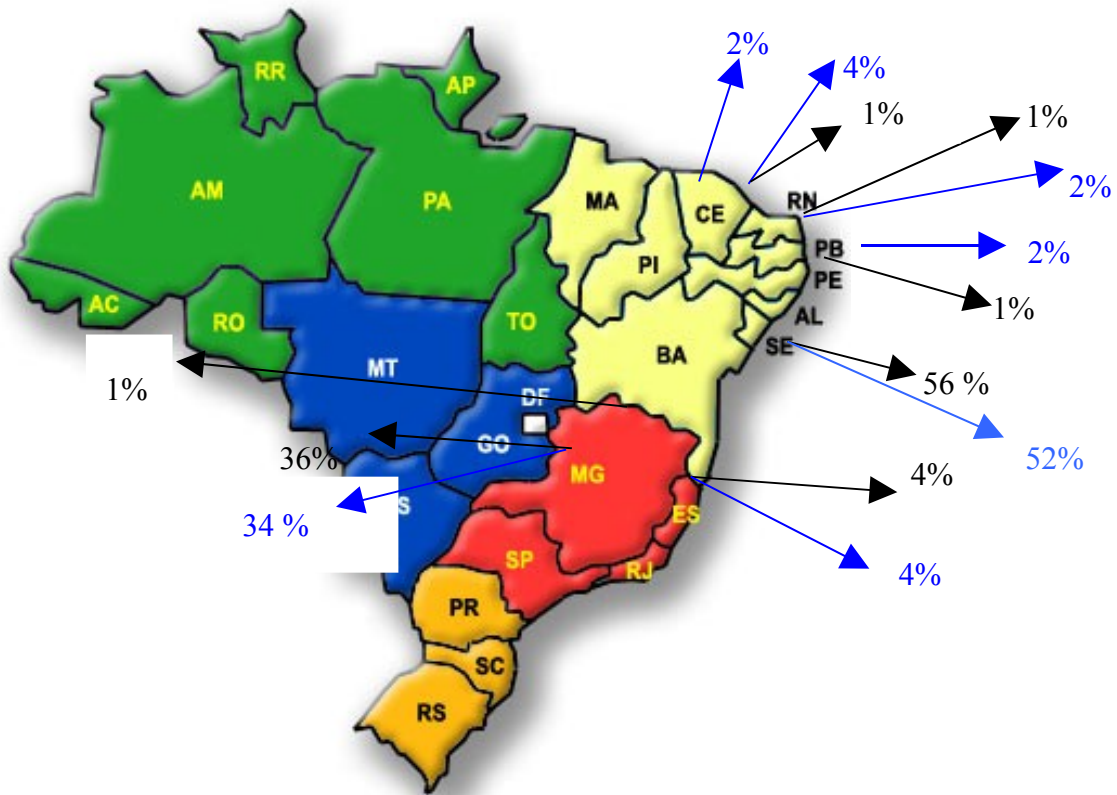
realizados repiques em tubos contendo LIT e criopreservação em N<sub>2</sub> líquido a -196°C e estes estoques serão utilizados posteriormente para estudos biológicos e moleculares.

**Análises estatísticas:** Para o cálculo das análises estatísticas foi utilizado o teste do X<sup>2</sup> (qui-quadrado) e o programa EPI INFO versão 6.04 – Janeiro / 2001 / WHO.

## **RESULTADOS:**

### **DADOS EPIDEMIOLÓGICOS DAS MULHERES PARTICIPANTES.**

A idade média no grupo das gestantes foi de 29,2 anos (de 17 a 44 anos) e no grupo controle a média de idade foi de 34,1 anos (de 18 a 49 anos). Segundo o trimestre gestacional, 4 pacientes estavam no primeiro trimestre, 62 no segundo e 34 no terceiro. A média de meses de gestação foi de 5,5. Analisando o questionário foi possível detectar que, no grupo das gestantes a maioria nasceu em regiões endêmicas: 56% (56/100) na Bahia, 36% (36/100) em Goiás, em Minas Gerais, 4% (4/100) e Ceará, Distrito Federal, Paraíba e Pernambuco o índice foi de 1% cada, totalizando as 100 gestantes (Figura 1). 17% das mulheres tinham relato de aborto, 11% tinham alguma doença prévia. No grupo controle a idade variou de 18 a 49 anos (média de idade = 34,14). A maioria nasceu no estado da Bahia (26/50), seguidas de Goiás (17/50), Ceará (2/50), Paraíba (1/50), Piauí (1/50), Pernambuco (1/50) e Minas Gerais (2/50), 32% das mulheres disseram ter sofrido aborto e 4% declararam ter alguma doença prévia.



**Figura 1:** Epidemiologia das mulheres infectadas pelo *Trypanosoma cruzi* que participaram da pesquisa.

—▶ Grupo das gestantes

—▶ Grupo controle

■ Região Norte

■ Região Nordeste

■ Região Centro-Oeste

■ Região Sudeste

■ Região Sul

A positividade no grupo das gestantes foi maior que no grupo controle, como demonstrado na tabela 1, dados confirmados pelos testes estatísticos ( $p < 0,0001$ ).

**Tabela 1. Positividade da hemocultura das infectadas pelo *Trypanosoma cruzi***

	Positividade	
	n	%
Mulheres infectadas pelo <i>T. cruzi</i>		
Gestantes	59/100	59
Grupo controle	16/50	32

Como demonstrado na Tabela 2 não houve diferença estatística nos resultados do grupo controle ( $p > 0,05$ ) e nem no grupo das gestantes com idade entre 17 e 27 anos e o grupo com 39 a 44, porém as mulheres com idade entre 28 a 38 anos, apresentaram 45% de positividade, sendo estatisticamente significativa ( $p = 0,000005$ ).

**Tabela 2. Estratificação da positividade das hemoculturas com a faixa etária das mulheres grávidas e do grupo controle.**

Idade	Gestantes		Grupo Controle	
	Faixa etária	Positividade Hemocultura	Faixa etária	Positividade Hemocultura
17 – 27	38%	74%	20%	30%
28-38	58%	45%	50%	36%
39-44	4%	75%	30%	37%

Para análise do nível de parasitemia, foi considerado como baixa parasitemia os resultados negativos (nenhum tubo positivo), média quem apresentou um ou dois tubos positivos, e alta os que apresentaram três ou mais tubos positivos por hemocultura.

**Tabela 3. Nível de parasitemia por número de tubos positivos na hemocultura.**

<b>Infectadas pelo <i>T.cruzi</i></b>	<b>Baixa parasitemia (0 tubo)</b>	<b>Média parasitemia (1 ou 2 tubos)</b>	<b>Alta parasitemia (&gt; 3 tubos)</b>
Gestantes	41%	21%	38%
Controle	68%	18%	14%

**Tabela 4. N° de tubos positivos na hemocultura em relação ao tempo de cultivo.**

<b>Gestantes</b>			
<b>Trimestre Gestacional</b>	<b>Número de mulheres</b>	<b>Número de Positivas</b>	<b>Positividade (%)</b>
1°	4	3	75%
2°	62	41	66,1%
3°	34	15	44,1%

<b>Gestantes (700 tubos)</b>			<b>Grupo controle (350 tubos)</b>	
<b>Dias de cultivo</b>	<b>N° de tubos positivos</b>	<b>%</b>	<b>N° de tubos positivos</b>	<b>%</b>
30	20	3,0	6	1,7
60	108	15,4	24	6,9
90	55	7,9	13	3,7
120	21	3,0	3	0,9
150	12	1,3	5	1,1

## **Tabela 5 – Positividade pela hemocultura segundo o trimestre gestacional**

Não houve diferença significativa entre esses três grupos ( $p=0,08897$ ).

### **DISCUSSÃO:**

A presença de parasitemia é um dado importante no paciente chagásico imunossuprimido, já que pode anteceder em 22,2% as manifestações clínicas associadas com a reativação da doença de Chagas (Bocchi 1994). Porém, a presença de alta parasitemia nesse contexto é muito relevante. Apesar da baixa sensibilidade da hemocultura e do xenodiagnóstico (Pifano 1954; Chiari e Brener, 1966; Chiari e Dias 1975; Minter-Goedbloed et al. 1978) esses ainda são os métodos usados para comprovar parasitologicamente a doença de Chagas crônica. Existem evidências de que a variabilidade nas taxas de positividade desses testes estaria ligada à qualidade dos meios de cultura e/ou das técnicas empregadas (Mourão e Chiari 1975; Neal e Miles 1977; Chiari et al. 1989). O cultivo do sangue ou hemocultura alcança na forma crônica da doença, 0% a 94% de positividade (Chiari e Brener 1966; Chiari et al. 1989; Luz et al. 1994). Silva et al. (1996) demonstraram em sua pesquisa que isoladamente a hemocultura revelou a presença do *T. cruzi* em 59,6% (31/52) dos pacientes com uma média de  $2,5 \pm 1,4$  tubos positivos, e o xenodiagnóstico em 50% (26/52) com uma média de  $5,2 \pm 5,1$  barbeiros positivos.



Neste trabalho com apenas uma hemocultura obtivemos no grupo de gestante, 59% de positividade e 32% no grupo controle, corroborando com os trabalhos citados. O que chama atenção é a positividade no grupo das gestantes, acima da média descrita na literatura, principalmente por se tratar de um grupo de jovens, onde a parasitemia geralmente é baixa (Castro et al. 1983; Luquetti e Rassi 2000; Prata 2001). Observamos também que no grupo das gestantes o número de tubos positivos foi mais elevado, corroborando assim que a alta parasitemia neste grupo, uma média de 2-3 tubos/hemocultura. Estes achados reforçam a utilização deste parâmetro na classificação do nível de parasitemia dos pacientes chagásicos crônicos. De acordo com este critério foi possível observar que 41% das gestantes tinham baixa parasitemia, 21% média 38% de alta parasitemia, em contraste com o grupo controle que apresentou 68% das mulheres tinham baixa parasitemia, 18% com média 14% de alta parasitemia.

A maioria das hemoculturas por nos analisadas, foi positiva entre 60-90 dias, o período para positividade da hemocultura, supera àqueles obtidos por outros autores que encontraram uma positividade de 9% e 18% após os 60 dias (Mora 1996; Luz et al. 1994). Vale ressaltar que apesar de não ter aumentado significativamente a positividade, o período de cultivo prolongado até aos 150 dias é importante, principalmente pela baixa sensibilidade da hemocultura e também visando o isolamento de cepas, pois a demora na detecção do parasito pode estar relacionada com o baixíssimo parasitismo sanguíneo e/ou com a diferente capacidade de adaptação e crescimento do parasito em meios artificiais (Minter-Goedbloed et al. 1978). Neste trabalho, todas as mulheres eram de região endêmica, e a positividade não apresentou diferenças quando analisadas pela naturalidade as mulheres.

**CONCLUSÃO:** Existe diferença significativa quanto à parasitemia em gestantes em relação ao grupo controle de mulheres infectadas pelo *T. cruzi* na fase crônica, avaliadas pela técnica de hemocultura.

Obs. A figura e as tabelas serão colocadas em anexo, segundo as normas da revista, porém deixamos no corpo do texto para facilitar a leitura dos componentes da banca.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Azogue E, La Fuente C, Darras C 1985. Congenital Chagas' disease in Bolivia: epidemiological aspects and pathological findings. Transactions of the Royal Society Tropical Medicine Hygiene 79:176-180.

Bittencourt, A.L., 1992. Possible risk factors for vertical transmission of Chagas' disease. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 34:403-408.

Black, M., McKay, M., Braude, P., Vaughan-Jones, S., et al 2002. Obstetric and gynecologic dermatology. 2<sup>nd</sup> ed. London. Mosby: 1-98.

Bocchi, E.A., 1994., Transplante cardíaco em portadores de cardiopatia chagásica. Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo 4:198-204.

Camargo, E.P., 1964. Growth and differentiation in Trypanosoma cruzi. I. Origin of metacyclic Trypanosomes in liquid media. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 6:93-100.

Camargo, M.E., 1966. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of Trypanosoma cruzi in a slide test. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 8:227-234.

Camargo, M.E., Hoshino, S., Siqueira, G.R.V., 1973. Hemagglutination with preserved, sensitized cells, a practical test for routine serologic diagnosis of American trypanosomiasis. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 15:81-85.

Castro, N., Alves, M.T., Macedo, V.O., 1983. Importância da repetição do xenodiagnóstico para avaliação da parasitemia na fase crônica da doença de Chagas. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 16:98-113.19.

Chiari, E., Brener, Z., 1966. Contribuição ao diagnóstico parasitológico da doença de Chagas na sua fase crônica. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 8:134-138.

Chiari, E., Dias, J.C.P., 1975. Nota sobre uma nova técnica de hemocultura para diagnóstico parasitológico na Doença de Chagas na sua fase crônica. *Revista da Sociedade de Medicina Tropical de São Paulo* 9:1133-1136.

Chiari, E., Dias, J.C.P., Lana, M., Chiari, C., 1989. Hemocultures for the parasitological diagnosis of human chronic Chagas' disease. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 22:19-23.

Chieffi, P.P., Amato-Neto, V., 2000. Prevenção referente às modalidades alternativas de transmissão do *Trypanosoma cruzi*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 79:12-26.

Cunha-Neto, E., Gruber, A., Zingales, B., Kalil J., 1995. Estudos da doença de Chagas: abordagem molecular. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo* 5:217-229.

Feitosa, M.F., Krieger, H., 1991. An appraisal of the epidemiology of *Trypanosoma cruzi* serology in Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 86: 159-167.

Fernandes, J.F., Castellani., 1964. Perspectiva de vacinação contra a moléstia de Chagas. XVI Reunião Anual SBPC, Ribeirão Preto, São Paulo.

Freilij, H., Altchek, J., Storino, R., 1994. Chagas Congenito. In: Storino R, Freilij H. *Enfermedad de Chagas*, Doyma, Argentina. 67-278.

Freilij, B., Altchek, J., 1995. Congenital Chagas' disease: Diagnostic and Clinical Aspects. *Clinical Infectious Diseases* 21: 551-555.

Gontijo, E.D., Andrade, G., Jannuzzi, J.H., et al., 1998. Doença de Chagas congênita- inquérito sorológico em MG: modelo e proposta. XIV Reunião de Pesquisa Aplicada em Chagas, Uberaba, MG.

Hermann, E., Truyens, C., Alonso-Vega C., 2004. Congenital Transmission of *Trypanosoma cruzi* is associated with maternal enhanced parasitemia and decreased production of Interferon- $\gamma$  in response to parasite antigens. *The Journal of Infectious Diseases* 189: 1274-1281.

Jost, L., Turin, M., Etchegoyen, F., Leiguarda, R., Taratuto, A.L., Iotti, R., 1977. Meningoencefalitis chagásica en paciente con tratamiento inmunosupresor por transplante renal. *Revista de Neurologia Argentina* 3:425-428.

Luquetti, A.O., Rassi, A., 2000. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. in: Brener Z, Andrade ZA, Barral-Neto M (eds) *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*, 2nd edition, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 344-378.

Luz, ZMP, Coutinho, M.G., Cançado, J.R., Krettli, A.U.I., 1994. Hemocultura: técnica sensível na detecção de *Trypanosoma cruzi* em pacientes chagásicos na fase crônica da doença de Chagas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 27:134-138.

Mazza, S., Montana, A., Benitez, C. e Janzi, E.Z., 1936. Transmisión del *Schizotrypanum cruzi* al niño por leche de la madre con enfermedad de Chagas. *Public MEPRA* 28:41.

Medawar, P.B., 1953. Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symposium Society Experimental Biology* 44: 320-338.

Ministério da Saúde- M.S., 2006. Notícias. <http://www.saude.gov.br>. Acessado em 10/Jun.

Minter-Goedbloed, E., Minter, D.M., Marshall, T.F.C., 1978. Quantitative comparison between xenodiagnosis and hemoculture in the detection of *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* in

experimental and natural chronic infections. Transactions of the Royal Society Tropical Medicine Hygiene 72:217-225.

Moncayo, A., 1999. Progress towards interruption of transmission of Chagas disease. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 94 Supl 1:401-404.

Monteverde, D.A., Taratuto, A.L., Lucatelli, N.,1976. Meningoencefalitis chagastica aguda en pacientes imunossuprimidos. Revista de Neurologia da Argentina, 2:260-266.

Mora, M.X.G., 1996. Avaliação de uma técnica modificada de hemocultura para *T. cruzi*, na forma crônica da doença de Chagas em uma área endêmica. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 29: 515-516.

Moretti, E., Basso, B., Castro, I., 2005. Chagas' disease: study of congenital transmission in cases of acute maternal infection. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 38: 53-55.

Mourão, O.G., Chiari, E., 1975. Comprovação parasitológica na fase crônica da doença de Chagas por hemoculturas seriadas em meio LIT. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 9:215-219.

Neal, R.A., Miles, A., 1977. The sensitivity of culture methods to detect experimental infections of *Trypanosoma cruzi* and comparison with xenodiagnosis. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 19:170-176.

Nisida, I.V.V., Amato Neto, V., Braz, L.M.A., Duarte, M.I.S., Umezawa, E.S., 1999. A survey of congenital chagas' disease, carried out at three health institutions in São Paulo city, Brasil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 41(5): 305-311.

Pacheco, S.P., Brito, C.M.M.C., 1999. Reflections on the population dynamics of *Trypanosoma cruzi*: heterogeneity versus plasticity. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 94:199-201.

Pifano, C.F., 1954.El diagnostico parasitologico de la enfermedad de Chagas cronica. Estudio comparativo entre la gota gruesa, el xenodiagnostico, el hemocultivo y las inoculaciones experimentales en animales sensibles. *Archive Venezule Patology Parasitology Medicine* 21:20-55.

Prata, A., 2001. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *The Lancet Infections Disease* 1:92-100.

Rassi, A., Amato Neto, V., Rassi, G.G., 2004. Busca retrospectiva da transmissão maternal da infecção chagásica em pacientes na fase crônica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 37(6): 485-489.

Sarasúa,W.M., 1993. Detection de la transmision congenita de la enfermedad de Chagas en Artigas - Uruguay. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 26: 28.

Schatz, M., Hoffman,C.P, Zeiger,R.S., et al. 1993. The course and management of asthma and allergic diseases during pregnancy. In: Middlenton, E., Reed, C.E., Ellis, E.E., eds. *Allergy Principles and Pratices*; vol 2, 4 th ed. Saint Louis: Mosby Year Book: 130-142.

Schmunis, G.A., Zicker, F., Del Pozo, A., Segura, E., 2000. Blood transmited infections diseases in Argentina, 1995 trough 1997. *Transfusion.* 40:1048-1053.

Shikanai-Yasuda,M.A.,Marcondes, C.B., Guedes, L.A., Siqueira, G.S., Barone, A.A., Dias, J.C.P., et al. 1991. Possible oral transmission of acute Chagas disease in Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 33(3):351-357.

Silva, E.L., Pedrosa, A.L., Crema, E., Penhalver, F.R., Ramirez, L.E,1996.Avaliação do xenodiagnóstico e da hemocultura realizados simultaneamente em pacientes com diferentes formas clínicas da doença de Chagas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.29(supl), p.128.

Silveira, A.C., Vinhaes, M.C., 1998. Doença de Chagas: aspectos epidemiológicos e de controle. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* v.31 supl 2; 15-60.

Silveira, A.C., Vinhaes, M.C., 1999. Elimination of vector-borne transmission on Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 94 (1):405-411.

Streiger, M., Fabbro, D., Del Barco, M., Beltramino, R., Bovero, N., 1995. Chagas congenito en la ciudad de Santa Fe diagnostico y tratamiento. *Medicina (Buenos Aires)*; 55: 125-133.

Torrico, F., Alonso-Vega, C., Suarez, E., et al., 2004. Maternal *Trypanosoma cruzi* infection, pregnancy outcome, morbidity, and mortality of congenitally infected and non-infected newborns in Bolivia. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 70(2): 201-209.

Valente, S.A.S., Valente, V.C., Fraiha, Neto. H., 1999. Considerations on the epidemiology and transmission of Chagas disease in the Brazilian Amazon. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 94: 395-398.

Vaz, A.J, Guerra E.M, Ferratto L.C.C, Toledo L.A.S, Neto, R.S.A , 1990. Sorologia positiva para sífilis, toxoplasmose e doença de Chagas em gestantes de primeira consulta em centros de saúde de área metropolitana, Brasil – *Revista de Saúde Pública*

Vinhaes, M.C., Dias, J.C.P., 2000. Doença de Chagas no Brasil. *Caderno de Saúde Pública Rio de Janeiro* 16 (2): 7-12

Voller, A., Draper, C.C., Bidwell, D.F., Barlett, A., 1975. Microplates enzymes linked immunosorbent assay for Chagas' disease. *Lancet*, 1.426-427.

World Health Organization, 1991. *Control of Chagas Disease*. WHO Technical Report Series 811. Geneva: WHO.



World Health Organization., 2000. Chagas disease, Brazil. Wkly Epidemiol Rec 75 19supl:153-155.

## 6-CONCLUSÕES GERAIS

- ✓ Foi observada diferença significativa na positividade pela hemocultura no grupo de gestantes e não gestantes  $p < 0,001$ .
- ✓ A média de número de tubos positivos em cada hemocultura foi maior no grupo das gestantes quando comparados ao grupo controle.
- ✓ A idade e a naturalidade, não foram fatores para aumento de parasitemia.
- ✓ No primeiro trimestre de gestação foi maior positividade nas hemoculturas.
- ✓ A gestação se mostrou como fator de risco para aumento da parasitemia.

## 7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida IC, Ferguson MAJ, Schenkman S, Travassos LR 1994. Lytic anti-  $\alpha$ -galactosyl antibodies from patients with chronic Chagas' disease recognize novel O linked oligosaccharides on mucin-like glycosyl-phosphatidylinositol-anchored glycoproteins of *Trypanosoma cruzi*. *Biochem J* 304:793-802.
- Almeida MD, Barbosa HS 1986. Megalocolon chagásico congênito. Relato de um caso. *Rev Soc Bras Med Trop* 19:167-169.
- Amato-Neto V, Rojas JR, Camargo ME, Silva LJ 1977. 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* 11:1-4.
- Araújo FJ 1986. Analysis of *Trypanosoma cruzi* antigens bound by specific antibodies and by antibodies to related trypanosomatids. *Infec. Immun* 53:179-185.
- Arribada A, APT W, Ugarte IM 1986. A four year follow-up survey of chagasic cardiopathy in Chile. *Bull. Pan Amer. Hlth.Org* 20:245-266.
- Arvin AM, Maldonado YA 1995. Protozoan and Helminth Infection (including *Pneumocystis carinii*). In: Remington JS & Klein JO. *Inf Dis fetus newborn infant*. 4<sup>a</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders Company.
- Ashall F, Yip-Chuck DAM, Luquetti AO, Miles MA 1988. Radiolabeled total parasite DNA probe specifically detects *Trypanosoma cruzi* in mammalian blood. *J Clin Microbiol* 26:576-579.
- Azogue E, La Fuente C, Darras C 1985. Congenital Chagas' disease in Bolivia: epidemiological aspects and pathological findings. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 79:176-180.

Azogue E, Darras C 1991. Estudio prospectivo de la enfermedad de Chagas en recién nacidos com infección placentária por *Trypanosoma cruzi* (Santa Cruz- Bolivia). *Rev Soc Bras Med Trop* 24:105-109.

Basso B, Moretti ERA, Vottero-Cima E 1991. Immune response and *Trypanosoma cruzi* infection in *Trypanosoma rangeli*-immunized mice. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 44:413-419.

Bittencourt AL 1968. Transmissão congênita da doença de Chagas. In: *Cançado JR. Doença de Chagas*, Belo Horizonte:100-129.

Bittencourt AL 1984. Doença de Chagas congênita na Bahia. *Rev Baiana de Saúde Pública* 11: 165-208.

Bittencourt AL 1992. Possible risk factors for vertical transmission of Chagas' disease. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 34:403-408.

Bittencourt AL 2000. Transmissão vertical da doença de Chagas. *Rev Pat Trop* 29 (supl):101-113.

Black M, McKay M, Braude P, Vaughan-Jones S et al 2002. *Obstetric and gynecologic dermatology*. 2<sup>nd</sup> ed. London. Mosby: 1-98.

Bocchi EA 1994. Transplante cardíaco em portadores de cardiopatia chagásica. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo* 4:198-204.

Borges EC, Pires HHR, Barbosa SE, Nunes CMS, Pereira MH, Romanha AJ, Diotaiuti L 1999. Genetic variability in Brazilian triatomines and the risk of domiciliation. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94(supl 1):371-373.

Brener Z 1973. Biology of *Trypanosoma cruzi*. *Ann. Review Microbiol* 27: 347-382.

Brener Z 1979. Present status of chemotherapy and chemoprophylaxis of human trypanosomiasis in the western hemisphere. *Pharmac Ther* 7:71-90.

Brener Z 1985. General Review of *Trypanosoma cruzi* classification and taxonomy. *Rev Soc Bras Med Trop* 18:1-8.

Brener Z 1997. *Trypanosoma cruzi*: Morfologia e ciclo evolutivo. In: *Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas Uma Abordagem Prática para o Clínico Geral*. Editora Fiocruz 1ª Edição p.25-33.

Brenière SF, Poch O, Selaes H, Tibayrenc M, Lemesre JL, Antezana G, Desjeux P 1984. Specific humoral depression in chronic patients infected by *Trypanosoma cruzi*. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 26:254-258.

Brenière SF, Carrasco R, Revollos, Aparicio G, Desjeux P, Tibayrenc M 1989. Chagas' disease in Bolivia: clinical and epidemiological features and zymodeme variability of *Trypanosoma cruzi* strains isolated from patients. *Am J Trop Med Hyg* 41:521-529.

Camargo EP 1964. Growth and differentiation in *Trypanosoma cruzi*. Origin of metacyclic trypanosomes in liquid media. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 6:93-100.

Camargo ME 1966. Fluorescent antibody test for serodiagnosis. Technical modification employing preserved culture form of *T. cruzi* in slide test. *Rev Inst Med Trop São Paulo*, 8:227-234.

Camargo ME, Hoshimo S, Siqueira GRV 1973. Hemagglutination with preserved, sensitized cells, a practical test for routine serologic diagnosis of American trypanosomiasis. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 5:81-85.

Camargo ME, Segura EL, Kagan IG, Souza JMP, Carvalheiro JR, Yanovsky JF, Guimarães MCS 1986. Three years of collaboration on the standardization of Chagas' disease serodiagnosis in the Americas: *An appraisal PAHO Bulletin* 20:223-244.

Castro AM, Luquetti AO, Rassi A, Rassi GG, Chiari E, Galvão LMC 2002. Blood culture and polymerase chain reaction for the diagnosis of the chronic phase of human infection with *Trypanosoma cruzi*. *Parasitol Res* 88:894-900

Castro N, Alves MT, Macedo VO 1983. Importância da repetição do xenodiagnóstico para avaliação da parasitemia na fase crônica da doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop* 16:98-113-119.

Chagas C 1909. Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n gen, n sp, agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1:159-218.

Chiari E, Brener Z 1966. Contribuição ao diagnóstico parasitológico da doença de Chagas na sua fase crônica. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 8:134-138.

Chiari E, Dias JCP 1975. Nota sobre uma nova técnica de hemocultura para diagnóstico parasitológico na Doença de Chagas na sua fase crônica. *Rev Soc Med Trop São Paulo* 9:1133-1136.

Chiari E, Dias JCP, Lana M, Chiari CA 1989. Hemocultures for the parasitological diagnostic of human chronic Chagas' disease. *Rev Soc Bras Med Trop* 22:19-23.

Chiari E 1992. Diagnostic test for Chagas disease. In: *Chagas Disease American Trypanosomiasis: Impact on transfusion and Clinical Medicine* (Wendel S, Brener Z, Camargo ME, Rassi A eds) ISBT Brasil 92:153-164.

Chieffi PP, Amato-Neto V 2000. Prevenção referente às modalidades alternativas de transmissão do *Trypanosoma cruzi*. *Rev Inst Med Trop São Paulo* p 9-31.

Chiler TM, Samudio MA, Zouler G 1990. IgG antibody reactivity with *Trypanosoma cruzi* and Leishmania antigens in ser of patients with Chagas' disease and leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 46:650-656.

Coura JR, Vinhaes MC, Dias JCP 2000. Situação Epidemiológica Atual da Doença de Chagas no Brasil. *Rev Pat Trop* 29 jan-jun.

Coura JR 2003. Tripanosomose, doença de Chagas. *Cienc Cult* Jan./Mar 55(1):30-33. ISSN 0009-6725

Cunha-Neto E, Gruber A, Zingales B, Kalil J 1995. Estudos da doença de Chagas: abordagem molecular. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo* 5:217-229.

Dao L 1949 - Otros casos de enfermedad de Ghagas en el estado de Guérico, (Venezuela). Formas agudas y crónicas. Observación sobre enfermedad de Ghagas congénita. *Rev Policlín Caracas* 17: 17-32.

Dias JCP 1979. Mecanismos de transmissão. In *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas* (Brenner Z & Andrade Z eds.) Guanabara Koogan Rio de Janeiro p162-174.

Dias JCP 1987. The Control of Chagas disease in Brazil. *Parasitol Today* 3: 336-341.

Dias JCP 1992. Chagas Disease and blood transfusion in edemic areas. In: *Chagas Disease ( American Trypanosomiais: Its Impact on transfusion and Clinical Medicine* (Wendel S, Brenner Z, Camargo ME, Rassi A. eds) ISBT Brasil 92:135-142.

Dias JCP, Coura JR 1997. Epidemiologia. In: *Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas. Uma Abordagem Prática para o Clínico Geral* (JCP Dias & JR Coura org.) pp. 33-66 Rio de Janeiro: Editora Fiocruz.

Dias JCP, Schofield CJ 1998. Controle da transmissão transfusional da doença de Chagas na Iniciativa do Cone Sul. *Rev Soc Bras Med* 31:373-383.

Dias JCP 2000. Situação Epidemiológica Atual da Doença de Chagas no Brasil. *Rev Pat Trop* 29 jan./jun .

Dias JCP 2002. O controle da doença de Chagas no Brasil. In: Silveira AC (org) *O Controle da Doença de Chagas nos Países do Cone Sul da América: História de uma iniciativa internacional 1991-2001*. Organização Pan-americana da Saúde Brasília p145-250.

Dias JCP, Macedo VO 2005. Doença de Chagas. In Coura JR org. *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias*. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan. Pp. 557-593

Dias JCP 2006. Possible oral transmission of acute Chagas disease in Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 33 (3):351-357.

Feitosa MF, Krieguer H 1991. An appraisal of the epidemiology of *Trypanosoma cruzi* serology in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 86:159-167.

Fernandes JF, Castellani 1964. Perspectiva de vacinação contra a moléstia de Chagas. *XVI Reunião Anual SBPC*, Ribeirão Preto São Paulo.

Ferreira AW, ÁVILA SLM 2001. *Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-Imunes*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guabanara Koogan SA .241-249.

Freilij H 1992. Congenital Chagas' disease in a non endemic area. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97:78-79.

Freilij H, Altchek J, Storino R 1994. Chagas Congenito. In: *Storino R, Freilij H. Enfermedad de Chagas*, Doyma, Argentina. 67:278.



Freilij B, Altcheh J 1995. Congenital Chagas' disease: Diagnostic and Clinical Aspects. *Clin Infect Dis* 21:551-5.

Garcia A, Bahamonde MI, Verdugo S, et al. 2001 Infección transplacentaria por *Trypanosoma cruzi*: Situación en Chile. *Rev Méd Chile* 129(3): 1-4.

Gontijo ED, Andrade G, Jannuzzi JH et al. 1998. Doença de Chagas congênita- inquérito sorológico em MG: modelo e proposta. *XIV Reunião de Pesquisa Aplicada em Chagas*, Uberaba, MG.

Gontijo ED, Galvão LMC, Eloi-Santos 1999. Chagas Disease: Criteria of Cure and Prognosis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 94: Suppl. I: 357-362 Rio de Janeiro Sept.

Hermann E, Truyens C, Alonso-Vega C, et al. 2004 Congenital Transmission of *Trypanosoma cruzi* is associated with maternal enhanced parasitemia and decreased production of Interferon- $\gamma$  in response to parasite antigens. *J Infect Dis* 189:1274-1281.

Higuchi ML 1995. O parasita e a patogenia da forma crônica da doença de Chagas. *Arq Bras Cardiol* 64:251-254.

Hoare CA, Wallace FG 1966. Development stages of Trypanosomatid flagellates: a new terminology. *Nature* 12: 1385-1386.

Jazin EE, Luquetti AO, Rassi A, Frasch ACC 1991. Shift of Excretory- Secretory antigens of *T. cruzi* during Human Chagas' Disease. *Infect Immunity* 59:2189-2191.

Jost L, Turín M, Etchegoyen F, Leiguarda R, Taratuto AL, Iotti R 1977. Meningoencefalitis chagásica en paciente con tratamiento inmunosupresor por trasplante renal. *Rev Neur Arg* 3:425-428.

Krautz GM, Coutinho MG, Galvão LCC, Cançado JR, Krettli AU 1994. Soluble antigens released by *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes used in ELISA to detect cure in chagasic patients following specific treatment. *Rev Soc Bras Med Trop* 27:199-207.

Laguens RP, Meckert PC, Chambo J 1991. Origin and significance of anti-heart and anti-skeletal muscle autoantibodies in Chagas' disease. *Rev Immunol* 142: 160-163.

Levin MJ, Franco SJ, Frasch ACC, Camargo ME, Lafon S et al.1991. Recombinant *Trypanosoma cruzi* antigens and Chagas' disease diagnosis: analysis of a workshop. *Microb Immunol* 89: 1-9.

Lima JTF, Silveira AC 1985. Controle da transmissão e inquérito sorológico nacional, In *Cardiopatía Chagásica* ( Cançado JR, Chuster M, eds.), Fundação Carlos Chagas, Belo Horizonte p 371-380.

Lopes ER, Chapadeiro E 1997. Anatomia Patológica da Doença de Chagas, In: *Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas. Uma abordagem Prática para o Clínico Geral*. Eds JCP Dias, JR Coura. Ed Fiocruz Rio de Janeiro p.67-84.

Luquetti AO 1987. Megaesôfago e anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi*. *Rev Goiana Med.*33:1-16.

Luquetti AO, Rassi A 2000. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. in: Brener Z, Andrade ZA, Barral-Neto M (eds) *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas* 2ªed Guanabara Koogan Rio de Janeiro p 344-378.

Luquetti AO, Dias JC, Prata A 2005. Diagnosis and treatment of congenital infection caused by *Trypanosoma cruzi* in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 38 Supl 2:27-28.

Luz ZMP, Coutinho MG, Cançado JR, Krettli AU 1994.Hemocultura: técnica sensível na detecção de *Trypanosoma cruzi* em pacientes chagásicos na fase crônica da doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop* 27:134-138.

Mazza S, Montana A, Benitez C, Janzi EZ 1936. Transmisión del *Schizotrypanum cruzi* al niño por leche de la madre con enfermedad de chagas. *Public MEPRA* 28:41.

Medawar PB 1953. Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symp Soc Exp Biol* 44: 320-338.

Medina- Lopes MD 1988. Transmissão do *Trypanosoma cruzi* em um caso, durante aleitamento, em área não endêmica. *Rev Soc Bras Med Trop* 21:151-153.

Ministério da Saúde- M.S 2006. Notícias. <http://www.saude.gov.br>. Acessado em 10/Jun.

Minter-Goedbloed E, Minter DM, Marshall TFC 1978. Quantitative comparison between xenodiagnosis and hemoculture in the detection of *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* in experimental and natural chronic infections. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 72:217-225.

Moncayo A 1999. Progress towards interruption of transmission of Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94 Supl 1:401-404.

Monteverde DA, Taratuto AL, Lucatelli N 1976. Meningoencefalitis chagastica aguda en pacientes inmunossuprimidos. *Rev Neur Arg* 2:260-266.

Mora MXG 1996. Avaliação de uma técnica modificada de hemocultura para *T. cruzi*, na forma crônica da doença de Chagas em uma área endêmica. *Rev Soc Bras Med Trop* 29: 515-516.

Moretti E, Basso B, Castro I, et al. 2005. Chagas' disease: study of congenital transmission in cases of acute maternal infection. *Rev Soc Bras Med Trop* 38: 53-55.

Mullins KB, Faloona FA 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol* 155:335-350.

Mourão OG, Chiari E 1975. Comprovação parasitológica na fase crônica da doença de Chagas por hemoculturas seriadas em meio LIT. *Rev Soc Bras Med Trop* 9:215-219.

Nattan-Larrier L 1921. Infections à Trypanosomes et voies de penetrations des virus. *Bull Soc Path Exotique* 14: 537-542.

Neal RA, Miles A 1977. The sensitivity of culture methods to detect experimental infections of *Trypanosoma cruzi* and comparison with xenodiagnosis. *Rev Inst Med Trop de São Paulo* 19:170-176.

Nisida IVV, Amato Neto V, Braz LMA, Duarte MIS, Umezawa ES 1999. A survey of congenital Chagas' disease, carried out at three health institutions in São Paulo city, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 41:305-311.

Ouaissi MA, Taibi A, Cornete JVP; Marty B, Loyens M, Esteva M, Rizvi FS, Capron A 1990. Characterization of major surface and excretory-secretory immunogens of *Trypanosoma cruzi* trypomastigote and identification of potential protective antigen. *Parasitol* 100:115-124.

Pacheco SP, Brito CMMC 1999. Reflections on the population dynamics of *Trypanosoma cruzi*: heterogeneity versus plasticity. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94 :199-201.

Pehrson PO, Wahlgren M, Bengtsson E 1982. Intracranial calcifications probably due to congenital Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg* 31:449-451.

Petry K, Van Voorhis WC 1991. Antigens of *Trypanosoma cruzi* that mimic mammalian nervous tissues : investigations of their role in the autoimmune pathophysiology of chronic Chagas' disease. *Res Immunol* 142:151-156.

Pifano CF 1954. El diagnostico parasitologico de la enfermedad de Chagas cronica. Estudio comparativo entre la gota gruesa, el xenodiagnostico, el hemocultivo y las inoculaciones experimentales en animales sensibles. *Arch Ven Patol Parasitol Med* 21:20-55.

Pless M, Juranek D, Kozarsky PSF, Tapia G, Bermudez H 1992. The epidemiology of Chagas' disease in a hyperendemic area Cochabamba, Bolívia: a clinical study including electrocardiography, seroreactivity to *Trypanosoma cruzi*, xenodiagnosis and domiciliary triatominae distribution. *Am J Trop Med Hyg* 47:539-546.

Prata A 2001. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis* 1:92-100.

Rassi A, Amato Neto V, Siqueira AF 1969. Comportamento evolutivo da reação de fixação de complemento na fase crônica da moléstia de Chagas. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 11:430-435.

Rassi A, Amato Neto V, Rassi GG, et al. 2004. Busca retrospectiva da transmissão maternal da infecção chagásica em pacientes na fase crônica. *Rev Soc Bras Med Trop* 37(6):485-489.

Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim 1985. Enzymatic amplification of  $\beta$  globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230:1350-1354.

Saldaña A, Sousa OE, Örn A 1995. Immunoparasitological studies of *Trypanosoma cruzi* low virulence clones from Panama: humoral immune responses and antigenic cross-reactions with *Trypanosoma rangeli* in experimentally infected mice. *Scand J Immunol* 42:644-650.

Saldaña A, Sousa OE 1996. *Trypanosoma rangeli*: epimastigote immunogenicity and cross-reaction with *Trypanosoma cruzi*. *J Parasitol* 82: 363-366.

Sarasúa WM 1993. Detection de la transmisión congénita de la enfermedad de Chagas en Artigas - Uruguay. *Rev Soc Bras Med Trop* 26: 28.

Schatz M, Hoffman CP, Zeiger RS et al 1993. The course and management of asthma and allergic diseases during pregnancy. In: Middleton E, Reed CE, Ellis EE, eds. *Allergy Principles and Practices* vol 2, 4 th ed. Saint Louis: Mosby Year Book: 130-142.

Schmunis GA 1991. *Trypanosoma cruzi*, the etiologic agent of Chagas disease: status in blood supply in endemic and nonendemic countries. *Transf* 31:549-57.

Schmunis GA, Zicker F, Del Pozo A, Segura E 2000. Blood transmitted infections diseases in Argentina, 1995 through 1997. *Transf* 40:1048-53.

Schofield CJ 1985. Control of Chagas disease vectors. *Brit. Med Bul* 41: 187-194.

Shikanai-Yasuda MA, Marcondes CB, Guedes LA, Siqueira GS, Barone AA, Dias JCP et al. 1991. Possible oral transmission of acute Chagas disease in Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 33(3):351-357.

Silva EL, Pedrosa AL, Crema E, Penhalver FR, Ramirez LE 1996. Avaliação do xenodiagnóstico e da hemocultura realizados simultaneamente em pacientes com diferentes formas clínicas da doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop* v 29(supl) p128.

Silveira AC, Vinhaes MC 1998. Doença de Chagas: aspectos epidemiológicos e de controle. *Rev Soc Bras Med Trop* v.31 supl 2; 15-60.

Silveira AC, Vinhaes MC, 1999. Elimination of vector-borne transmission on Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94 (1):405-411.

Solari A, Venegas J, Gonzalez E, Vasquez C 1991. Detection and classification of *Trypanosoma cruzi* by DNA hybridization with nonradioactive probes. *J. Protozool* 38:559-565.

Streiger M, Fabbro D, Del Barco M, Beltramino R, Bovero N 1995. Chagas congenito en la ciudad de Santa Fe diagnostico y tratamiento. *Medicina* (Buenos Aires) 55: 125-133.

Torrice F, Alonso-Vega C, Suarez E, et al. 2004. Maternal *Trypanosoma cruzi* infection, pregnancy outcome, morbidity, and mortality of congenitally infected and non-infected newborns in Bolivia. *Amer Soc Trop Med Hyg* 70(2):201-209.

Valente SAS, Valente VC, Fraiha NH 1999. Considerations on the epidemiology and transmission of Chagas disease in the Brazilian Amazon. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94: 395-398.

Vaz AJ, Guerra EM, Ferratto LCC, Toledo LAS, Neto RSA 1990. Sorologia positiva para sífilis, toxoplasmose e doença de Chagas em gestantes de primeira consulta em centros de saúde de área metropolitana, Brasil - *Rev Saúde Pública*.

Velasquez E, Eyes L, Thors C 1993. Autoantibodies give false-positive reactions in the serodiagnosis of *Trypanosoma cruzi* infections. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 85:35.

Vinhaes MC, Dias JCP 2000. Doença de Chagas no Brasil. *Cad Saúde Pública* Rio de Janeiro 16 (2): 7-12

Voller A, Draper CC, Bidwell DF, Barlett 1975. A Microplates enzymes linked immunosorbent assay for Chagas' disease. *Lancet* 1:426-427.

World Health Organization 1991. *Control of Chagas Disease*. WHO Technical Report Series 811. Geneva: WHO.

World Health Organization., 2000. Chagas disease, Brazil. *Wkly Epidemiol Rec* 75 19supl:153-155.

World Health Organization. *Control of Chagas Disease* 2002. Geneva: WHO (Technical Report Series 905). 109 p.

World Health Organization, 2005. Acessado em 05/11/2007.

## **8-ANEXOS**



# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)