

ISOLAMENTO DE *TRYPANOSOMA CRUZI* POR XENOCULTURA APÓS APLICAÇÃO DE XENODIAGNÓSTICO *IN VIVO* E/OU *IN VITRO* EM PACIENTES NA FASE CRÔNICA DA DOENÇA DE CHAGAS E NA CO-INFECÇÃO PELO HIV*

Márcia da Conceição BISUGO**
Maria de Fátima Lereno de ARAÚJO**
Elizabeth Visone NUNES **
Elaine Aparecida CUNHA**
Oswaldo da Cruz OLIVEIRA JUNIOR**
Carmem do Socorro GUILHERME**
Lorena Perez RAMIREZ***
José Eduardo TOLEZANO**

RIALA 07/843

BISUGO, M.C., ARAÚJO, M.F.L., NUNES, E.V., CUNHA, E.A., OLIVEIRA JR., O.C.; GUILHERME, C.S., RAMIREZ, L.P. & TOLEZANO, J.E. — Isolamento, através da xenocultura, de amostras de *Trypanosoma cruzi* de pacientes na fase crônica da doença de Chagas e na co-infecção pelo HIV. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 57 (2): 89-96, 1998.

RESUMO: Neste estudo objetivou-se avaliar a viabilidade da utilização da xenocultura como técnica para o isolamento de amostras de *Trypanosoma cruzi* a partir do trato intestinal de *Triatoma infestans*. Foram realizadas xenoculturas a partir de xenodiagnósticos aplicados em 78 pacientes, procedentes de diferentes regiões do Brasil, todos em fase crônica da doença de Chagas, sendo 32 co-infectados pelo HIV. Foram aplicados no total 101 xenodiagnósticos, executados "in vivo" e/ou "in vitro" com 30-40 ninfas de *T. infestans* entre 3^a e 4^a estádios de desenvolvimento. Ao final dos exames dos xenodiagnósticos, aos 30 e 60 dias, o trato digestivo de um número variável de triatomíneos de cada exame foi semeado, individualmente, após tratamento com álcool iodado, em meios bifásicos de Ducrey com LIT ou BHI (com gentamicina). As culturas foram examinadas quinzenalmente até 3 meses e, as amostras isoladas estão preservadas em nitrogênio líquido. Dos 101 xenodiagnósticos aplicados, 73 (72,3%) foram positivos, correspondendo a 57 (73,1%) dos 78 pacientes. Em 51 (89,5%) dos 57 pacientes (26 co-infectados e 31 em fase crônica da doença de Chagas) com xenodiagnóstico positivo, o isolamento do parasita foi viabilizado pela utilização da xenocultura. O isolamento de *T. cruzi* foi da ordem de 96,2% (25/26) entre os pacientes co-infectados e 83,9% (26/31) entre aqueles soronegativos para HIV. De 461 barbeiros positivos aos exames do xenodiagnóstico "in vivo" ou "in vitro", foi possível o isolamento de 250 (54,2%) amostras de *T. cruzi*. De 181 insetos reconhecidos como negativos nos xenodiagnósticos positivos, foi conseguido o isolamento de 25 (13,8%) amostras do parasita. Mesmo entre 22 ninfas mortas, para as quais nem houvera sido possível o exame, por compressão do abdomen, no xenodiagnóstico, a xenocultura viabilizou o isolamento de mais 2 (9,1%) amostras de *T. cruzi*. Em nenhum xenodiagnóstico reconhecido como negativo foi obtido êxito para o isolamento deste protozoário. Foi observada uma perda de cerca de 5% das xenoculturas por contaminação bacteriana ou fúngica. Verificou-se, ainda, uma aparente melhor adaptação de formas delgadas do parasita nos meios de cultivo. Além de possibilitar o isolamento de *T. cruzi* em cerca de 90% dos pacientes com xenodiagnósticos positivos e de mais da metade dos triatomíneos infectados, a xenocultura viabilizou o reconhecimento e o isolamento do parasita em cerca de 13,3% (27/203) dos insetos que estavam mortos ou tinham sido identificados como negativos em xenodiagnósticos positivos.

DESCRITORES: *Trypanosoma cruzi*; doença de Chagas; co-infecção *T. cruzi*/HIV; isolamento; xenocultura; AIDS.

* Realizado na Seção de Parasitoses Sistêmicas do Instituto Adolfo Lutz

** Do Instituto Adolfo Lutz — São Paulo — Brasil

*** Da ORSTOM Montpellier — França

INTRODUÇÃO

O diagnóstico laboratorial da doença de Chagas pode ser realizado, tanto na fase aguda como na fase crônica, através da utilização de procedimentos técnicos incluídos no que se convencionou chamar de método parasitológico, que objetiva a demonstração direta da presença de *Trypanosoma cruzi*. Alternativamente e, de maneira mais rotineira tal diagnóstico tem sido executado pelo emprego das mais diferentes técnicas de demonstração indireta da presença do parasita pela detecção e dosagem de anticorpos anti-*T. cruzi*, no método imunológico^{5,6,7,8,11}.

Relativamente ao método parasitológico, para o diagnóstico na fase crônica desta parasitose, duas técnicas laboratoriais, a hemocultura e o xenodiagnóstico, nas suas mais diferentes versões, modificações e condições de execução, tem sido aquelas sobre as quais recaem as preferências da grande maioria de pesquisadores^{5,27}, com resultados os mais variados, desde a impossibilidade de demonstração da presença de *T. cruzi* até 100% de positividade^{1,2,6,10,13,15,16,17,19,20,21,22,23}.

O xenodiagnóstico, proposto por BRUMPT em 1914⁴ e, por ele chamado de “cultura natural em hospedeiro favorável” é, ainda hoje, utilizado com objetivos de diagnóstico, para isolamento do parasita, controle de tratamento e avaliação da eficiência de drogas anti-*T. cruzi*²⁰.

O isolamento e a preservação de agentes etiológicos assumem importância em Saúde Pública, na medida em que possibilitam estudos sobre a caracterização genética, correlações com quadros clínicos, patogenicidade, reconhecimento de marcadores epidemiológicos, podendo, também, contribuir para o desenvolvimento e aprimoramento de provas de resistência e susceptibilidade a drogas, entre outros.

A dissecação ou a homogeneização dos triatomíneos podem representar alternativas para a melhoria da sensibilidade do xenodiagnóstico como, também, para tentativa de isolamento de *T. cruzi*,^{14,23}. O procedimento laboratorial que associa o xenodiagnóstico com a cultura, a seguir sempre referido neste trabalho como xenocultura, consistiu da semeadura em meio de cultivo, do conteúdo intestinal de barbeiros utilizados em xenodiagnósticos aplicados em pacientes com doença de Chagas.

No presente estudo objetivou-se avaliar a viabilidade da utilização da xenocultura como técnica capaz de possibilitar uma melhoria na sensibilidade do xenodiagnóstico e o isolamento de amostras de *Trypanosoma cruzi* a partir do trato intestinal de triatomíneos.

MATERIAL E MÉTODOS

PACIENTES — Ao todo, 78 pacientes procedentes de diferentes regiões do Brasil, todos em fase crônica da doença de Chagas, sendo 32 co-infectados pelo HIV (Tabela 1).

TRIAMOMÍNEOS — Para a realização dos xenodiagnósticos foram utilizadas ninfas de *Triatoma infestans*, entre o 3^a e o 4^a estádios de desenvolvimento, mantidas em jejum 15 dias antes de sua utilização, todas oriundas do insetário de criação de triatomíneos da Seção de Parasitoses Sistêmicas do Instituto Adolfo Lutz.

XENODIAGNÓSTICOS — No total, foram aplicados 101 xenodiagnósticos sendo 53 (52,5%) nos pacientes co-infectados e 48 (47,5%) nos pacientes em fase crônica da doença de Chagas e soronegativos para HIV. Esses xenodiagnósticos foram executados “in vivo” (54 = 53,5%) e/ou “in vitro” (47 = 46,5%), com 30-40 ninfas de *T. infestans*. Após a aplicação dos xenodiagnósticos os barbeiros foram mantidos em jejum até o final das observações. Os insetos foram examinados, individualmente, por compressão abdominal, para a pesquisa de infecção por *Trypanosoma cruzi*, aos 30 e 60 dias após o repasto sanguíneo efetivado com o sangue dos pacientes, sendo dissecados assim que observada a infecção por *Trypanosoma cruzi* na primeira ou segunda leitura.

XENOCULTURA — Ao final dos exames, um número variável de triatomíneos (vivos), antes da dissecação foram submersos individualmente em solução de álcool iodado por período entre 30 e 60 segundos e processados em capela de fluxo laminar, visando a eliminação e/ou drástica redução de contaminantes. Cada trato digestivo foi semeado em meio bifásio de Ducrey com LIT ou BHI (com gentamicina a 50(μ ml)). Ao todo foram dissecadas 461 e 399 ninfas, respectivamente de xenodiagnósticos positivos e negativos para a infecção por *T. cruzi*. Excepcionalmente foram dissecadas 22 ninfas mortas, sendo 20 provenientes de xenodiagnósticos positivos e 2 de xenodiagnósticos negativos. As culturas foram examinadas quinzenalmente até três meses e, as amostras de *T. cruzi* isoladas foram preservadas em nitrogênio líquido para estudos posteriores.

ANÁLISE DOS RESULTADOS — Os resultados foram analisados estatisticamente pela utilização de teste de qui quadrado com e sem coeficiente de correção de Yates,^{9,12}.

TABELA 1
DISTRIBUIÇÃO DA FREQUÊNCIA DE PACIENTES CHAGÁSICOS CRÔNICOS OU CO-INFECTADOS PELO QUE FORAM SUBMETIDOS AO XENODIAGNÓSTICO *IN VIVO* E/OU *IN VITRO*.

PACIENTES ¹	XENODIAGNÓSTICOS											
	IN VIVO			IN VITRO			IN VIVO/IN VITRO			TOTAL		
	P	N	ST	P	N	ST	P	N	ST	TP	TN	TG
DOENÇA DE CHAGAS- SORONEGATIVOS PARA HIV	19 90,5%	2 9,5%	21 100,0%	12 50,0%	12 50,0%	24 100,0%	0 0,0%	1 100%	1 100%	31 67,4%	15 32,6%	46 100,0%
CO-INFECTADOS- <i>Trypanosoma cruzi</i> /HIV	9 69,2%	4 30,8%	13 100,0%	6 75,0%	2 25,0%	8 100,0%	11 ² 100,0%	0 0,0%	11 100,0%	26 81,2%	6 18,8%	32 100,0%
TOTAL	28 82,4%	6 17,6%	34 100,0%	18 56,3%	14 43,7%	32 100,0%	11 91,7%	1 8,3%	12 100,0%	57 73,1%	21 26,9%	78 100,0%

1- Para alguns pacientes foram aplicados dois ou mais xenodiagnósticos de uma mesma modalidade, “in vivo” ou “in vitro”

2- Dos 11 pacientes para os quais, simultaneamente, foram aplicados xenodiagnósticos “in vivo” e “in vitro”, todos tiveram exames positivos para a presença de *T. cruzi*, sendo em 6 pacientes para as duas modalidades, 4 apenas para a forma “in vivo” e, 1 somente “in vitro”.

P- número de pacientes com algum xenodiagnóstico positivo para a presença de *T. cruzi* ao exame do conteúdo intestinal dos triatomíneos.

N- número de pacientes com xenodiagnóstico negativo para a presença de *T. cruzi* ao exame do conteúdo intestinal dos triatomíneos.

ST- subtotal do número de pacientes

TP- número total de pacientes com algum xenodiagnóstico positivo para a presença de *T. cruzi* ao exame do conteúdo intestinal dos triatomíneos.

TN- número total de pacientes com xenodiagnóstico negativos para a presença de *T. cruzi* ao exame do conteúdo intestinal de triatomíneos.

TG- número total de paciente

RESULTADOS

XENODIAGNÓSTICOS — Do total de 78 pacientes com doença de Chagas, 57(73,1%) foram positivos em um ou mais xenodiagnósticos aplicados, independentemente da modalidade técnica utilizada, “in vivo” e/ ou “in vitro” ou a situação clínica, com ou sem co-infecção pelo HIV (TABELA 1). Quando da simultaneidade de utilização das modalidades do xenodiagnóstico “in vivo” e “in vitro” em algumas situações o diagnóstico foi positivo somente para uma das técnicas. Foi observado, também, mais pacientes com xenodiagnósticos positivos

entre aqueles co-infetados pelo HIV (TABELA 1). Análise estatísticas dessas diferenças indicou ao teste de qui quadrado com coeficiente de correção de Yates de 1,96, não significativo para $P < 0,05$

Dos 101 xenodiagnósticos realizados, 73(72,3%) foram positivos para a presença de *T. cruzi* (TABELA 2). Dentre esses 73 exames verificou-se percentuais de positividade ligeiramente superiores entre os pacientes co-infetados com 79,2% e 64,6% entre os soronegativos para HIV (TABELA 2). Essas diferenças porém, revelaram-se estatisticamente não significantes ao teste de qui quadrado para $P < 0,05$.

TABELA 2

RESULTADO FINAL E RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS DOS XENODIAGNÓSTICOS, APOS APLICAÇÃO "IN VIVO" OU "IN VITRO" EM PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS OU CO-INFECTADOS PELO HIV.

PACIENTES	IN VIVO			IN VITRO			TOTAL		
	P	N	ST	P	N	ST	TP	TN	TG
DOENÇA DE CHAGAS-SORONEGATIVOS PARA HIV¹	19 82,6%	4 17,4%	23 100,0%	12 48,0%	13 52,0%	25 100,0%	31 64,6%	17 35,4%	48 100%
CO-INFECTADOS-<i>Trypanosoma cruzi</i>/HIV²	24 77,4%	7 22,6%	31 100,0%	18 81,8%	4 18,2%	22 100,0%	42 79,2%	11 20,8%	53 100,0%
TOTAL	43 79,6%	11 20,4%	54 100,0%	30 63,8%	17 36,2%	47 100,0%	73 72,3%	28 27,7%	101 100,0%

- 1** - Total de 46 pacientes em fase crônica da doença de Chagas e soronegativos para HIV.
2 - Total de 32 pacientes em fase crônica da doença de Chagas e co-infetados para HIV.
P - Xenodiagnósticos com resultado final positivo para a presença de *Trypanosoma cruzi* ao exame do conteúdo intestinal dos triatomíneos.
N - Xenodiagnósticos com resultado final negativo para a presença de *Trypanosoma cruzi* ao exame do conteúdo intestinal dos triatomíneos.
ST - Subtotal do número de xenodiagnósticos aplicados.
TP - Total de xenodiagnósticos com resultado final positivo para a presença de *T. cruzi* ao exame do conteúdo intestinal dos triatomíneos.
TN - Total de xenodiagnósticos com resultado final negativo para a presença de *T. cruzi* ao exame do conteúdo intestinal dos triatomíneos.
TG - Total geral do número de xenodiagnósticos aplicados.

XENOCULTURAS — Em 51(89,5%) dos 57 pacientes com pelo menos um xenodiagnóstico positivo, o isolamento de uma ou mais amostras de *T. cruzi* foi viabilizado pela utilização das técnicas da xenocultura (TABELA 3). Verificou-se um maior sucesso no isolamento de amostras de *T. cruzi*, entre os barbeiros de xenodiagnósticos positivos dos pacientes co-infetados(TABELA 3). Dos 26 pacientes co-infetados, com xenodiagnóstico positivo, o isolamento de *T. cruzi* foi possível de 25(96,2%) deles, enquanto entre os 31 soronegativos de 26(83,9%) foi obtido o mesmo sucesso. Essas diferenças mostraram-se significativas ao teste do qui quadrado com coeficiente de correção de Yates, para $P < 0,05$.

Dentre as 461 ninfas de *T. infestans* positivas para *T. cruzi*, aos exames dos xenodiagnósticos "in vivo" e/ou "in vitro", foi possível o isolamento de 250(54,2%) amostras do parasita (TABELA 4).

Dos 181 insetos reconhecidos como negativos nos xenodiagnósticos com resultado final positivo, foi conseguido o isolamento de 25(13,8%) amostras de *T. cruzi* (TABELA 4). Do total de 275 amostras de *T. cruzi* isola-

das pela xenocultura, as 25(9,1%) obtidas de barbeiros negativos aos xenodiagnósticos de Chagas representam o potencial de aumento da sensibilidade deste tradicional método de diagnóstico da doença de Chagas. Das 218 ninfas de xenodiagnósticos com resultado final negativo, em nenhuma ocasião foi isolado *T. cruzi* (TABELA 4).

O número de amostras de *T. cruzi* isoladas pela utilização da técnica da xenocultura foi significativamente maior, pelo teste do qui quadrado ao nível de $P < 0,05$, entre todos os triatomíneos de xenodiagnósticos "in vivo" e/ou "in vitro" aplicados nos pacientes co-infetados 201/508(39,6%) do que entre aqueles soronegativos para HIV 74/352(21,0%) (TABELA 4).

Pela Tabela 4, também, é possível observar que maior número de isolamentos de *T. cruzi* foi conseguido dentre as ninfas dissecadas de xenodiagnósticos positivos aplicados nos pacientes co-infetados, com qui quadrado significante, para $P < 0,05$.

Dentre os 22 barbeiros, mortos anteriormente aos exames do xenodiagnóstico, a xenocultura viabilizou o isolamento de 2(9,1%) amostras de *T. cruzi* (TABELA 4).

TABELA 3
 RESULTADOS DAS TENTATIVAS DE ISOLAMENTO DE AMOSTRAS DE *T. CRUZI* DOS PACIENTES, COM DOENÇA DE CHAGAS OU CO-INFECTADAS PELO HIV, A PARTIR DA DISSECAÇÃO E SEMEADURA DO TRATO INTESTINAL DOS TRIATOMÍNEOS UTILIZADOS NOS XENODIAGNÓSTICOS POSITIVOS.

PACIENTES	XENOCULTURAS					
	P		Nº		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
DOENÇA DE CHAGAS-SORONEGATIVOS PARA HIV	26	83,9	5	16,1	31	100,0
CO-INFECTADOS- <i>Trypanosoma cruzi</i> /HIV	25	96,2	1	3,8	26	100,0
TOTAL	51	89,5	6	10,5	57	100,0

P – Número e percentual de pacientes com pelo menos um xenodiagnóstico positivo com xenoculturas positivas para o isolamento de amostras de *T. cruzi*.

N – Número e percentual de pacientes com pelo menos um xenodiagnóstico positivo com xenoculturas negativas para as tentativas de isolamento de amostras de *T. cruzi*

Deve ser registrada a observação da perda de aproximadamente 5% das xenoculturas por contaminação bacteriana ou fúngica.

Observou-se, ainda, uma aparente melhor adaptação de formas delgadas do parasita no cultivo em meios acelulares escolhidos.

DISCUSSÃO

O resultado final dos exames do conteúdo intestinal dos triatomíneos utilizados neste estudo, nos xenodiagnósticos realizados “in vivo” e/ou “in vitro” nos pacientes, com doença de Chagas ou co-infetados pelo HIV, com 73,1% de positividade, confirmando a presença de *T. cruzi* (TABELA 1), situa-se em patamar equivalente aos melhores desempenhos obtidos para esta metodologia diagnóstica^{2,6,17,19,23,24,25,26}.

O total de xenodiagnósticos positivos, 73/101 (72,3%), revela para a amostra estudada, níveis de parasitemia relativamente altos entre os pacientes, sendo o mesmo já registrado por PEREIRA et al¹⁸. Deve ser ressaltado, também, que os resultados conseguidos nos xenodiagnósticos aplicados nos indivíduos co-infetados (TABELA 2) guardam similaridade com as observações descritas por SARTORI et al²⁵ e OLIVEIRA Jr et al¹⁷ que aventaram ser maior nível de parasitemia, nos pacientes em fase crônica da doença de Chagas co-infetados pelo

HIV, resultado da manifestação de um caráter oportunista do *T. cruzi* em situação de imunodepressão no hospedeiro, provocada pelo agente da imunodeficiência adquirida. Por outro lado, o próprio valor de nível de parasitemia, expresso pelo número e percentual de triatomíneos positivos para *T. cruzi* nos exames do xenodiagnóstico parece ser parâmetro indicativo de prognóstico de evolução clínica¹⁸, principalmente no que concerne a possibilidade de reativação aguda da doença de Chagas, com complicações cardíacas e/ou neurológicas, nos pacientes co-infetados pelo HIV¹⁷. Níveis de parasitemia suficientes para obtenção de mais de 50-60% dos barbeiros utilizados nos xenodiagnósticos “in vivo” poderiam significar um mal prognóstico para a reativação da doença de Chagas²¹.

A xenocultura mostrou-se, neste estudo, importante ferramenta possibilitando o isolamento de amostras de *T. Cruzi*, de cerca de 90% (89,5%) dos pacientes com xenodiagnóstico positivo (TABELA 3). Em relação as tentativas de isolamento do parasita, mais uma vez verificou-se êxito significativamente maior (96,2%), neste intento, entre as ninfas de *T. infestans* utilizadas nos xenodiagnósticos positivos aplicados nos pacientes co-infetados, revelando, mais uma vez, a maior parasitemia naqueles pacientes por significar possibilidade real de ingestão, pelos barbeiros, no repasto sanguíneo, realizado “in vivo” ou “in vitro”, de maior número de parasi-

tas que evoluindo em seu trato digestivo-intestinal facilitam sua evidenciação e isolamento.

Do total de 461 ninfas reconhecidas como positivas para a presença de *T. cruzi* aos exames dos xenodiagnósticos positivos em 250 delas foi obtido sucesso no isolamento do protozoário (TABELA 4), ou seja em mais de 54% das tentativas.

A xenocultura significou, ainda, aumento na sensibilidade do xenodiagnóstico, sendo a ele associado, com o isolamento de *T. cruzi* em 25(13,8%) dos 181 barbeiros reconhecidos como negativos em xenodiagnósticos que tiveram resultado final positivo. Em relação ao total de positividade e isolamento deste agente, a dissecação e a xenocultura possibilitaram aumentar a sensibilidade de detecção de *T. cruzi* em 9,1%(25/275) (TABELA 4).

O encontro de positividade e isolamento de 2 amostras de *T. cruzi* em triatomíneos já mortos não é fato inédito uma vez que é conhecido que este parasita sobrevive no interior do hospedeiro invertebrado por vários dias, mesmo após sua morte²⁸. Acrescidas estas 2 amostras àquelas 25 de barbeiros negativos alcança-se 27/275 (9,8%) que se traduz com um aumento da sensibilidade do xenodiagnóstico em revelar triatomíneos infectados no repasto sanguíneo realizado “in vivo” ou “in vitro” com sangue dos pacientes com doença de Chagas. Pode-se, finalmente, aceitar como bastante razoável a perda cerca de 5% das xenoculturas, reconhecidas entre os resultados negativos, por contaminação bacteriana ou fúngica, o que significa ser eficiente o prévio tratamento dos triatomíneos em solução de álcool iodado visando a diminuição de contaminantes anteriormente a dissecação e sementeira em meio de cultura de seu trato intestinal.

A aparente melhor adaptação das formas delgadas de *T. cruzi* observadas nos meios de cultivo submetidos a repiques quinzenais, pode ser consequência de diferenças na fisiologia e competência de evolução, como discutido por BRENER³.

CONCLUSÕES

Além de possibilitar o isolamento de *Trypanosoma cruzi* em cerca de 90% dos pacientes com doença de Chagas ou co-infectados pelo HIV e, em mais de 54% dos triatomíneos reconhecidos como infectados no repasto sanguíneo do xenodiagnóstico, realizado “in vivo” ou “in vitro”, a xenocultura viabilizou a demonstração e o isolamento do parasita em mais 27 barbeiros que estavam mortos ou tinham sido identificados como negativos nos xenodiagnósticos positivos.

A xenocultura favoreceu a um aumento da sensibilidade do xenodiagnóstico em 9,8% (27/275) para detecção e isolamento de *T. cruzi* de triatomíneos infectados no repasto sanguíneo efetivado, “in vivo” ou “in vitro” em pacientes com doença de Chagas com ou sem co-infectado pelo HIV.

Confirmou-se finalmente, que em situações de co-infecção *T. cruzi*/HIV os níveis de parasitemia tendem a ser maiores do que entre pacientes infectados por *T. cruzi* porém soronegativos para HIV, isto representado pelas maiores positivities obtidas nos xenodiagnósticos e no isolamento do agente parasitário.

TABELA 4
RESULTADO FINAL E RESPECTIVAS FREQUÊNCIAS DAS XENOCULTURAS OBTIDAS A PARTIR DA DISSECAÇÃO DE NINFAS DE TRIATOMÍNEOS INFESTADOS UTILIZADAS EM XENODIAGNÓSTICOS REALIZADOS IN VIVO OU IN VITRO EM PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS OU CO-INFECTADOS PELO HIV.

PACIENTES	NINFAS DE XENODIAGNÓSTICO POSITIVO									NINFAS DE XENODIAGNÓSTICO NEGATIVO									TOTAL					
	IN VIVO ²			NINFAS NEGATIVAS CULTURA			IN VITRO ³			NINFAS NEGATIVAS CULTURA			IN VIVO ⁴			IN VITRO ⁵			TP	TN	TG			
	P	N	ST	P	N	ST	P	N	ST	P	N	ST	P	N	ST	P	N	ST						
DOENÇA DE CHAGAS-SORONEGATIVOS PARA HIV	58 46,6 %	72 55,4 %	130 100, %	4 3,5 %	43 91,5 %	47 100, %	10 33,3 %	20 66,7 %	30 100, %	2 6,9 %	27 93,1 %	29 100, %	0 0,0 %	22 100, %	22 100, %	0 0,0 %	94 100, %	94 100, %	74 21,0 %	278 79,0 %	352 100, %			
TOTAL DE XENODIAGNÓSTICOS	19						12						4						13			48		
CO-INFECTADOS- <i>Trypanosoma cruzi</i> /HIV	129 69,0 %	58 31,0 %	187 100, %	19 19,1 %	86 81,9 %	105 100, %	53 46,5 %	61 53,5 %	114 100, %	*	*	*	0 0,0 %	70 100, %	70 100, %	0 0,0 %	32 100, %	32 100, %	201 39,6 %	307 60,4 %	508 100, %			
TOTAL DE XENODIAGNÓSTICOS	24						18						7						4			53		
TOTAL	187 59,0 %	130 41,0 %	317 100, %	23 19,1 %	129 84,9 %	152 100, %	63 43,7 %	81 56,3 %	144 100, %	2 6,9 %	27 93,1 %	29 100, %	0 0,0 %	92 100, %	92 100, %	0 0,0 %	126 100, %	126 100, %	275 32, %	585 68,0 %	860 100, %			
TOTAL DE XENODIAGNÓSTICOS	43						30						11						17			8		

Legendas referentes à TABELA 4:

- 1 Um total de mais 8 ninfas mortas, utilizadas em xenodiagnósticos aplicados em pacientes soronegativos para HIV, foram dissecações para a xenocultura, porém sem sucesso para o isolamento de amostras de *T. cruzi*.
- 2 Um total de mais 10 ninfas mortas, utilizadas em xenodiagnósticos aplicados em pacientes co-infectados, foram dissecações para a xenocultura sendo isolada uma amostra de *T. cruzi*.
- 3 Um total de mais 4 ninfas mortas, utilizadas em xenodiagnósticos aplicados em pacientes co-infectados, foram dissecações para a xenocultura sendo isolada uma amostra de *T. cruzi*.
- 4 e 5 - Nos exames de xenodiagnósticos com resultado final negativo aos 30 ou 60 dias após a aplicação, tanto para os procedimentos *in vivo* quanto *in vitro* não houveram ninfas positivas para a infecção por *T. cruzi*.
- P - Número de ninfas de *Triatoma infestans*, dissecações, das quais a xenocultura resultou positiva quanto ao isolamento de amostras de *T. cruzi*.
- N - Número de ninfas de *T. infestans*, dissecações, das quais a xenocultura resultou negativa quanto a tentativa de isolamento de amostra de *T. cruzi*.
- ST - Subtotal do número de ninfas de *T. infestans*, dissecações para a xenocultura na tentativa de isolamento de amostras de *T. cruzi*.
- TP - Total de ninfas de *T. infestans*, dissecações, das quais a xenocultura resultou positiva quanto ao isolamento de amostras de *T. cruzi*.
- TN - Total de ninfas de *T. infestans*, dissecações, das quais a xenocultura resultou negativa quanto a tentativa de isolamento de amostras de *T. cruzi*.
- TG - Total geral de ninfas de *T. infestans*, dissecações para a xenocultura na tentativa de isolamento de amostras de *T. cruzi*.

* - Não realizado

BISUGO, MC, ARAÚJO, MFL, NUNES, EV, CUNHA, EA, OLIVEIRA Jr, OC, GUILHERME, CS, RAMIREZ, LP & TOLEZANO, JE — *Trypanosoma cruzi* isolation from xenoculture after *in vivo* and/or *in vitro* xenodiagnosis executed in Chagasic or co-infected with HIV patients. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 57 (2): 89-96.

ABSTRACT: The aim of this study was the evaluation of the performance of xenoculture as technical procedure for isolation of *T. cruzi* from intestinal contents of *Triatoma infestans* used in xenodiagnosis applied in 78 patients, from different states of Brazil, all of them in chronic phase of Chagas' disease, being 32 co-infected by HIV. A total of 101 xenodiagnosis were done, "in vivo" and/or "in vitro", with 30-40 *T. infestans* between third and fourth instar of development. At the end of xenodiagnosis examinations, a variable number of triatomines from each examination were seed, individually after iodine alcohol treatment, in biphasic medium Ducrey with LIT or BHI (with gentamicine). The cultures were examined every fifteen days until three months and, isolates preserved in liquid nitrogen. From 101 xenodiagnosis, 73 (72,3%) were positive to *T. cruzi*, corresponding to 57 out 78 (73,1%) patients. In 51 out 57 (89,5%) patients (26 coinfectad and 31 chronic Chagas(disease) with positive xenodiagnosis the isolation of *T. cruzi* were possible by the use of xenoculture. *T. cruzi* isolation was obtained in 25 out 26 (96,2%) coinfectad patients and 26 out 31 (83,9%) between seronegatives. From 461 triatomines that were infected in xenodiagnosis "in vivo" or "in vitro" it were possible the isolation of 250 (54,2%) samples of *T. cruzi*. From 399 bugs, negatives at xenodiagnosis, we isolated, by xenoculture 25 (6,3%) *T. cruzi*. Among 22 dead nymphs, for which we can't examine in xenodiagnosis, xenoculture viabilized isolation of 2 (9,1%) samples of *T. cruzi*. From no one negative xenodiagnosis it were isolated *T. cruzi*. We observed 5% of loss of xenocultures by fungic or bacterial contamination. We observed, also, an apparent better adaptation of slender forms to the culture medium. Besides to possibilite *T. cruzi* isolation from around 90% of patients with positive xenodiagnosis and from more than half of infected triatomines, the xenoculture viabilized recognition and parasite isolation from around 13,3% (27/203) of insects that were dead or identified as negative when examined in positive xenodiagnosis.

DESCRIPTORS: *Trypanosoma cruzi*; Chagas' disease; coinfection *T. cruzi* /HIV; isolation; "xenoculture"; AIDS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBUQUERQUE, RDR; FERNANDES, LAR; FUNAYAMA, GK; FERRIOLI Fº, F. & SIQUEIRA, AF — Hemoculturas seriadas com o meio de Warren em pacientes dead com reação de Guerreiro Machado positiva. *Rev.Inst.Med.Trop.* S. Paulo, **14**:1-5, 1972.
2. ALMEIDA, SP; SHERLOCK, IA & FAHEL, E — Novo procedimento de xenodiagnóstico na forma crônica da doença de Chagas. *Mem.Inst.Oswaldo Cruz*, Rio de janeiro, **74**: 285-288, 1976.
3. BRENER, Z — O Parasito: Relações Hospedeiro-Parasito. In: BRENER, Z. & ANDRADE, Z — *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1979 p.1-41
4. BRUMPT, E — Le xéodiagnostic. Application au diagnostic de quelques infections parasitaires et en particulier à la Trypanosomose de Chagas. *Bull.Soc.Path.Exot.*, **7**:706-710,1914.
5. CAMARGO, ME & TAKEDA, G.K.F. — Diagnóstico de laboratório. In: BRENER, Z & ANDRADE, ZA- *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*. Ed. Guanabara koogan, Rio de Janeiro, 1979. p. 175-198.
6. CERISOLA, JA; ROHWEDDER, R; SEGURA, EL; DEL PRADO, CE; ALVAREZ, M & DE MARTINI, GJW — *El xenodiagnóstico*. Institute Nacional de Diagnóstico e Investigación de la enfermedad de Chagas "Dr. Mario Fatala Chaben", Buenos Aires, 1974.
7. CHIARI, E & DIAS, JCP — Contribuição ao diagnóstico parasitológico da doença de Chagas na sua fase crônica. *Rev.Inst.Med.Trop.* S.Paulo, **8**: 134-138, 1966.
8. CHIARI, E & DIAS, JCP — Nota sobre nova técnica de hemocultura para diagnóstico parasitológico da doença de Chagas na sua fase crônica. *Rev.Soc.Bras.Med.Trop.*, **9**: 133-136, 1975.
9. FISCHER, RA & YATES, F — *Tabelas estatísticas: para pesquisa em Biologia, Medicinae Agricultura*. São Paulo, Universidade de São Paulo & Polígono, 1971. 150p.
10. FREITAS, JLP — *Contribuição para o estudo do diagnóstico da moléstia de Chagas por proces-*

- sos de laboratório*. Tese. Fac. Med. Universidade de São Paulo, 1947. 160 p.
11. FREITAS, JLP — Observações sobre o tempo ótimo para o exame de triatomíneos empregados em xenodiagnósticos. *Folia clin.biol.*, 16: 180-185, 1950.
 12. GUEDES, MLS & GUEDES, JS — *Bioestatística para profissionais de Saúde*. Rio de Janeiro, Ao Livro Técnico, 1988. 210p.
 13. GUILHERME, CS; NUNES, EV; OLIVEIRA Jr., OC; WESTPHALEN, SR; MAREI, SST; FERREIRA, MA & TOLEZANO, JE — Evaluation of parasitemia by *Trypanosoma cruzi* in the experimental infection of *Triatoma infestans* breeding in different rhythm of feeding. *Mem.Inst.Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 92(Suppl.I): 285, 1997.
 14. MAEKELT, GA — A modified procedure of xenodiagnosis for Chagas disease. *Amer.J. Trop.Med.Hyg.*, 13: 11-15, 1964.
 15. MINTER-GOEDBLOED, E; MINTER, DM & MARSCHAL, C — 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, 1978.
 16. NUSSENZWEIG, V & SONNTAG, R — Xenodiagnóstico artificial. Novo processo. Primeiros resultados positivos. *Rev.paul.Med.*, 40: 41-43, 1952.
 17. OLIVEIRA Jr.,OC; NUNES, EV; RAMIREZ, LP; GUILHERME, CS; SHIKANAI-YASUDA, MA; SARTORI, AM; WESTPHALEN, SR & TOLEZANO, JE — Xenodiagnosis for diagnostic and parasitemic evaluation in the *Trypanosoma cruzi*/HIV coinfection. *Mem.Inst.Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 92 (Suppl. I): 286, 1997.
 18. PEREIRA, JB, WILLCOX, HPF; MARCONDES, CB & COURA, JR — Parasitemia em pacientes chagásicos crônicos avaliada pelo índice de triatomíneos infectados no xenodiagnóstico. *Rev. Soc. Bras.Med.Trop.*, 22: 39-44, 1989.
 19. PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A & MULLER, CA — Studies in search of a suitable experimental insect model for xenodiagnosis of hosts with Chagas´disease. 1-Comparative xenodiagnosis with 9 triatomine species of animals with acute infections by *Trypanosoma cruzi*. *Mem.Inst.Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 77: 37-53, 1982.
 20. PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A & MULLER, CA — Studies in search of a suitable experimental insect model for xenodiagnosis of hosts with Chagas´disease. 2- Attempts to upgrade the reliability and the efficacy of xenodiagnosis in chronic Chagas´disease. *Mem. Inst.Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 82: 259-272, 1987.
 21. RAMIREZ, LP; FERREIRA, MS; SARTORI, AM; NUNES, EV; BUGARELLI, ME; SHIKANAI-YASUDA, MA; LIMA, JN; CRUZ, A; OLIVEIRA Jr., OC; GUILHERME, CS; BARNABE, C; TIBAYRENC, M & TOLEZANO, JE — Xenodiagnosis in chronic Chagas´disease and coinfection with HIV in Brazil. 14TH International Congress for Tropical Medicine and Malaria. Nagasaki, Japan, 1996. Abstracts p. 353.
 22. RASSI, A; AMATO NETO, V & OLIVEIRA, RL — Observações sobre a hemocultura em meio de LIT para *Trypanosoma cruzi* segundo Mourão e Mello (1975). *Rev.Inst.Med.Trop.* S. Paulo, 23: 57-60, 1981.
 23. SALGADO, AA — Consideraciones sobre metodologia y sensibilidad del xenodiagnóstico. *Bol. Chil.Parasit.*, 24: 9-13, 1969.
 24. SANTOS, AH; SILVA, IG & RASSI, A — A comparative study between natural and artificial xenodiagnosis in chronic Chagas´disease patients. *Rev.Soc.Bras.Med.Trop.*, 28: 367-373, 1995.
 25. SARTORI, AM; SHIKANAI-YASUDA, MA; AMATO NETO, V & LOPES, MH. Follow-up of 18 patients with human immunodeficiency virus infections and chronic Chagas´disease with reactivation of Chagas´disease causing cardiac disease in the three patients. *Clin.Infect.Dis.*, 26: 177-179, 1998.
 26. SCHENONE, H.; ALFANO, E; REYES, H & TAUCHER, E — Valor del xenodiagnóstico en la infección chagásica crônica. *Bol.Chil.Parasit.*, 23: 149-154, 198.
 27. TOLEZANO, JE; ARAÚJO, MFL; RIBEIRO, SS & ISHIDA, MMI — Efeitos do jejum e da temperatura em laboratório na infecção de triatomíneos por *Trypanosoma cruzi*. *Rev.Inst.Adolfo Lutz*, 43: 25-32; 1983.
 28. TOLEZANO, JE; NUNES, EV & TANIGUCHI, HH — Sobrevivência de *Trypanosoma cruzi* em *Triatoma infestans* mortos por ação de inseticida. *Rev.Inst.Adolfo Lutz*, 48: 5-6, 1988.

Recebido para publicação em 09/04/98