

Relaciones materno-fetales en la infección con *T. Cruzi* y la implementación de un programa nacional de detección y tratamiento de Chagas congénito en Bolivia

Faustino Torrico¹, Cristina Alonso Vega¹, Claire Billot¹, Carine Truyens², Yves Carlier²

¹Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Simón (UMSS), Cochabamba, Bolivia. ²Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Médecine, Université Libre de Bruxelles (ULB), Belgique

Correspondencia:

Faustino Torrico

371 Av. Aniceto Arce, Cochabamba Bolivia

E-mail: foxtorrico@yahoo.com

Resumen

La enfermedad de Chagas congénita se produce por la transmisión de *Trypanosoma cruzi* de la madre infectada al feto. Esta infección, característica de la América latina, se extiende a otros continentes debido a la importante migración de mujeres crónicamente infectadas y en edad fértil. La tasa de transmisión materno fetal varía de una región a otra entre el 1 y el 12%. La importante población de mujeres en edad fértil infectadas y el riesgo de transmisión presente en cada embarazo realzan la importancia de este modo de transmisión. La infección materna, cuando no hay infección al feto, parece no influenciar ni el curso del embarazo ni el desarrollo fetal. Sin embargo más del 50% de los recién nacidos con Chagas congénito son totalmente asintomáticos al nacimiento. En los casos donde hay una clínica aparente se puede observar prematuridad, bajo peso al nacer, hepato y esplenomegalia, síndrome de distress respiratorio y anasarca. El diagnóstico de la infección congénita puede hacerse al nacimiento mediante la búsqueda de parásitos en la sangre del cordón umbilical o la sangre venosa, utilizando el micrométodo en tubo capilar, complementado, en los casos negativos al nacimiento, con una segunda prueba parasitológica entre 1 y 2 meses de edad, y con las pruebas serológicas después de los seis meses de vida. El tratamiento precoz de la infección congénita con Benznidazol durante 30 días cura prácticamente al 100% de los niños infectados y esta curación se puede confirmar por la negativación de las pruebas serológicas entre 6 meses hasta un año después del tratamiento. Este artículo también presenta resultados del programa de detección y tratamiento de Chagas congénito en tres departamentos endémicos de Bolivia, donde se observa una prevalencia de infección materna superior al 30% con una tasa de transmisión de 2,5% y un cumplimiento del tratamiento en un 83% de los niños infectados.

Palabras clave: Chagas congénito. Epidemiología. Diagnóstico. Tratamiento.

Summary

Congenital Chagas disease is caused by the transmission of *Trypanosoma cruzi* from an infected mother to her foetus. Although characteristically found in Latin America countries, this disease is extending to other continents due to the immigration of chronically infected women of reproductive age. The mother to foetus transmission rate varies between 1 and 12% in different regions. The significant population of infected women of child bearing age and the transmission risk during pregnancy highlight the importance of

congenital transmission. In the absence of foetal infection, maternal Chagas does not appear to influence pregnancy or the foetal development. However, more than 50% of newborns with congenital Chagas are completely asymptomatic at birth. In cases where clinical disease is present, premature birth, low birth weight, hepatomegaly and splenomegaly, respiratory distress syndrome, and anasarca have been observed. Diagnosis of a congenital infection can be done at birth by testing for parasites in the umbilical cord blood or bloodstream and by micromethod. Cases that are negative at birth can be followed-up with a second parasitological test between age 1 and 2 months and by serological analysis after age 6 months. Early treatment of infected infants with Benznidazol for 30 days cures almost 100% of cases. Treatment success can be confirmed by negative serological tests between 6 month and 1 year after treatment is completed. This article presents the results of a congenital Chagas detection and treatment program in three endemic areas of Bolivia. The observed prevalence of infection was more than 30% with a 2.5% transmission rate. Treatment adherence for infected infants was 83%.

Key words: Congenital Chagas' disease. Epidemiology. Diagnostic. Treatment.

Introducción

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una antropozoonosis debida al protozooario flagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). Esta infección/enfermedad es característica del continente americano y más particularmente de Latinoamérica. Se encuentra principalmente en los pequeños mamíferos salvajes (ciclo silvestre enzootico), y la enfermedad humana es el resultado de la domiciliación de algunos vectores en el hábitat humano (ciclo doméstico). La infección es generalmente transmitida por las deyecciones de insectos vectores hematófagos que pertenecen a la familia de los *Réduviidae* y la subclase de los *Triatominae*. El parásito puede ser transmitido también por transfusión de sangre infectada y de una madre infectada a su feto (transmisión vertical). La transmisión oral por ingestión de alimentos contaminados con formas trypomastigotes metacíclicas procedentes de las deyecciones de *Triatominae* infectados parece ser un modo de contaminación importante sobre todo en las regiones amazónicas¹. Los otros modos de transmisión tienen, en general, poca importancia epidemiológica. Los accidentes de laboratorio pueden

ocurrir a los investigadores cuando manipulan insectos vectores, parásitos o animales infectados, o al manipular material biológico contaminado². Los trasplantes de órganos, practicados con mayor frecuencia en la actualidad, son igualmente una fuente de infección cuando se ignora la necesidad de un control serológico de los donantes.

En las regiones donde el control de la transmisión vectorial y transfusional por *T. cruzi* se realiza, la transmisión congénita constituye la forma principal de persistencia de esta parasitosis en las poblaciones humanas y constituye una fuente permanente de nuevos casos de Chagas³⁻⁷. La migración de mujeres infectadas ha dado lugar a casos de Chagas congénito fuera de la región endémica^{4,5}. Por otra parte es necesario considerar que el control vectorial y transfusional, constituye en sí, un medio indirecto de control del Chagas congénito, pues a la larga, la población femenina infectada y susceptible de transmitir la infección disminuirá⁸.

No existe, hasta ahora, una prevención primaria disponible para la enfermedad de Chagas congénita. En efecto, el tratamiento anti-parasitario debe ser evitado durante el embarazo^{8,9}. La estrategia de prevención secundaria más recomendada se basa en un diagnóstico precoz de la infección en el recién nacido y el tratamiento específico e inmediato de aquellos infectados^{4,9}.

Infección por *T. Cruzi* y gestación

Prevalencia de la infección en las gestantes

La prevalencia de serología positiva en las mujeres grávidas es muy variable de un país a otro, incluso de una región determinada a otra y refleja la prevalencia global de la infección^{10,11}. Esta prevalencia ha disminuido sustancialmente en los países donde se han desarrollado programas nacionales de control vectorial, pero también allí donde la situación socioeconómica ha mejorado a lo largo de los años^{12,13}. Así, en Argentina, una encuesta sero-epidemiológica realizada en 1999 entre las mujeres embarazadas de 13 provincias endémicas mostraba una seroprevalencia media de un 4%¹⁰ mientras que otras encuestas llevadas a cabo en Tucumán y en la ciudad de Santa Fé identificaban, respectivamente, 5,5% y 14,6% de mujeres infectadas, de las cuales un 73% tenía una historia de migración^{4,14}. En Chile, un estudio efectuado entre 1991 y 1993 entre las mujeres embarazadas de Antofagasta, región libre de transmisión vectorial, mostraba que el 2,1% estaban infectadas, y que un 70% y 22,7% de ellas procedía de regiones que eran antes moderada y altamente endémicas respectivamente¹⁵. En el Brasil, en el estado de Paraná, un estudio retrospectivo llevado a cabo durante el período 1996-1998, mostró que el 0,9% de las mujeres embarazadas tenía una serología positiva para Chagas¹⁶. Otro estudio llevado a cabo en 1988 en el estado de Sao Paulo encontraba un 2,9% de mujeres positivas, 71,4% de ellas eran naturales de los estados altamente endémicos de Bahía y Minas Gerais¹⁷. En el departamento de Arequipa, Perú, donde la infección con *T. cruzi* es endémica, la prevalencia era del 0,73%¹⁸. En las regiones endémicas de Méjico, como Veracruz y Chiapas la seroprevalencia varía entre 4 a 5%¹⁹. En Bolivia, donde las actividades de control vectorial se iniciaron solamente a partir del año 2000, la prevalencia de la infección entre las mujeres embarazadas es particularmente importante con cifras que superan el 20%²⁰.

Fase de la infección en las gestantes

La mayoría de las mujeres infectadas en edad de procrear se encuentra en la fase crónica de la infección, habiendo ésta sido adquirida generalmente por vía vectorial en la niñez o antes de la pubertad^{6,7}. Sin embargo, se han reportado algunos casos raros de infección aguda en las gestantes¹² y también casos de infección congénita de segunda generación²¹.

Efectos de la infección sobre la fertilidad y el desarrollo fetal

Las informaciones referentes a la infección por *T. cruzi* sobre la fertilidad humana o el desarrollo fetal, fuera de la transmisión congénita del parásito, son inexistentes o muy limitadas. Actualmente, ningún dato epidemiológico permite sospechar la existencia de un efecto de la infección aguda sobre la fertilidad humana, tal como se observó en los ratones²². Sin embargo, la mayoría de las infecciones humanas de origen vectorial se producen en la niñez, y el número de pacientes grávidas que presentan una fase aguda de infección es demasiado limitado e insuficiente para poder apreciar un eventual efecto.

El efecto principal de la infección a lo largo del embarazo es, por supuesto, la transmisión vertical de los parásitos que induce una infección congénita en 1 a 12% de las madres infectadas. Algunos estudios limitados sugieren que la infección crónica por *T. cruzi* podría aumentar la tasa de abortos, de mortinatos, de retraso de crecimiento intrauterino o de nacimientos prematuros, aunque otros no muestran esta relación^{10,11,20,23,24}. Queda por demostrar si estos casos son el resultado de una infección congénita o de lesiones placentarias sin infección fetal, como se describe en los ratones²⁵.

En ausencia de una transmisión materno-fetal de *Trypanosoma cruzi*, la infección materna crónica no tiene consecuencias sobre el curso del embarazo y el desarrollo fetal^{7,10,20,24}. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que si la madre está infectada, el riesgo de transmisión materno-fetal está presente en cada embarazo^{24,26}. Por ello, se recomienda realizar a la madre, durante el primer control del embarazo, o en el momento de su admisión al parto, un test serológico de detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* y, en las madres positivas, también una evaluación del estado de salud y un seguimiento, así como la aplicación de exámenes de detección de la infección a los hermanos de los recién nacidos²⁷.

Efectos de la gestación sobre la infección

Vista su edad, en general de menos de 30 años, la mayoría de las madres infectadas presentan la forma indeterminada de la fase crónica de la infección y estas madres no presentan las modificaciones clínicas de la enfermedad de Chagas en relación con la gestación^{4,7,28-30}.

Enfermedad de Chagas congénita

La infección y la enfermedad de Chagas congénita son el resultado de la transmisión de *T. cruzi* de la madre infectada a su feto por vía trans-placentaria y/o trans-membranaria^{3,31}. La transmisión de la infección por la leche materna parece extremadamente rara. Los pocos casos descritos parecen más bien relacionados con una contaminación de la leche debida a un sangrado mamario^{24,32}. La infección congénita se define por la detección del parásito en la sangre del cordón umbilical, o en la sangre periférica, desde los primeros días de vida hasta los primeros 6 meses cuando la posibilidad de transmisión vectorial o transfusional ha sido eliminada³.

Aspectos epidemiológicos

Tasa de transmisión materno-fetal de la infección

Las tasas de transmisión materno-fetal de la infección por *T. cruzi* (número de casos congénitos/número de madres chagásicas) varían, según los estudios y las regiones endémicas, entre el 1 y el 12% de las mujeres infectadas (seropositivas) en fase crónica de infección³. Así, en Argentina, en las provincias de Salta, Tucumán, y en la ciudad de Santa Fé, se encuentra, respectivamente, tasas de transmisión de 8,8%³³ 7,1%⁴ y de 2,64%¹⁴. En

el Brasil, estas tasas varían de indetectable³⁴ a 3,0%³⁵ en Sao Paulo, 1,29% en Bahía, 2,2% en Brasilia³⁶ y 1,8% en Belo Horizonte^{37,38}. En Chile, las tasas de transmisión variarían de 1,9% a 11,5%³⁹. En Bolivia (Santa Cruz), Azogue y colegas han encontrado porcentajes de transmisión entre 2% y 21%⁴⁰. Estos estudios son sin embargo difíciles de comparar, habiendo sido realizados con metodologías clínicas y de diagnóstico biológico diferentes no estandarizadas y que no siempre prueban la presencia de parásitos vivos en el recién-nacido.

Fase de la infección en las gestantes y transmisión congénita

A diferencia de la toxoplasmosis, la transmisión vertical de *T. cruzi* puede realizarse tanto cuando la madre se encuentra en fase aguda como en fase crónica (la más frecuente) de la enfermedad. Sin embargo, aunque han sido declarados algunos casos de transmisión congénita durante la fase aguda¹⁵, la mayoría de las madres que transmiten la infección a sus fetos se encuentra en la fase crónica de la infección, generalmente adquirida por vía vectorial en la niñez o antes de la pubertad^{3,6}.

Otros aspectos epidemiológicos de la transmisión congénita

La transmisión de la infección materna por *T. cruzi*, a diferencia de la toxoplasmosis, puede repetirse en cada embarazo²⁴. La transmisión congénita puede suceder también de una generación humana a la otra, permitiendo una transmisión a largo plazo totalmente independiente de la transmisión vectorial, a lo largo de muchas generaciones²¹. Por otro lado, la disminución de la transmisión vectorial gracias a la utilización extensiva de insecticidas para luchar contra los triatominos, y la exclusión de los donantes de sangre serológicamente positivos, han producido una importante disminución de la incidencia de los casos humanos de tripanosomiasis americana en los países como la Argentina, el Brasil, el Uruguay, Chile, el Paraguay y últimamente Bolivia con, como consecuencia, la emergencia gradual y una más gran visibilidad de la transmisión congénita de esta infección^{5,41}. Estos elementos y las frecuentes migraciones de las poblaciones de las regiones rurales hacia los centros urbanos y de las poblaciones de los centros urbanos hacia regiones no endémicas han hecho que la infección y la enfermedad de Chagas congénita sean consideradas como un problema de salud pública tanto en las regiones endémicas como las no endémicas^{21,42}.

Factores de riesgo de transmisión congénita de la infección

Varios factores de riesgo para la transmisión de la infección de una madre a su feto han sido evocados, como la edad de la madre, su origen geográfico (que condiciona probablemente la o las cepas de parásitos implicados y la densidad vectorial intra-domiciliar) su estado nutricional, sus bases genéticas, la fase evolutiva de la enfermedad materna, la reactivación de la infección o las reinfecciones (de origen vectorial) a lo largo del embarazo^{12,29,43}.

Nuestros estudios han mostrado que la infección congénita está asociada a parasitemias maternas elevadas, y a una deficiencia de las células maternas encargadas de producir el IFN- γ en respuesta a los parásitos, que persiste en las mujeres transmisoras después el parto⁴⁴. Estas observaciones, sugieren que la transmisión podría estar ligada a factores genéticos, y que la transmisión en fase aguda de la infección podría ser más frecuente debido a las parasitemias elevadas encontradas en esta fase, como se sugería anteriormente^{10,12,31,45}. Por otro lado, un estudio reciente del grupo ULB/UMSS indica que el polimorfismo molecular de *T. cruzi* no está asociado con la aparición de la infección congénita, ni con el desarrollo de formas clínicas severas de ésta⁴⁶.

Sin embargo, hasta ahora, los mecanismos de transmisión materno-fetal del parásito no han sido todavía claramente elucidados. No hay manera de predecir si una mujer infectada transmitirá o no el parásito a su bebé. En

particular, el papel del contexto epidemiológico, nutricional y genético de la madre, no han sido estudiados en la infección congénita humana. Es probable que la transmisión materno-fetal sea multi-factorial.

Respuesta fetal a la infección

El equipo ULB/UMSS ha obtenido informaciones recientes sobre la respuesta de los recién nacidos de madres infectadas por *T. cruzi*. Los recién nacidos infectados congénitamente desarrollan una respuesta de adaptación, caracterizada por la expansión de las células CD8+ activadas, produciendo perforina, TNF- α e IFN- γ ⁴⁷. Este estudio mostró por primera vez que el feto es capaz de sobrepasar su inmadurez inmunológica. Por otra parte, los recién nacidos no infectados de madres infectadas presentan una capacidad incrementada de producir citoquinas inflamatorias⁴⁸, lo cual sugiere que la activación de la respuesta innata en estos fetos podría contribuir a impedir la infección, probablemente en asociación con los anticuerpos maternos transmitidos.

Aspectos clínicos de la enfermedad de Chagas congénita

La infección congénita es de hecho una variante del Chagas agudo, adquirido "in utero" sin puerta de entrada aparente y cuya sintomatología asemeja la de los casos agudos.

No existe un cuadro clínico definido para los recién nacidos con la enfermedad de Chagas congénita. Se han asociado a esta enfermedad, en el momento del nacimiento o en los primeros días de vida: bajo peso de nacimiento (inferior a 2500g), prematuridad, hipotonía muscular, fiebre, hepatomegalia, esplenomegalia, alteraciones cardíacas (taquicardia persistente, insuficiencia cardíaca congestiva con anomalías del segmento ST, aplanamiento de la onda T, alargamiento del tiempo de conducción A-V y bajo voltaje en el electrocardiograma) alteraciones meningo-encefálicas (con convulsiones, calcificaciones cerebrales, microcefalia, y a nivel del LCR, un aumento de las proteínas y una linforraquia), signos cutáneos (hemorragias cutáneas, petequias, cianosis, ictericia asociada a un hiperbilirubinemia debida a una anemia hemolítica ligera, chagomas hematógenos metastásicos eritematosos y de vez en cuando pustulosos), lesiones oculares con daño a nivel de la retina, desaparición de la papila y corioretinitis, edema generalizado (hydrops-fetalis), mega-esófago, mega-colon, signos pulmonares (bronconeumopatía, distress respiratorio) (Figura 1a). Globalmente, la prematuridad, el bajo peso al nacimiento, la esplenomegalia, fiebre y signos pulmonares parecen ser los elementos clínicos encontrados más a menudo en el niño con Chagas congénito⁴⁹⁻⁵⁴.

Cuando se hace una detección sistemática de la infección congénita en los recién nacidos de madres seropositivas, se observa un importante porcentaje de recién nacidos totalmente asintomáticos y este porcentaje puede variar de un 31%⁵⁵ a un 72%^{14,26,56,57} (Figura 1b). Este hecho es de una gran importancia para adoptar una estrategia de detección de los casos de Chagas congénito pues, ésta no puede centrarse sobre los aspectos clínicos descritos, si no fundamentalmente sobre el diagnóstico de laboratorio.

En relación a la mortalidad, la literatura muestra también cifras diferentes que van desde una mortalidad inexistente⁵⁵ hasta una mortalidad importante, que puede estar cerca del 50% en los recién nacidos infectados y prematuros^{8,14,24,58}. De hecho, las tasas de mortalidad reportadas sólo conciernen, en general, a pocos casos, de severidad diferente (mono-sintomáticos y/o polisintomáticos) que recibieron a menudo un tratamiento específico instaurado inmediatamente después del diagnóstico.

Diagnóstico biológico de la infección congénita

El porcentaje importante de recién nacidos infectados congénitamente y asintomáticos u oligo-sintomáticos, hace imperativo un diagnóstico de la-



Figura 1a. Chagas congénito. Recién nacidos con SDR y edema



Figura 1b. Chagas congénito. Recién nacido asintomático

boratorio de rutina con el fin de detectar precozmente la infección e iniciar un tratamiento específico²⁴.

DetECCIÓN DE LA INFECCIÓN EN LA MADRE

Se realiza un tamizaje serológico mediante la serología convencional específica de *T. cruzi* siguiendo las recomendaciones de la OMS⁸.

DETECCIÓN PARASITOLÓGICA DE LA INFECCIÓN EN EL RECIÉN NACIDO

Siendo la infección congénita una infección aguda adquirida a lo largo de la gestación, la base del diagnóstico de laboratorio es la búsqueda de parásitos en la sangre del recién nacido. Diversos métodos de diagnóstico parasitológico

indirectos han sido utilizados (inoculación a ratones y xenodiagnóstico) o son todavía utilizados hoy en día (hemocultivo) para la detección de casos de Chagas congénito. Sin embargo, estos métodos, presentan algunos problemas, entre otros, la necesidad de una infraestructura pesada, o de una cantidad de muestra sanguínea que no es siempre posible de conseguir en los recién nacidos, y, finalmente, el tiempo necesario para la obtención del resultado que puede ser superior a 30 días^{14,26,56}.

Entre los métodos directos de búsqueda de parásitos, el examen de sangre fresca, el frotis sanguíneo y la gota gruesa tienen una sensibilidad limitada (en general del 40 al 60%) y son útiles sobre todo allí donde no existen otros recursos diagnósticos^{14,26}. El método de Strout, que tiene una muy buena sensibilidad de un 95% en el Chagas agudo, requiere una cantidad de sangre de 5 a 10 ml, no siempre fácil de conseguir de un recién nacido. Un micro-Strout en tubo Eppendorf permite sin embargo reducir el tamaño de la muestra sanguínea¹⁵.

Actualmente, después del Coloquio internacional organizado por nuestro grupo ULB/UMSS en 2002 en Cochabamba (Bolivia), se ha llegado a un consenso para recomendar la utilización del micrométodo en tubo capilar como test de elección de concentración de los parásitos para el diagnóstico del Chagas congénito en el recién nacido^{3,59}. El método recomendado es una variante de aquel inicialmente descrito por Freilij⁵⁶ y utilizado en otros estudios^{4,60-62}. La variante evita la fase peligrosa de la ruptura del tubo capilar y permite la búsqueda de los parásitos en el "buffy coat" mediante rotación del tubo bajo el objetivo del microscopio⁵⁹.

Este método tiene una gran sensibilidad, que permite la detección de todos los casos que presentan una parasitemia superior a 40 parásitos / mL, requiriendo sólo una pequeña cantidad de sangre (cordón umbilical, capilar o vena,) y permite una obtención rápida de resultados. Es necesario recordar, sin embargo, que un test de micrométodo negativo en el nacimiento no excluye una infección congénita y que es necesario repetir la prueba 30 días después del nacimiento o más tarde, para detectar los casos que habrían presentado una parasitemia demasiado débil en el nacimiento o que habrían sido infectados eventualmente más tarde a lo largo del trabajo de parto⁴.

DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA INFECCIÓN CONGÉNITA

La detección de anticuerpos específicos de *T. cruzi* de clase IgG no tiene utilidad alguna en el recién nacido cuya madre está infectada dado que corresponden a la transmisión pasiva de anticuerpos de la madre al feto. Sin embargo, esta misma detección después de los 8 meses de vida tiene un significado diagnóstico, pues la persistencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* en el niño indica que ha habido un estímulo de su sistema inmunitario ligado a la presencia del parásito^{4,14,26}. En la práctica, se recomienda que una serología convencional sea efectuada después de 8 meses de vida a todos los niños nacidos de madres infectadas y a aquéllos que no pudieron beneficiarse de un diagnóstico precoz por medio de tests parasitológicos. Los resultados serológicos positivos a esta edad confirman el diagnóstico de infección por *T. cruzi*^{3,4}.

La detección de anticuerpos específicos de clase IgM puede dar lugar a falsas reacciones positivas (probablemente ligadas a la presencia del factor reumatoide y a las transferencias materno-fetales) de antígenos parasitarios circulantes que inducen una respuesta inmune) y también a una importante frecuencia de reacciones falso negativas^{30,63-68}. Un resultado negativo en anticuerpos IgM en un recién nacido de madre infectada no excluye una infección congénita. Varias hipótesis se han propuesto para explicar la frecuencia de los resultados falso negativos en los recién nacidos confirmados con Chagas congénito mediante técnicas parasitológicas, como son la muy baja concentración de anticuerpos IgM en las infecciones congénitas recientes, la formación de complejos entre los anticuerpos IgM y un exceso de antígenos, y la presencia de IgG maternas que suprimen la síntesis fetal de IgM⁶⁹⁻⁷¹.

La detección de anticuerpos IgA específicos ha sido objeto de varios estudios con resultados discordantes^{65,66-72-74}. Por otro lado, no se dispone de ningún test comercial validado para efectuar este diagnóstico.

Globalmente, se puede concluir que los procedimientos serológicos no son recomendados para el diagnóstico del Chagas congénito en el nacimiento, pues, o las pruebas no permiten distinguir los anticuerpos producidos por el recién nacido de aquéllos transmitidos por la madre (caso de los IgG), o no siempre dan resultados positivos en los niños con Chagas congénito o, que pueden ser positivos en ciertos niños no infectados nacidos de madres infectadas (caso de los IgM específicas) y, que la serología específica IgA no es positiva en todos los casos congénitos³.

Diagnóstico molecular de la infección congénita

La PCR ha sido utilizada en varios estudios recientes como herramienta de diagnóstico de la infección congénita por *T. cruzi*. Los resultados de muchos de estos estudios no son concluyentes por falta de sensibilidad y de especificidad. El problema de la PCR radica en que es una técnica delicada, más compleja que el micrométodo y que además puede detectar parásitos no viables o ADN que podría haber sido transferido de la madre infectada sin que haya habido pasaje de parásitos vivos^{57,75-79}.

Tratamiento de la infección congénita

La OMS/WHO recomienda el tratamiento etiológico de toda fase aguda de la infección sea cual fuere el mecanismo de transmisión⁹.

En el caso concreto de la infección congénita por *T. cruzi*, está claro que cuanto antes se efectúe el diagnóstico, y cuanto antes se empiece el tratamiento, mayor es la probabilidad de curación del niño^{4,26,56,62}. En efecto, se ha observado una sero-negativación a largo plazo hasta un 100% en los recién nacidos tratados a partir del nacimiento, mientras que este porcentaje disminuye si el tratamiento se inicia cuando el niño es mayor^{7,26,55}. Es indudable que la aplicación precoz del tratamiento impide la aparición de los daños producidos por la importante respuesta inflamatoria y la lisis celular que caracterizan la fase aguda de la infección⁵⁴.

Los dos medicamentos disponibles actualmente, el Benznidazol y el Nifurtimox, pueden ser utilizados para el tratamiento de la infección congénita. La PAHO/OPS recomienda las siguientes reglas para el tratamiento del Chagas congénito: Benznidazol 10 mg/kg/día, Nifurtimox, 10-15/mg/kg/día; ambos medicamentos deben ser administrados en 2 o 3 dosis diarias durante 30 a 60 días (En nuestra experiencia utilizamos el Benznidazol a 10 mg / kg / día por 30 días). En los niños prematuros o presentando un bajo peso al nacer, el tratamiento deberá comenzar con la mitad de la dosis. Los efectos adversos observados en los recién nacidos tratados con estos medicamentos son muy poco frecuentes^{11,80,81}. El criterio de curación en estos casos es el control serológico por medio de los tests serológicos convencionales, que serán negativos antes del duodécimo mes después del comienzo del tratamiento, si éste se inicia al nacimiento⁵⁶.

Control de la infección congénita

Existe un consenso internacional que sostiene que el tratamiento de las mujeres embarazadas con el fin de eliminar su parasitemia no es recomendado a lo largo del embarazo debido al potencial efecto teratogénico del medicamento³. Por este motivo no es posible prevenir la transmisión materno-fetal, y toda estrategia de control sólo puede intentar eliminar la infección detectada en el recién nacido para limitar la morbi-mortalidad potencial de la enfermedad de Chagas congénita.

Hasta hace poco, no existía una estrategia clara y estandarizada de control de la infección congénita. En ese campo también se estableció un consenso internacional durante el Coloquio internacional ULB/UMSS, 2002, Cochabamba,

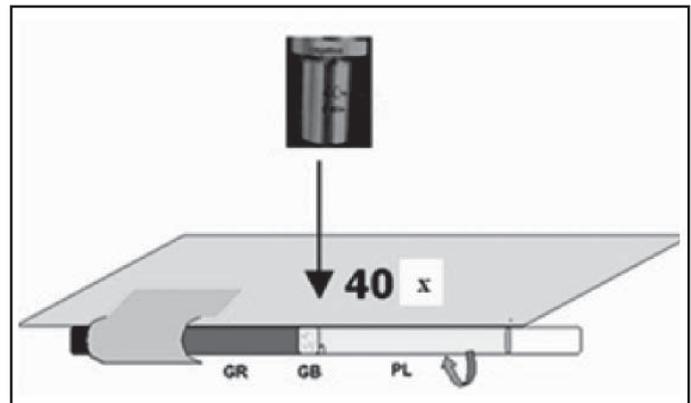


Figura 2. Diagnóstico parasitológico de la enfermedad de Chagas: lectura microscópica del micro-hematocrito

Bolivia, validado por la PAHO/WHO en 2004 (Montevideo, Uruguay). Es así que se vio que, en las zonas endémicas donde las mujeres en edad fértil están a menudo infectadas, o en las regiones de importante migración de mujeres de las regiones endémicas, y en las mujeres que tienen antecedentes epidemiológicos que hacen sospechar la infección, la realización sistemática de serologías maternas (durante la consulta pre-natal o al momento del ingreso a la maternidad), el diagnóstico precoz de la infección en los recién nacidos y el tratamiento específico inmediato de aquellos infectados debe ser la regla. Los recién nacidos negativos de madres infectadas serán reexaminados 6 a 8 meses más tarde para diagnosticar las formas congénitas tardías, (por la persistencia de tasas elevadas de anticuerpos IgG anti-*T. cruzi* después de la desaparición de los anticuerpos maternos transmitidos)^{3,4,11,67}. Sin embargo, en el futuro, es importante generalizar los programas de diagnóstico y de tratamiento sistemático de los recién nacidos infectados congénitamente que se aplican sólo en ciertos países o regiones.

Implementación de un Programa Nacional de detección y tratamiento de Chagas congénito en Bolivia

En Bolivia, se considera que la prevalencia de infección por *T. cruzi*, en las mujeres en edad fértil es de aproximadamente 20%, con una tasa de transmisión materno fetal de 5% (tasa promedio encontrada en nuestros estudios precedentes en el Hospital Materno Infantil Germán Urquidí de Cochabamba)^{7,82}. Se calcula que anualmente nacen entre 2500 y 3000 niños con Chagas congénito, constituyéndose en un importante problema de salud pública y ciertamente la enfermedad infecciosa de transmisión congénita más frecuente en el país, y totalmente curable si se detecta precozmente.

En el marco de la estrategia de detección anteriormente descrita, desde el año 2004 se desarrolla, en tres departamentos endémicos del país (Cochabamba, Tarija y Chuquisaca) el Programa de detección y tratamiento de Chagas congénito que ha incluido, de manera progresiva, un total de 36 servicios de salud (Hospitales de segundo y tercer nivel y Centros de Salud con laboratorio). Esta es una iniciativa del Programa Nacional de Control de Chagas, La Universidad Mayor de San Simón de Cochabamba y que cuenta con el apoyo de la cooperación técnica financiera belga (CIUF, Región Wallona, CGRI y APEFE). A continuación se presentan algunos resultados obtenidos en este programa que busca extenderse a todo el país.

La Tabla 1 muestra que globalmente, en los 3 departamentos de trabajo, un 33,4% de las mujeres embarazadas que acuden a los Servicios de Salud

Tabla 1. Seroprevalencia de la infección por *T. cruzi* en mujeres embarazadas en tres departamentos endémicos de Bolivia

Departamento	Nº de muestras analizadas	Seroprevalencia (%)
Cochabamba	13128	16,2%
Chuquisaca	15576	37,3%
Tarija	11964	47,2%
Total	40668	33,4%

La detección de la infección se ha realizado mediante la técnica de Hemaglutinación Indirecta para Chagas (Kit Polychaco), tomando como dilución de corte 1/16. El periodo de estudio es de Junio 2004 a Julio 2006

Tabla 2. Detección de Chagas congénito según la técnica utilizada

Detección de Chagas congénito (técnica)	Nº de muestras analizadas	Nº de niños positivos	Tasa de transmisión
Análisis parasitológico directo	8253	163	1,97%
Análisis serológico (HAI + ELISA)	691	62	8,9%
Total		225	2,5%

La técnica parasitológica directa (microhematocrito o técnica del tubo capilar), se utiliza al nacimiento y en un control que debe de realizarse antes de los 6 meses. Las técnicas serológicas, se usan a partir de los 6 meses, una vez que los anticuerpos maternos se han eliminado. Las muestras corresponden a niños nacidos de madre con serología positiva

Tabla 3. Cumplimiento del tratamiento

Niños diagnosticados	Niños que terminaron el tratamiento	Tasa de cumplimiento
90	75	83%

Niños diagnosticados en el Hospital materno infantil Germán Urquidí de Cochabamba durante los años 1999-2005

están infectadas por el *T. cruzi* y que si bien es cierto que estas tasas son superiores a las encontradas en los países vecinos, la variabilidad regional es muy importante.

En 8.253 recién nacidos de madres seropositivas se ha realizado la búsqueda de parásitos al nacimiento o durante los 30 primeros días de vida, detectándose 163 casos (1.97%) positivos. Esta tasa de transmisión más baja de la esperada puede deberse a variaciones regionales en la transmisión, pero también puede deberse a limitaciones relacionadas al funcionamiento interno de los servicios y revela el hecho que la técnica utilizada, el microhematocrito en tubo capilar, necesita una capacitación sostenida del personal y un buen control de calidad para mantener su eficacia.

Para la detección tardía de los caso de Chagas congénito que fueron negativos o no pudieron ser detectados al nacimiento por la técnica del micrométodo en tubo capilar, se utilizó, después de los seis meses del nacimiento, una prueba serológica (la Hemaglutinación Indirecta). A 691 niños mayores de 6 meses se les efectuó un estudio serológico para Chagas, aproximadamente un 50% de ellos fueron niños que al nacimiento tuvieron un resultado negativo en el micrométodo en tubo capilar y el resto de niños cuyas madres eran positivas, pero no se les pudo practicar el estudio parasitológico al nacimiento. De

ellos, 62 tuvieron una serología positiva (8,9%). En estos casos positivos se confirmó la infección mediante una segunda prueba serológica (ELISA) y los niños fueron considerados como casos de chagas congénitos.

En este tema es necesario subrayar dos aspectos: por un lado la baja cobertura de recuperación de niños nacidos de madres seropositivas a nivel hospitalario, a los seis meses de vida (menos del 10% del total) y por otro lado una elevada tasa de detección de Chagas congénito por métodos serológicos (8.9%), esto refuerza la necesidad de cumplir con la estrategia de detección de Chagas congénito con pruebas parasitológicas al nacimiento y pruebas serológicas después de los 6 meses de vida.

Finalmente en la Tabla 3, se muestra que un 83% de los niños detectados con Chagas congénito han efectuado y concluido los 30 días de tratamiento con Benznidazol. Este dato se ha obtenido de uno de los centros donde mayores posibilidades de motivación a los padres de familia y seguimiento de los niños se tienen. Es importante señalar que la infección del recién nacido, con frecuencia asintomático y con una madre que ignora su propia infección, es difícilmente aceptada y requiere un trabajo de información y motivación a los padres o responsables del niño por parte del personal de salud. De los niños que cumplieron el tratamiento, 52 de ellos fueron evaluados en el postratamiento por serología observándose que todos ellos negativizaron las pruebas serológicas para Chagas.

Es más que necesario realizar una información adecuada de las embarazadas, una formación del personal de salud en consejería y también obtener la colaboración de todos los agentes de salud comunitarios. Con fondos de la cooperación se ha logrado la realización de talleres dirigidos a los profesores de todos los establecimientos educativos (enseñanza primaria y secundaria) en las regiones endémicas, y al personal de salud de los servicios involucrados.

En conclusión, la enfermedad de Chagas congénita se constituye en un importante problema de salud pública en los países de Latinoamérica donde la infección es endémica, pero también en los países en donde hay una fuerte migración proveniente de estos países. Dado que los métodos diagnósticos son de metodología simple y al alcance de la mayoría de los laboratorios, y el tratamiento altamente eficaz, es recomendable extender los programas de detección y tratamiento de Chagas congénito en todas las regiones afectadas. Para ello es necesario disponer de una estrategia bien estandarizada que básicamente debe contemplar: 1. a toda madre que vive o que proviene de una zona endémica para Chagas, hacerle un diagnóstico serológico en el momento del primer control del embarazo o en el momento de su admisión a la maternidad, 2. diagnóstico parasitológico de la infección en los recién nacidos de madres seropositivas, 3. tratamiento inmediato y seguimiento de los recién nacidos infectados, 4. extensión de la detección y el tratamiento de la infección a *T. cruzi* a los otros hijos de la madre infectada.

Agradecimientos

Al personal de salud de los 36 servicios de Salud (hospitales y centros de Salud) de los departamentos de Cochabamba, Chuquisaca y Tarija, sin cuyo esfuerzo y dedicación este trabajo de detección y tratamiento de los niños con Chagas congénito hubiera sido imposible.

Bibliografía

- Valente VC, Valente SA, Noireau F, Carrasco HJ, Miles MA. Chagas disease in the Amazon Basin: association of *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera: Reduviidae) with domestic pigs. *J Med Entomol* 1998;35:99-103.
- Hofflin JM, Sadler RH, Araujo FG, Page WE, Remington JS. Laboratory-acquired Chagas disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1987;81:437-40.

3. Carlier Y, Torrico F. Congenital infection with *Trypanosoma cruzi*: from mechanisms of transmission to strategies for diagnosis and control. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003;36:767-71.
4. Blanco SB, Segura EL, Cura EN, Chuit R, Tulian L, Flores I, et al. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi*: an operational outline for detecting and treating infected infants in north-western Argentina. *Trop Med Int Health* 2000;5:293-301.
5. Gurtler RE, Segura EL, Cohen JE. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* infection in Argentina. *Emerg Infect Dis* 2003;9:29-32.
6. Carlier Y, Pinto Dias JC, Luquetti A, Hontebeyrie-Joskowicz M, Torrico F, Truysens C. Trypanosomiasis américaine ou maladie de Chagas *Encycl Med Chir. Maladies infectieuses* 2002;8-505-A-20:21.
7. Torrico F, Alonso-Vega C, Suarez E, Rodriguez P, Torrico MC, Dramaix M, et al. Maternal *Trypanosoma cruzi* infection, pregnancy outcome, morbidity, and mortality of congenitally infected and non-infected newborns in Bolivia. *Am J Trop Med Hyg* 2004;70:201-9.
8. WHO. Control of Chagas disease. *Report of a WHO Expert Committee*. Geneva: WHO Technical report Series N° 905, 2002.
9. Organización Panamericana de la Salud (OPS/PAHO). Tratamiento etiológico de la enfermedad de Chagas: conclusiones de reunión de especialistas. *Rev Patol Trop* 1999; 28:247-79.
10. Brabin L. The epidemiological significance of Chagas' disease in women. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1992;87:73-9.
11. Freilij H, Altcheh J. Congenital Chagas' disease: diagnostic and clinical aspects. *Clin Infect Dis* 1995;21:551-5.
12. Moretti E, Basso B, Castro I, Carrizo PM, Chaul M, Barbieri G, et al. Chagas' disease: study of congenital transmission in cases of acute maternal infection. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005; 38:53-5.
13. Wilson LS, Strosberg AM, Barrio K. Cost-effectiveness of Chagas disease interventions in latin america and the Caribbean: Markov models. *Am J Trop Med Hyg* 2005;73:901-10.
14. Streiger M, Fabbro D, Del Barco M, Beltramino R, Bovero N. [Congenital Chagas disease in the city of Santa Fe. Diagnosis and treatment. *Medicina (B Aires)* 1995; 55:125-32.
15. Arancibia AM, Sagua H, Neira I, Gonzalez J, Varela H. Chagas disease in northern Chile. Serological prevalence in pregnant women of the city of Antofagasta, 1991-1993. *Bol Chil Parasitol* 1995;50:45-7.
16. Reiche EM, Morimoto HK, Farias GN, Hisatsugu KR, Geller L, Gomes AC, et al. Prevalence of American trypanosomiasis, syphilis, toxoplasmosis, rubella, hepatitis B, hepatitis C, human immunodeficiency virus infection, assayed through serological tests among pregnant patients, from 1996 to 1998, at the Regional University Hospital Norte do Parana. *Rev Soc Bras Med Trop* 2000;33:519-27.
17. Vaz AJ, EM Guerra, Ferratto LC, de Toledo LA, Azevedo Neto RS. Positive serology of syphilis, toxoplasmosis and Chagas' disease in pregnant women in their first visit to health centers in a metropolitan area, Brazil. *Rev Saude Publica* 1990;24:373-9.
18. Mendoza Ticona CA, Cordova BE, Ancca JJ, Saldana DJ, Torres CA, Velasquez TR, et al. The prevalence of Chagas' disease in puerperal women and congenital transmission in an endemic area of Peru. *Rev Panam Salud Publica* 2005;17:147-53.
19. Olivera MA, Guillen OF, Cruz VS, Hernandez-Becerril N, Perez GE, Cordova CG, et al. Serological and parasitological screening of *Trypanosoma cruzi* infection in mothers and newborns living in two chagasic areas of Mexico. *Arch Med Res* 2006;37:774-7.
20. Torrico F, Castro M, Solano M, Rodriguez P, Torrico MC, Truysens C, Y. Carlier. [Effects of maternal infection with *Trypanosoma cruzi* in pregnancy development and in the newborn infant]. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005;38 Suppl 2:73-76.
21. Schenone H, Gaggero M, Sapunar J, Contreras MC, Rojas A. Congenital Chagas disease of second generation in Santiago, Chile. Report of two cases. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2001;43:231-2.
22. Mijhdi A, Lambot MA, Stewart IJ, Detournay O, Noel JC, Carlier Y, Truysens C. Acute *Trypanosoma cruzi* infection in mouse induces infertility or placental parasite invasion and ischemic necrosis associated with massive fetal loss. *Am J Pathol* 2002;161:673-80.
23. Bittencourt AL. American trypanosomiasis (Chagas'diseases). En: McLeod C (ed.). *Parasitic infections in pregnancy and the newborn*. Oxford: Oxford University Press, 1988;62-86.
24. Bittencourt AL. Transmissao Vertical da Doença de Chagas. En: Brener Z, Andrade ZA, Barral-Netto M (eds.). *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2000;16-20.
25. Carlier Y, Rivera MT, Truysens C, Puissant F, Milaire J. Interactions between chronic murine *Trypanosoma cruzi* infection and pregnancy: fetal growth retardation. *Am J Trop Med Hyg* 1987;37:534-40.
26. Freilij HJ, Altcheh R, Storino. Chagas Congénito (capítulo 15). En: *Enfermedad de Chagas*. Buenos Aires: Doyma Argentina, Division Mosby, 1994;267-8.
27. Organización Panamericana de la Salud (OPS/PAHO). 2004. *Consultation de l'OPS sur la maladie de Chagas congénitale, son épidémiologie et son contrôle*. Organisation Panaméricaine de la Santé .
28. Barousse AP, Eposito MO, Mandel S, Martinez FS. Congenital Chagas' disease in a non-endemic area. *Medicina (B Aires)* 1978;38:611-6.
29. Bittencourt AL. Possible risk factors for vertical transmission of Chagas' disease. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1992;34:403-8.
30. Votta R, Marchese C, Sousa Martínez F, Lautrec L, González C, Arendt F, et al. La enfermedad de Chagas en la embarazada y el recién nacido. *Rev Soc Arg Ginec Obst (Bs As)* 1974; 53:56.
31. Fernandez-Aguilar S, Lambot MA, Torrico F, Alonso-Vega C, Cordoba M, Suarez E, et al. Las lesiones placentarias en la infección humana por *Trypanosoma cruzi*. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005;38 Suppl 2:84-6.
32. Jorg ME. The transmission of *Trypanosoma cruzi* via human milk. *Rev Soc Bras Med Trop* 1992; 25:83.
33. Contreras S, Fernandez MR, Aguero F, Desse DJ, Orduna T, Martino O. Congenital Chagas-Mazza disease in Salta, Argentina. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999;32:633-6.
34. Amato NV, Lopes MH, De Marchi CR, Silva MF. An attempt to detect *Trypanosoma cruzi* in the peripheral blood of patients with Chagas' disease, in chronic phase, using quantitative buffy coat (QBC). *Rev Soc Bras Med Trop* 1998;31:231-3.
35. Arteaga-Fernandez E, Pereira Barretto AC, Ianni BM, Vianna CB, Mady C, Bellotti G, Pileggi F. Incidence of congenital transmission of Chagas' disease. *Arq Bras Cardiol* 1987;49:47-9.
36. Bittencourt AL. Congenital Chagas disease as a public health problem. *Ann Soc Belg Med Trop* 1985;65 Suppl 1:103-6.
37. Medina Lopes M.das D. Transmissão materno-Infantil da doença de Chagas : incidência da forma congênita e da adquirida durante aleitamento. *Rev Soc Bras Med Trop* 1992;25:99.
38. Mota C. d. CC. Significado diagnóstico e conduta na doença de Chagas congênita. *Rev Soc Bras Med Trop* 1993;26:76-8.
39. Lorca M, Gonzalez A, Reyes V, Veloso C, Vergara U, Frasch C. The diagnosis of chronic Chagas disease using recombinant antigens of *Trypanosoma cruzi*. *Rev Med Chil* 1993; 121:363-8.
40. Azogue E, La Fuente C, Darras C. Congenital Chagas' disease in Bolivia: epidemiological aspects and pathological findings. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1985;79:176-80.
41. Basombrio MA, Nasser J, Segura MA, Marco D, Sanchez NO, Padilla M, Mora MC. The transmission de Chagas disease in Salta and the detection of congenital cases. *Medicina (B Aires)* 1999;59 Suppl 2:143-6.
42. Sanchez NO, Mora MC, Basombrio MA. High prevalence of congenital *Trypanosoma cruzi* infection and family clustering in Salta, Argentina. *Pediatrics* 115:e-68-e672.
43. de Andrade AL, Zicker F, Martelli CM. An epidemiological approach to study congenital Chagas' disease. *Cad Saude Publica* 1994;10 Suppl 2:345-51.
44. Hermann E, Truysens C, Alonso-Vega C, Rodriguez P, Berthe A, Torrico F, Carlier Y. 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* 2004;189:1274-81.
45. Bittencourt AL, Sadigursky M, Da Silva AA, Menezes CA, Marianetti MM, Guerra SC, Sherlock I. Evaluation of Chagas' disease transmission through breast-feeding. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1988;83:37-9.
46. Virreira M, Alonso-Vega C, Solano M, Jijena J, Brutus L, Bustamante Z, Schneider D, Torrico F, Carlier Y, Svoboda M. Congenital Chagas disease in Bolivia is not associated with DNA polymorphism of *Trypanosoma cruzi*. *Am J Trop Med Hyg* (en prensa).

47. Hermann E, Truyens C, Alonso-Vega C, Even J, Rodriguez P, Berthe A, *et al.* Human fetuses are able to mount an adultlike CD8 T-cell response. *Blood* 2002;100:2153-8.
48. Vekemans J, Truyens C, Torrico F, Solano M, Torrico MC, Rodriguez P, *et al.* Maternal *Trypanosoma cruzi* infection upregulates capacity of uninfected neonate cells To produce pro- and anti-inflammatory cytokines. *Infect Immun* 2000;68:5430-4.
49. Atias A. A case of congenital chagasic megaesophagus: evolution until death caused by esophageal neoplasm, at 27 years of age. *Rev Med Chil* 1994;122:319-22.
50. Atias A, Morales M, Munoz P, Barria M. Ocular involvement in congenital Chagas' disease. *Rev Chil Pediatr* 1985;56:137-41.
51. Azogue E, Darras C. Congenital Chagas in Bolivia: comparative study of the effectiveness and cost of diagnostic methods. *Rev Soc Bras Med Trop* 1995;28:39-43.
52. Pehrson PO, Wahlgren M, Bengtsson E. Intracranial calcifications probably due to congenital Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg* 1982;31:449-51.
53. de Almeida MA, Barbosa HS. Congenital Chagas megacolon. Report of a case. *Rev Soc Bras Med Trop* 1986;19:167-9.
54. Zaidenberg M. Congenital Chagas' disease in the province of Salta, Argentina, from 1980 to 1997. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999;32:689-95.
55. Moya PR, Paolasso RD, Blanco S, Lapasset M, Sanmartino C, Basso B, *et al.* Treatment of Chagas' disease with nifurtimox during the first months of life. *Medicina (B Aires)* 1985;45:553-8.
56. Freilij H, Muller L, Gonzalez Cappa SM. Direct micromethod for diagnosis of acute and congenital Chagas' disease. *J Clin Microbiol* 1983;18:327-30.
57. Freilij HL, Corral RS, Katzin AM, Grinstein S. Antigenuria in infants with acute and congenital Chagas' disease. *J Clin Microbiol* 1987;25:133-7.
58. Rassi A, Rassi A Jr, Rassi GG. Capitulo: Fase Aguda. En Brenner Z, Andrade ZA, Barral-Netto M (eds.). *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2000;231-45.
59. Torrico MC, Solano M, Guzman JM, Parrado R, Suarez E, Alonso-Vega C, Truyens C, Carlier Y, Torrico F. Estimación de la parasitemia en la infección humana por *Trypanosoma cruzi*: Las altas parasitemias estan asociadas con la severa y fatal enfermedad de Chagas congénito. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005;38 Suppl 2:58-61.
60. Reiche EM, Inouye MM, Bonametti AM, Jankevicius JV. Congenital Chagas Disease: epidemiology, laboratorial diagnosis, prognosis and treatment. *J Pediatr (Rio J.)* 1996; 72:125-32.
61. Schijman AG, Altcheh J, Burgos JM, Biancardi M, Bisio M, Levin MJ, Freilij H. Aetiological treatment of congenital Chagas' disease diagnosed and monitored by the polymerase chain reaction. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:441-9.
62. La Fuente C, Saucedo E, Urjel R. The use of microhaematocrit tubes for the rapid diagnosis of Chagas disease and malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1984;78:278-9.
63. Bittencourt AL, Vieira GO, Tavares HC, Mota E, Maguire J. Esophageal involvement in congenital Chagas' disease. Report of a case with megaesophagus. *Am J Trop Med Hyg* 1984; 33:30-3.
64. Hoff R, Mott KE, Milanesi ML, Bittencourt AL, Barbosa HS. Congenital Chagas's disease in an urban population: investigation of infected twins. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1978; 72:247-50.
65. Lorca M, Veloso C, Munoz P, Bahamonde MI, Garcia A. Diagnostic value of detecting specific IgA and IgM with recombinant *Trypanosoma cruzi* antigens in congenital Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg* 1995;52:512-5.
66. Primavera KS, Umezawa ES, Peres BA, Camargo ME, Hoshino-Shimizu S. Chagas'disease: IgA, IgM and IgG antibodies to *T. cruzi* amastigote, trypomastigote and epimastigote antigens in acute and in different chronic forms of the disease. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1990;32:172-80.
67. Russomando G, de Tomassone MM, G de I, Acosta N, Vera N, Almiron M, *et al.* Treatment of congenital Chagas' disease diagnosed and followed up by the polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg* 1998;59:487-91.
68. Vieira GO, Maguire J, Bittencourt AL, Fontes JA. Congenital Chagas' disease. Report of a case with cerebral palsy. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1983;25:305-9.
69. Peralta JM, Magalhaes TC, Abreu L, Manigot DA, Luquetti A, Dias JC. The direct agglutination test for chronic Chagas's disease. The effect of pre-treatment of test samples with 2-mercaptoethanol. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg* 1981; 75:695-698.
70. Szarfman A, Urman J, Otalora A, Larguia A, Yanovsky JF. Specific agglutinins and immunoglobulin levels in congenital Chagas infection. *Medicina (B Aires)* 1975;35:245-50.
71. Szarfman A, Cossio PM, Arana RM, Urman J, Kreutzer E, Laguens RP, *et al.* Immunologic and immunopathologic studies in congenital Chagas' disease. *Clin Immunol Immunopathol* 1975;4:489-99.
72. Magnani MA, Ferriolli FF, de Siqueira AF. Specific immunoglobulins (IgA, IgG, and IgM) in serum of patients with chronic Chagas' disease analyzed by indirect immunofluorescence reactions. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1973;15:72-5.
73. Di Pentima MC, Edwards MS. Enzyme-linked immunosorbent assay for IgA antibodies to *Trypanosoma cruzi* in congenital infection. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60:211-214.
74. Sa Ferreira JA, Galvao-Castro B, Macedo W, Castro C. Immunoglobulins and other serological parameters in Chagas' disease: evidence for increased IgA levels in the chronic digestive form. *Clin Exp Immunol* 1983;52:266-70.
75. Britto C, Cardoso A, Silveira C, Macedo V, Fernandes O. Polymerase chain reaction (PCR) as a laboratory tool for the evaluation of the parasitological cure in Chagas disease after specific treatment. *Medicina (B Aires)* 1999;59 Suppl 2:176-8.
76. Diez C, Manattini S, Imaz MS, Zanuttini JC, Marcipart A. PCR (polymerase chain reaction) in neonatal Chagas disease. An alternative for its early diagnosis?. *Medicina (B Aires)* 1998;58:436-7.
77. Solari A, Ortiz S, Soto A, Arancibia C, Campillay R, Contreras M, *et al.* Treatment of *Trypanosoma cruzi*-infected children with nifurtimox: a 3 year follow-up by PCR. *J Antimicrob Chemother* 2001;48:515-9.
78. Solari A, Contreras MC, Lorca M, Garcia A, Salinas P, Ortiz S, *et al.* Yield of xenodiagnosis and PCR in the evaluation of specific chemotherapy of Chagas' disease in children. *Bol Chil Parasitol* 1998;53:27-30.
79. Virreira M, Torrico F, Truyens C, Alonso-Vega C, Solano M, Carlier Y, Svoboda M. Comparison of polymerase chain reaction methods for reliable and easy detection of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg* 2003;68:574-82.
80. Luquetti AO. Etiological treatment for Chagas Disease. *Parasitol Today* 1997;13:127-8.
81. Rassi A, Luquetti AO. Chapter: Therapy of Chagas' disease. En: Wendel S, Brenner Z, Camargo ME, Rassi A (eds.). *Chagas' disease (American trypanosomiasis): its impact on transfusion and clinical medicine*. Sao Paulo: ISBT Brazil'92 - SBHH (Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia), 1992;237-48.
82. Torrico F, Vega CA, Suarez E, Tellez T, Brutus L, Rodriguez P, *et al.* Are maternal re-infections with *Trypanosoma cruzi* associated with higher morbidity and mortality of congenital Chagas disease? *Trop Med Int Health* 2006;11:628-35.