

Enfermedad de Chagas congénita: del laboratorio a la salud pública

Yves Carlier

Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Médecine, Université Libre de Bruxelles (ULB)

Correspondencia:

Yves Carlier

Laboratoire de Parasitologie
Faculté de Médecine

Université Libre de Bruxelles (ULB)

CP 616 Route de Lennik, 808

1070 Bruxelles, Belgique

E-mail: ycarlier@ulb.ac.be

Resumen

Trypanosoma cruzi, el protozoario agente de la enfermedad Chagas, puede ser transmitido de la madre a su feto. La incidencia de esta infección congénita es estimada, como mínimo, a 15000 casos por año en América Latina. Su incidencia en los países no endémicos (USA, Europa, Japón) no es conocida. Gracias a estudios multidisciplinarios realizados en Bolivia, ha sido posible especificar las características epidemiológicas y clínicas de la enfermedad de Chagas congénita. La vía transplacentaria, y el papel de algunos factores parasitarios (genotipo y carga parasitaria) o del huésped (capacidad de respuesta inmune de las gestantes y fetos/recién-nacidos, particularmente la generación de células T CD8 citotóxicas y productoras de IFN- γ), implicados en la transmisión materno-fetal de la infección y/o el desarrollo de la enfermedad de Chagas congénita han sido igualmente estudiados. El conjunto de esos datos permitió desarrollar una estrategia de control de la infección congénita, validada por la OMS y aplicada en diferentes países latino-americanos.

Palabras claves: *Trypanosoma cruzi*. Enfermedad de Chagas congénita. Relaciones materno-fetales. Placenta. Respuestas inmunes maternas y fetales. Genotipaje.

Summary

Trypanosoma cruzi, the protozoan agent of Chagas disease can be transmitted from mother to foetus. The incidence of congenital infection is estimated to be at least 15000 cases per year in Latin-America. Its incidence in the non endemic countries (USA, Europe, Japan) is not known. Thanks to multidisciplinary studies performed in Bolivia it has been possible to specify the epidemiologic and clinical features of congenital Chagas disease. The transplacental route, as well as the role of some parasitic (genotype and parasitic charge) or host factors (capacity of maternal and fetal/neonatal immune responses, particularly the generation of CD8 T cells with cytotoxic and IFN- γ -producing capacities) involved in the mother-to-fetus transmission of infection and/or the development of congenital Chagas disease have also been studied. Altogether, these data have allowed the development of a strategy to control *T. cruzi* congenital infection, which has been validated by WHO and is applied in various Latin American countries.

Key words: *Trypanosoma cruzi*. Congenital Chagas disease. Materno-fetal relationships. Placenta. Maternal and fetal immune responses. Genotyping.

Infección por *trypanosoma cruzi* y enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas es debida al parásito protozoario *Trypanosoma cruzi* que se presenta, en el hombre, bajo una forma extracelular, el tripomastigote, susceptible de propagarse por todo el organismo, y una forma intracelular, el amastigote, que permite la división del parásito. Esta infección se localiza

principalmente en América Latina. Los datos de la OMS permiten estimar en 108 millones el número de personas con riesgo de infección en las zonas endémicas, concierne 18 países. Se estima que 15 millones de personas están infectadas por *T. cruzi*, con una incidencia de 41200 casos/año. Dos a tres millones de personas infectadas sufren formas cardíacas y digestivas de la enfermedad crónica. La enfermedad de Chagas sería responsable de 12500 muertes/año. El parásito puede ser transmitido por el intermedio de insectos vectores (Hemípteros reduvidos). Este modo de transmisión está actualmente en regresión debido al éxito de los programas de lucha antivectorial desarrollados en muchos de los países endémicos. Un segundo modo de transmisión es la transfusión sanguínea, también en disminución a causa de los controles instituidos en los bancos de sangre. Un tercer modo de transmisión, que se hace relativamente cada vez más importante a causa de la regresión de los otros dos modos precedentes, es la transmisión materno-fetal^{1,2}. Los factores y mecanismos involucrados en este modo de transmisión, así como los que permiten el desarrollo de la infección en los fetos y recién nacidos, son poco conocidos.

Prevalencia de la infección en gestantes e incidencia de la infección congénita por *T. cruzi*

Los datos recientes de la OMS (2006) muestran que hay por lo menos 2 millones de mujeres en edad fértil infectadas por *T. cruzi* en América Latina. El nivel de transmisión materno-fetal varía entre 0,1 y 12% y la incidencia en los recién nacidos infectados se estima al menos en 15000 casos/año. Los datos epidemiológicos recolectados por nuestro grupo durante las encuestas realizadas en los departamentos de Cochabamba, Tarija y Chuquisaca (Bolivia), muestran, según las regiones, una prevalencia de la infección en las gestantes entre 15 y 40%, con un nivel de transmisión materno-fetal entre 2,3 y 5,9%, o sea, cerca de 2.700 casos/año en Bolivia^{2,3}. La infección congénita se puede repetir en cada embarazo, y se ha observado agrupación familiar de los casos congénitos. Esta transmisión puede igualmente ocurrir de una generación a otra. Estos elementos indican que la infección por *T. cruzi* es un importante problema de salud pública que puede fácilmente extenderse en el tiempo y en el espacio (por la migración de mujeres infectadas a regiones no endémicas^{4,5}).

Morbi-mortalidad de la enfermedad Chagas congénita

El marco clínico de la infección en los recién-nacidos bolivianos infectados muestra un alto porcentaje de niños

prematurados (17%) y bajo peso al nacer (27%) de los niños afectados. Dieciocho por ciento de los recién nacidos presentaban igualmente pruebas de Apgar < 7. Los principales signos clínicos encontrados fueron: distrés respiratorio (25% de los recién nacidos), hepato-esplenomegalia, y, más raramente, signos neurológicos o cardiomegalia, incluso un cuadro de anasarca. La aparición de por lo menos un signo clínico fue observado en 47% de los recién nacidos y la asociación de signos severos en cerca de 27% de ellos, con una mortalidad cercana al 10% en las primeras 48h después del nacimiento³. Esto muestra que, si la morbi-mortalidad de esta infección puede ser importante, los síntomas no están siempre presentes, y, cuando lo están, no son específicos de la enfermedad de Chagas congénita, sino comunes a las otras infecciones neonatales del grupo TORCH, indicando la necesidad de utilizar un test biológico para el diagnóstico de esta infección².

Factores y mecanismos implicados en la infección congénita por *T. Cruzii*

Hemos desarrollado estudios para tratar de entender mejor los mecanismos de la infección congénita por *T. cruzi* y, eventualmente, identificar marcadores de interés para el diagnóstico o la identificación de los grupos de riesgo. Los principales actores de la infección congénita son el parásito (¿tienen un papel el genotipo y/o la carga parasitaria?), la madre (¿porqué algunas madres transmiten parásitos y otras no?), la placenta (¿cuál es el papel de las defensas trofoblásticas?), y el feto (¿es capaz de una respuesta inmune a pesar del contexto de inmadurez inmunológica en esta fase precoz de la vida?).

Parásitos e infección congénita

La distribución de los genotipos de los parásitos que infectaron a los recién nacidos bolivianos examinados fue similar a la observada en la población de la región, indicando probablemente que no hay una asociación entre el genotipo parasitario (por lo menos para el linaje TCII que circula en esta región), la transmisión materno-fetal (diferentes sub-linajes de *T. cruzi* pueden inducir infección congénita), las parasitemias y la morbi-mortalidad de la enfermedad congénita⁶. Las parasitemias neonatales varían de 1 a 55000 parásitos/mL (PCR cuantitativa en la sangre del cordón umbilical), con 85% de los casos presentando parasitemias >100 parásitos/mL y 76% de entre ellos parasitemias >1.000 parásitos/mL⁷. La carga parasitaria de los recién nacidos condicionaron la morbi-mortalidad de la enfermedad de Chagas congénita, encontrándose las parasitemias más altas en los casos severos y mortales.

Infección materna y transmisión congénita de *T. cruzi*

Las madres que transmiten el parásito a sus fetos presentaban una frecuencia más alta de hemocultivos positivos que las madres que no transmitían el parásito⁸, indicando que una parasitemia importante es una condición necesaria, pero no suficiente para una transmisión congénita. Esta observación nos llevó a comparar la respuesta inmune de esos dos grupos de madres. El estudio de la respuesta celular T específica del parásito reveló esencialmente una menor capacidad de las madres transmisoras en producir IFN- γ , que persiste después del parto. Las madres que transmitían parásitos a sus fetos mostraron una capacidad más débil para desarrollar una respuesta inmunitaria adaptativa de tipo Th1⁸.

Placenta y transmisión congénita de *T. cruzi*

Procedimos igualmente a un estudio histopatológico de placentas de los casos de transmisión vertical, en comparación con los otros grupos control. Las placentas de los casos congénitos mostraban frecuentemente lesiones de tipo corionitis, corioamniotitis y funiculitis, infiltrados de células polimorfonucleares y de linfocitos. Estas últimas células nunca se encontraron en las lesiones observadas de los grupos control. La gran frecuencia de lesiones de tipo corioamniotitis puede estar relacionada con las frecuentes rupturas prematuras de membranas en el grupo de transmisión congénita³. El estudio de los parásitos en las placentas de los casos congénitos mostró la presencia de éstos en los fibroblastos o los macrófagos del corion y de la placa coriónica, con una frecuencia de 100 % en la zona marginal donde las membranas se unen a la placa coriónica, y en la gelatina de Wharton y los miocitos de los vasos del cordón umbilical. Los parásitos pudieron igualmente ser observados, en menor medida, en el trofoblasto extra-veloso y en las células amnióticas, mientras que nunca se encontraron en el trofoblasto vellositario. Estos elementos sugieren que los parásitos entran en el corion a nivel del sinus marginal donde el tapiz trofoblástico es incompleto (zona sensible recubierta de fibrina), y que el trofoblasto es un factor que limita la invasión parasitaria. La propagación parasitaria sobreviene a través de infecciones sucesivas de fibroblastos y de macrófagos que liberan tripomastigotes móviles. Los parásitos pueden entrar luego en los vasos fetales que se encuentran en la placa coriónica y en el cordón umbilical, induciendo entonces una infección fetal por vía hematogena. Los estudios de líquido amniótico (PCR) han mostrado raramente la presencia de trazas de ADN parasitario, indicando que una transmisión por vía digestiva a nivel del feto es improbable y que el análisis de esos líquidos no aporta elementos diagnósticos significativos⁹.

Respuesta inmune fetal/neonatal y enfermedad de Chagas congénita

Anticuerpos IgM y IgA específicos para *T. cruzi* (respuesta fetal linfocitaria B) han sido encontrados tanto en la sangre del cordón umbilical del grupo de niños infectados como en los recién nacidos no infectados de madres infectadas. Eso indica que la detección de esos anticuerpos (no transmitidos por la madre) no se puede usar para el diagnóstico de la infección congénita por *T. cruzi*. La exploración de la respuesta linfocitaria T de los recién nacidos ha mostrado una activación de las células T CD8 en el grupo de los recién nacidos infectados (expresión de membrana de los marcadores HLA-DR y CD45RO). La especificidad de esta respuesta ha sido claramente demostrada por ELISPOT, las células T, y particularmente T CD8 de estos recién nacidos, produciendo IFN- γ en respuesta al parásito. No se produjeron otras citocinas tales como la IL-4 o la IL-13, indicando una respuesta polarizada hacia el tipo 1. Las células T CD8 del grupo infectado contenían frecuentemente perforina intracelular y exprimían en su superficie FasL, demostrando así su capacidad citotóxica. Los fetos y recién nacidos infectados son entonces capaces de superar su inmadurez inmunológica para desarrollar una respuesta inmune específica contra el parásito implicando células T CD-8 citotóxicas y produciendo IFN- γ ¹⁰. Se notó una relación inversa entre la parasitemia en estos recién nacidos y su respectiva capacidad de producir específicamente IFN- γ , indicando que la respuesta inmune específica de estos fetos/reциen nacidos era capaz de controlar la multiplicación parasitaria y que la enfermedad de Chagas congénita (sintomática) resultaba de una reducción de su capacidad para desarrollar esta respuesta.

Diagnóstico biológico de la infección congénita por *T. cruzi*

La detección de la infección en las gestantes está basada en la detección de anticuerpos con pruebas serológicas estándar (hemaglutinación indirecta, inmunofluorescencia o ELISA), o prueba de diagnóstico rápido (inmunocromatografía). La detección de la infección en los recién nacidos requiere la detección de los parásitos vivos en la sangre del cordón umbilical, o venoso tomado después del nacimiento. La técnica de elección consiste en concentrar los parásitos de la sangre por centrifugación en tubos capilares (de microhematocrito). La sensibilidad de esta prueba es de 10 a 40 parásitos/mL, permitiendo la detección de 92% de los casos de infección por *T. cruzi*⁸. La PCR, reservada a los centros especializados (utilizando por ejemplo las sondas de ADNn Tcz1/Tcz2 que dan una banda a 200 pb, o de ADNk Tc121/Tc122 con una banda de 320 pb), presenta

una sensibilidad de 1 parásito/mL¹¹. Si la detección no se pudo hacer al nacimiento, o si las pruebas son negativas en un niño nacido de madre infectada, hay que hacer una prueba serológica estándar 8 meses después del nacimiento, cuando los anticuerpos transmitidos por la madre ya han desaparecido.

Tratamiento de la infección congénita por *T. cruzi*

Siguiendo las recomendaciones de la OMS, el tratamiento de los casos de infección congénita debe empezar inmediatamente después del diagnóstico. Los dos fármacos tripanocidas disponibles son el benznidazol y el nifurtimox, y deben administrarse durante 1-2 meses. Actualmente no existen formulaciones pediátricas de estos fármacos. Es necesario realizar suspensiones de estas medicinas y adaptar la cantidad en relación al peso del niño. Un excelente contacto con la familia es imperativo para explicar bien el tratamiento y evitar la sobredosificación. Cuando el tratamiento es administrado correctamente, no se observan efectos secundarios, al contrario de lo que se observa en adultos, y la eficacia terapéutica es prácticamente del 100% si el tratamiento se inicia durante el primer año de vida².

Estrategia de control de la infección congénita por *T. cruzi*

Teniendo en cuenta la importancia en salud pública de la infección congénita por *T. cruzi*, es absolutamente necesario desarrollar una estrategia de control, por lo menos en los países endémicos. Durante el embarazo, el cribado prenatal sólo permite la detección de madres infectadas. No hay actualmente manera de identificar a las madres que transmiten el parásito a sus fetos. Tampoco es posible una prevención directa en gestantes a fin de evitar la transmisión materno-fetal. Existe un consenso para desaconsejar categóricamente el tratamiento de las mujeres embarazadas: el riesgo teratogénico de los dos fármacos tripanocidas actualmente disponibles no es conocido; su eficacia en la forma crónica de la enfermedad (que es el caso de la mayoría de las gestantes) es débil e inducen frecuentemente efectos secundarios en el adulto². La única posibilidad que queda es la detección precoz de la infección congénita en los recién nacidos de madres infectadas (búsqueda sistemática de parásitos en la sangre al nacimiento, serología sistemática después de 8 meses de edad en bebés que han mostrado resultados negativos al nacimiento), y el tratamiento sistemático de los casos positivos y el seguimiento pediátrico regular.

Hacia una continentalización de la estrategia de control de la infección congénita por *T. cruzi*

Los estudios multidisciplinarios mencionados arriba (iniciados desde 1997) han permitido desarrollar una estrategia de control de la infección congénita por *T. cruzi* que fue aplicada con éxito en la principal maternidad de la ciudad de Cochabamba en Bolivia (Cooperación Universitaria Belga ULB/Universidad Mayor de San Simón-UMSS). Ésta ha sido después extendida a los departamentos bolivianos de Cochabamba, Tarija y Chuquisaca (Cooperación ULB/UMSS/Ministerio Boliviano de la Salud, gracias a programas de la Cooperación Belga). En 2002, se organizó, en colaboración con nuestros colegas bolivianos en Cochabamba (Bolivia), una primera reunión internacional sobre la infección congénita por *T. cruzi* ("Congenital infection with *Trypanosoma cruzi*: from mechanisms of transmission to strategies for diagnosis and control") que permitió destacar la necesidad de un consenso internacional sobre la estrategia de control a aplicar. En 2004, la Organización Panamericana de Salud (OPS/OMS), con apoyo de los programas de Cooperación Belga y Francés, organizó en Montevideo (Uruguay), una segunda reunión internacional ("Congenital Chagas disease: epidemiology and management of cases"). En esta reunión, se reconoció la enfermedad de Chagas congénita como un problema de Salud Pública en América Latina, se convalidó la estrategia de control definida previamente en la reunión de Cochabamba, y se solicitó la introducción de esta estrategia en la legislación sanitaria de todos los países americanos (<http://www.paho.org/English/AD/DPC/CD/dch-chagas-congenita-2004.htm>). En 2006, en Bolivia, la estrategia de control fue extendida a los departamentos de Santa Cruz, Potosí, La Paz, e introducida por un decreto ley en el sistema nacional de seguridad social materno-infantil. En Brasil, Chile, Perú y México, se han realizado nuevas investigaciones sobre la transmisión congénita. En mayo 2007 fue organizada por la OPS/OMS (Montevideo, Uruguay) la tercera reunión internacional ("Information, Education and Communication in congenital Chagas disease"), destacándose la importancia de la educación sanitaria para mejorar la atención de las mujeres infectadas y sus hijos. En julio 2007, la OMS en Ginebra realizó una reunión sobre: "Revisiting Chagas disease: from a Latin-American health perspective to a global health perspective", tomando en consideración la mundialización de la enfermedad de Chagas y la necesidad de extender la estrategia de control de la infección congénita por *T. cruzi* también a los países no endémicos.

Agradecimientos

Estos trabajos pudieron realizarse gracias a una estrecha colaboración entre los equipos de la Facultad

Medicina de la UMSS (Cochabamba, Bolivia) dirigido por Faustino Torrico (con la ayuda de Cristina Alonso-Vega, Marisol Córdoba, Amilcar Flores, Miguel Guzmán, Myriam Wanca, Rudy Parado, Patricia Rodríguez, Marco Solano, Eduardo Suárez, Tatiana Tellez, Mary-Cruz Torrico), y del Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina de la ULB (con Carine Truyens, Emanuel Hermann, Aurélie Berthe e Yves Carlier). Participaron también en estos estudios el Laboratorio de Bioquímica de la ULB (Myrna Virreira, Michal Svoboda) y el Laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital Erasme ULB (Marie-Alexandra Lambot, Sergio Fernández-Aguilar y Jean-Christophe Noël).

Bibliografía

1. Carlier Y, Pinto Dias JC, Luquetti A, Hontebeyrie M, Torrico F, Truyens C. Trypanosomiase américaine ou maladie de Chagas, *Encycl Méd Chir* (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris) *Maladies Infectieuses*, 2002;8-505-A-20,21p.
2. Carlier Y, Torrico F. Congenital infection with *Trypanosoma cruzi*: from mechanisms of transmission to strategies for diagnosis and control. *Rev. Soc. Brasil. Med Trop* 2003;6:767-71.
3. Torrico F, Alonso-Vega C, Suarez E, Rodriguez P, Torrico MC, Dramaix M, Truyens C, Carlier Y. 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.
4. Buekens P, Almendares O, Carlier Y, Dumonteil E, Eberhard M, Gamboa-Leon R, James M, Padilla N, Wesson D, Xiong X. Mother-to-child transmission of Chagas disease in North America: Why don't we do more? *Matern. Child. Health J.* 2007; DOI 10.1007/s10995-007-0246-8.
5. Lesclure FX, Canestri A, Melliez H, Jaureguiberry S, Develoux M, Dorent R, Guiard-Schmid JB, Bonnard P, Ajana F, Rolla V, Carlier Y, Danis M, Pialoux G. Chagas disease: an emerging threat in Europe? A report of nine recent cases in France and review of the literature. *Emerg. Inf. Dis.* 2007, in press.
6. Virreira M, Alonso Vega C, Solano M, Jijena J, Brutus L, Bustamente Z, Truyens C, 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* 2006;75:871-9.
7. Virreira M, Alonso Vega C, Jijena J, Brutus L, Truyens C, Torrico F, Carlier Y, Svoboda M. Comparison of *Trypanosoma cruzi* lineages and levels of parasitic DNA in infected mothers and newborns. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;77:102-7.
8. Hermann E, Truyens 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 IFN- γ production to parasite antigens. *J Inf Dis* 2004;189:1274-81.
9. Virreira M, Torrico F, Truyens C, Alonso Vega C, Solano M, Carlier Y, Svoboda M. Comparison of PCR methods for reliable and easy detection of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg* 2003;68:574-82.
10. Hermann E, Truyens C, Alonso-Vega C, Even J, Rodriguez P, Berthe A, Gonzalez-Merino E, Torrico F, Carlier Y. Human fetuses are able to mount an adult-like CD8 T-cell response. *Blood* 2002;100:2153-8.
11. Virreira M, Martinez Hevia S, Alonso Vega C, Torrico F, Solano M, Torrico MC, Truyens C, Carlier Y, Svoboda M. Amniotic fluid is not useful for diagnosis of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg* 2006;75:1082-4.