



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

favet

**ESTUDIO RETROSPECTIVO DE LA INFECCIÓN CONGÉNITA
POR *Trypanosoma cruzi* EN EMBARAZADAS DE LA PROVINCIA
DEL CHOAPA DERIVADAS POR PREMATURIDAD**

FELIPE MIERES ARAYA

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario

Departamento de Medicina Preventiva
Animal

PROFESOR GUÍA: WERNER APT BARUCH

SANTIAGO, CHILE

2012



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



**ESTUDIO RETROSPECTIVO DE LA INFECCIÓN CONGÉNITA
POR *Trypanosoma cruzi* EN EMBARAZADAS DE LA PROVINCIA
DEL CHOAPA DERIVADAS POR PREMATURIDAD**

FELIPE MIERES ARAYA

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario

Departamento de Medicina Preventiva
Animal

NOTA

FIRMA

PROFESOR GUÍA: WERNER APT BARUCH

.....

PROFESOR CONSEJERO: FERNANDO FREDES

.....

PROFESOR CONSEJERO: MARIANA ACUÑA

.....

SANTIAGO, CHILE

2012

Quisiera agradecer a los funcionarios de los Hospitales de Los Vilos, Salamanca, Illapel y el consultorio de Canela por su ayuda desinteresada en la búsqueda de la información para esta memoria, en especial a la Sra. Gabriela Corrales del Hospital de Illapel; A mis Padres por permitirme estudiar con la única preocupación de esforzarme y lograr buenos resultados durante la carrera, gracias por su formación y por ayudarme a ser una persona crítica y perseverante.

También Deseo Agradecer al Laboratorio de Parasitología Básico Clínico de la Fac. de Medicina de la Universidad de Chile, Gracias por la paciencia y la ayuda en momentos en que lo necesite, en especial por su comprensión.

A Dulce Jania Encinas Bejarano: el color rojo de mis últimos 9 años, mi niña amante de los libros, gracias por presionarme y regañarme en los momentos en que fue necesario, siempre con cariño y pensando en mi bien, además de disfrutar el corregir mis redacciones cada vez que fue necesario. Ya fue tu turno, ahora me toca a mí.

Felipe Andrés Mieres Araya

ÍNDICE

	Página
RESUMEN.....	6
SUMMARY.....	8
I. INTRODUCCIÓN.....	10
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	12
A) Generalidades de <i>T.cruzi</i>	12
B) Infección Congénita por <i>T. cruzi</i>	13
a. Definición.....	13
b. Aspectos epidemiológicos.....	14
i. Epidemiología y globalización de la infección congénita.....	14
ii. Características específicas.....	15
c. Rol de la placenta en la infección congénita.....	16
i. Respuesta inmune innata.....	16
ii. Efectos en la placenta por la invasión de <i>T. cruzi</i>	16
d. Vías de transmisión congénita.....	17
i. Vía hematogena trasplacental.....	17
ii. Otras vías de trasmisión materno-fetal.....	19
iii. Momento de la transmisión congénita.....	20
e. Factores involucrados en la transmisión congénita.....	21
i. Genotipo de <i>T.cruzi</i>	21

ii. Carga parasitaria de la madre.....	21
iii. Inmunidad materna y otros factores relacionados.....	22
iv. Respuesta inmune del feto y el neonato.....	23
f. Manifestaciones clínicas de la enfermedad de Chagas congénita.....	24
i. Manifestaciones clínicas.....	24
ii. Tasa de letalidad.....	25
iii. Consecuencias de la infección congénita.....	25
g. Diagnóstico de la infección congénita.....	26
i. Detección de la infección en la madre.....	26
ii. Detección de la infección fetal <i>in útero</i>	26
iii. Detección de la infección en el período neonatal.....	27
iv. Detección de infección congénita en el lactante.....	29
h. Tratamiento	30
III. HIPÓTESIS.....	31
IV. OBJETIVO GENERAL.....	31
V. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
A) Grupo de estudio y control.....	32
B) Revisión de fichas clínicas.....	32
C) Obtención de muestras biológicas.....	32
D) Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta.....	33
E) Reacción de ELISA.....	33

F) Técnica de PCR.....	33
G) Análisis Estadístico.....	34
VII. RESULTADOS.....	36
A) Grupo de Estudio.....	36
a. Madres.....	36
b. Hijos.....	37
B) Revisión de Fichas Clínicas.....	38
VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	43
IX. DISCUSIÓN.....	45
X. CONCLUSIONES.....	49
XI. BIBLIOGRAFÍA.....	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.....40

Peso al Nacimiento (Kg) de 143 niños prematuros, nacidos en el Hospital de La Serena (2005 – 2009).

Figura 2.....41

Altura al Nacimiento (Cm) de 143 niños prematuros, nacidos en el Hospital de La Serena (2005 – 2009).

Figura 3.....42

Alteraciones Patológicas al Nacimiento en 143 niños prematuros, nacidos en el Hospital de La Serena (2005 – 2009).

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	36
SITUACIÓN SEROLÓGICA DE 132 MUJERES DE LA PROVINCIA DEL CHOAPA, DERIVADAS POR PREMATURIDAD AL HOSPITAL DE LA SERENA, RESPECTO A LA INFECCIÓN POR <i>T.cruzi</i> (2005 – 2009).	
Tabla 2	37
SITUACIÓN SEROLOGICA DE 143 NIÑOS PREMATUROS DE LA PROVINCIA DEL CHOAPA, NACIDOS EN EL HOSPITAL DE LA SERENA, RESPECTO A LA INFECCIÓN POR <i>T. cruzi</i> (2005 – 2009).	
Tabla 3	38
PUNTAJES EN LA ESCALA APGAR (5 Y 10 MINUTOS) DE 143 NIÑOS PREMATUROS, NACIDOS EN EL HOSPITAL DE LA SERENA (2005 – 2009).	
Tabla 4	43
TABLA DE CONTINGENCIA	
Serología cruzada entre los hijos del grupo en estudio (prematuros) y del grupo control (no prematuros).	
Tabla 5	44
TABLA DE CONTINGENCIA	
Serología cruzada entre los hijos del grupo en estudio (prematuros) y del grupo control (no prematuros) (5 x 15).	

RESUMEN

Las medidas tomadas por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), destinadas al control de la transmisión vectorial de *Trypanosoma cruzi*, además de distintas medidas tomadas en la región, permitieron la disminución de la prevalencia de la infección a nivel continental. En el caso chileno, se confirmó el control de esta transmisión en el año 1999, tomando importancia en la última década vías como la transmisión vertical y la transfusional.

Dentro de este marco, se desarrolla un plan piloto en la Provincia del Choapa (IV Región de Chile) destinado, entre otros objetivos, a estimar la incidencia de la transmisión congénita en esta área endémica. Entre los años 2005 – 2009, existió una pérdida de pacientes debido a su traslado a un hospital fuera de la Provincia por diagnóstico de parto prematuro (menor a 37 semanas de gestación)

El grupo en estudio estuvo conformado por 132 mujeres que habitan las localidades de Los Vilos, Illapel, Salamanca y Canela, y sus hijos prematuros. Para determinar la presencia o ausencia de la infección chagásica, se revisaron los antecedentes de estas mujeres en los hospitales de la Provincia, optándose por la toma de muestra para serología convencional (ELISA e IFI IgG) en los casos sin información. A su vez, en los hijos de las madres confirmadas como chagásicas, se realizó estudios serológicos y la reacción de polimerasa en cadena (PCR) para determinar su condición, además de una revisión de los antecedentes del parto y periodo neonatal, siendo uno de los antecedentes evaluados el APGAR.

El grupo control, conformado por 147 mujeres, son pacientes que fueron parte del plan piloto junto con sus hijos, los cuales tuvieron partos a término. La comparación de ambos grupos, mediante un análisis estadístico, permitió conocer si existen diferencias en la incidencia de la infección congénita por *T. cruzi* entre el grupo de estudio (parto pretérmino) y el grupo control (parto a término).

De las 132 mujeres evaluadas, se logró determinar su condición en 88 (66,6%), siendo 7 los casos con serología positiva a *T. cruzi* (7,9%). Respecto a sus hijos, en 4 se logró descartar la infección, mientras 1 fue confirmado como positivo, lo que dio una tasa

de infección congénita de un 14,28%. Al realizar la comparación con el grupo control, cuya tasa de infección congénita fue de un 4,1%, se determinó que no existían diferencias significativas entre ambas. 124 recién nacidos prematuros presentaron APGAR entre 8 y 10 (86,7%), considerado un buen pronóstico de salud neonatal, mientras 4 tuvieron un puntaje menor a 3 (2%), falleciendo 3 en el periodo neonatal.

Mediante el presente estudio, se logró recopilar la información de estas pacientes y sus hijos, permitiendo una mayor precisión en los resultados del plan piloto. A su vez, se inició el tratamiento en las mujeres positivas, además del caso congénito confirmado. Desde el año 2011 se está realizando una vigilancia epidemiológica que incluye la transmisión congénita en su protocolo, lo cual permitirá un mayor control de esta vía de infección, considerada un problema de Salud Pública a nivel mundial.

SUMMARY

The measures provided taken by the Pan American Health Organization (PAHO), for the control of Trypanosoma cruzi's vectorial transmission, in addition to other measures taken in the region have allowed the reduction of this infection in the continent. In Chile, the control of transmission it was confirmed in 1999. In the last decade other ways have become more important, such as the vertical transmission and transfusional.

Within this framework, it has been developed a pilot project in Choapa Province (Chile's IV Region) among other things, to estimate the incidence of congenital transmission in this endemic area. Between 2005 - 2009, there was a loss of patients due to transfer to an hospital outside the Province for diagnosis of preterm delivery (<37 gestation weeks).

The study group consisted in 132 women living at Los Vilos, Illapel, Salamanca and Canela, and their premature babies. To determine the presence or absence of T. cruzi infection, we reviewed the background of these women at the Province Hospitals, choosing the sampling for conventional serology (ELISA and IFA IgG) in cases without information.

In turn, in children whose mothers was confirmed as chagasic, it was performed serological and polymerase chain reaction (PCR) to determine its condition, and a background check delivery and neonatal period, one of the assessed were the APGAR record. The control group comprised of 147 women, were part of the pilot along with their children, who were given birth in term deliveries. The comparison of two groups using statistical analysis allowed us to learn if there are significant differences in the incidence of congenital infection with T. cruzi among the study group (preterm birth) and controls (term delivery).

At the study group (n=132) it was determined his condition in 88 patients (66.6%), 7 of this cases with positive serology for T. cruzi (7.9%). In their children, 4 were dismissed of infection, while 1 case was confirmed as positive, giving a 14,28% rate of congenital infection. When comparing with the control group, whose rate of congenital infection was 4.1%, it was determined that there were no significant differences between the two groups.

124 preterm infants had APGAR scores between 8 and 10 (86.7%), considered as a good predictor of neonatal health, while 4 had a score less than 3 (2%) and 3 died at the neonatal period.

Through this study, we managed to compile the information in these patients and their children, allowing more accurate results of the pilot. In turn, treatment was initiated in positive women, as well as congenital case confirmed. Since 2011 is being conducted epidemiological surveillance including congenital transmission in the protocol, allowing a better control of this route of infection, considered a public health problem worldwide.

I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis americana es una zoonosis causada por el agente parasitario *Trypanosoma cruzi*, considerada una Patología endémica de América. En Chile se distribuye desde la Región de Arica y Parinacota hasta la Región del Libertador General Bernardo O'Higgins, donde se reconocen 3 especies de vector biológico: el *Triatoma infestans*, involucrado en el ciclo doméstico, y las especies autóctonas *Mepraia spinolai* y *Mepraia gajardoi*, en el ciclo silvestre (Apt *et al.*, 2006).

La iniciativa del Cono Sur (cuyo objetivo primordial fue la interrupción del ciclo doméstico), además de otras iniciativas multinacionales llevadas a cabo por la Organización Panamericana de Salud (OPS), lograron controlar al vector *T. infestans* en Chile, considerándose interrumpida la transmisión vectorial desde el año 1999, el segundo país en alcanzar este estatus después de Uruguay. A raíz de esto, otras vías de transmisión toman mayor importancia en Chile, una de ellas la transmisión vertical o congénita del agente desde las madres infectadas a sus hijos (Apt *et al.*, 2006).

Todavía no existen normas ministeriales sobre el tema y, debido a la situación actual, es necesario obtener información acerca de la enfermedad en las zonas endémicas, con el objetivo de formar un protocolo adecuado tanto de control como de tratamiento. Desde el año 2005, se lleva a cabo un plan piloto en la provincia de Choapa destinado a estimar la prevalencia actual de la infección en mujeres embarazadas con el propósito de valorar la incidencia de infección congénita en los hijos (Apt *et al.*, 2010). A pesar de la metodología propuesta durante este plan, durante los años 2005- 2009 una cantidad de madres fueron derivadas al Hospital de La Serena para el parto, específicamente casos con menos de 37 semanas de gestación o prematuridad, por lo cual no fueron incluidas en el proyecto y se desconocía su condición actual.

Debido a esta situación se decidió hacer un rastreo de dichas mujeres e hijos, motivo por el cual surge esta memoria de título, obteniendo información que permitirá medir la magnitud de la infección chagásica del binomio madre- hijo. A su vez, al no tener datos sobre la condición de los niños, más aun por su condición de prematuros, se realizó una revisión de la información disponible, buscando en especial antecedentes que hablen

de la sobrevivencia y el pronóstico de los recién nacidos (RN), como es el caso del test de APGAR.

A pesar de que existen opiniones contradictorias, algunos autores relacionan a los partos prematuros, en conjunto con bajos pesos al nacimiento y manifestaciones clínicas, con la infección congénita del *T.cruzi*. Al ser un grupo de niños diagnosticados como prematuros, esta es una oportunidad para observar si existen diferencias entre el grupo de RN y otros de la misma Provincia que nacieron de partos a término, específicamente en relación a la tasa de infección congénita por *T. cruzi*.

Tal como se planteó anteriormente, uno de los objetivos propuestos en el plan piloto es obtener información para establecer protocolos adecuados, a través de la estimación de los casos congénitos del mal de Chagas en la Provincia del Choapa. Es por esto que la recuperación de estos datos perdidos tiene suma importancia ya que permitirá tener una mejor valoración de las tasas obtenidas durante la implementación del plan, siendo el punto de partida para futuras propuestas que busquen el control de este problema de Salud Pública, considerado cada vez más relevante tanto en las regiones endémicas como en países sin la transmisión vectorial.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

A) Generalidades de *T.cruzi*

La enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis americana es considerada una enfermedad crónica causada por el agente parasitario *T. cruzi*, protozoo hemoflagelado perteneciente a la familia Tripanosomatidae, cuyo ciclo de vida se caracteriza por incluir a un insecto vector de la familia Triatominae, conocidas como vinchucas, y a un hospedero mamífero (Guzmán *et al.*, 1999). La infección se encuentra distribuida de manera natural en el continente americano desde el sur de California (paralelo 43 latitud norte) hasta la región central de Argentina (paralelo 49 latitud sur), zona en donde habita el vector biológico (Apt *et al.*, 2006). En Chile se describen al *T. infestans*, como el vector que participa en el ciclo doméstico, y al vector endémico *M. spinolai*, en el ciclo silvestre. Recientemente se ha reconocido a un tercer vector autóctono llamado *M. gajardoi*, capaz de propagar al *T. cruzi*, el cual se distribuye en la zonas costeras del norte de Chile (Botto-Mahan *et al.*, 2008).

Se estima que en América existen alrededor de 10 a 18 millones de personas infectadas, estimándose en alrededor de 100 millones la población con riesgo de adquirir la infección (Gürtler *et al.*, 2003). En el caso particular de Chile, esta infección ha sido detectada entre 18° 30' a 34°16', en zonas áridas y semiáridas. A su vez, se estima que existen 142.000 personas infectadas y alrededor de 1 millón en riesgo (Rozas *et al.*, 2005).

A través de la iniciativa del Cono Sur llevada a cabo desde 1991, enfocada en la interrupción de la transmisión horizontal del *T. cruzi* para eliminar al vector doméstico, además de una serie de iniciativas multinacionales coordinadas por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), se ha logrado una disminución de la transmisión por vía vectorial en Latinoamérica. Dado el escenario anterior se reconoció la interrupción de la transmisión vertical a través del vector doméstico en Chile en el año 1999 (Schofield *et al.*, 2006).

Respecto a la patología, se reconocen 3 periodos bien definidos: la fase aguda, la fase crónica indeterminada o latente y la fase crónica determinada, con diferencias

clínicas, diagnósticas y de pronóstico entre cada una. La fase aguda se caracteriza por ser generalmente asintomática, con una alta parasitemia. Los signos en pacientes sintomáticos pueden ser fiebre, signos de puerta de entrada, edema, adenopatías, anorexia, esplenomegalia y hepatomegalia. Los signos de puerta de entrada o chagomas suelen ser lesiones cutáneas en las extremidades y cara, se considera común en la región ocular el signo de Romaña – Mazza, el cual se presenta como un edema bpalpebral, unilateral, de color rosado violáceo, indoloro y duro. La fase latente representa a la mayoría de los pacientes, caracterizándose por la ausencia de signos clínicos, detectable solo a través de la parasitemia y la serología positiva. Un 50 – 70% de los pacientes se mantiene en esta etapa, mientras el resto evoluciona a la siguiente fase en un período de 10 – 30 años. La fase crónica determinada se caracteriza por el compromiso cardíaco y/o digestivo, con niveles altos de anticuerpos medibles por serología y una parasitemia baja (Apt *et al.*, 2006).

Además de la vía vectorial, existen otros mecanismos de transmisión de la infección como lo son las transfusiones sanguíneas, trasplante, accidentes de laboratorio, transmisión oral, jeringas contaminadas y la vía vertical o trasplacentaria. Dado el control del vector doméstico en Chile, han tomado mayor relevancia las otras vías de transmisión, en especial las transfusiones de sangre y la transmisión vertical (Apt *et al.*, 2006).

En Chile es obligatorio el tamizaje para *T. cruzi* en los Bancos de Sangre desde la I a la VI región, reconocidas como las zonas endémicas de la infección (Apt *et al.*, 2006). Posteriormente este procedimiento se extendió a todos los Bancos de Sangre de la Nación (Apt *et al.*, 2010). A partir de esta situación, se hace importante la vía trasplacentaria, ya reconocida hoy en día como un problema de salud pública que puede afectar a todos los países, incluido los no endémicos, debido a la migración de personas infectadas (Brutus *et al.*, 2008).

B) Infección congénita por *T. cruzi*

a. Definición

La transmisión materno-fetal o congénita del *T. cruzi* implica una transmisión prenatal, cuando esta ocurre durante la gestación (*in útero*), o perinatal, cuando ocurre en

el momento del parto. Esto excluye a la transmisión del parásito en el período posnatal, como a su vez la transmisión de parásitos muertos, ADN o moléculas liberadas en la mujer gestante y que pueden ser encontrados en la sangre fetal (Carlier y Truyens, 2010).

El término transmisión madre-hijo o vertical tiene la connotación del paso de la infección desde una generación a la siguiente, lo cual puede incluir la transmisión prenatal, perinatal e incluso la postnatal en los casos en que la madre es la fuente. A su vez, el término “infección congénita con *T.cruzi*” se refiere a los casos de infección durante la gestación (Carlier y Truyens, 2010). Por último, el término “Enfermedad de Chagas congénita” debería ser usado exclusivamente en los casos sintomáticos, al ser un término que habitualmente se confunde con la infección congénita (Carlier y Torrico, 2003).

b. Aspectos epidemiológicos

i. Epidemiología y globalización de la infección congénita

A través de las revisiones realizadas a la información epidemiológica sobre la transmisión congénita del *T.cruzi*, se ha llegado a dos tendencias claras: 1) La reducción de la incidencia en los países endémicos de América Latina y 2) la aparición de casos en áreas no endémicas de la infección (Carlier y Truyens, 2010).

Aunque se tiene información sobre la mayoría de los países Latinoamericanos, la comparación de los reportes epidemiológicos sobre la infección congénita con *T. cruzi*, no son fáciles de confrontar debido principalmente a las diferentes metodologías de diagnóstico utilizadas en los estudios (Carlier y Truyens, 2010). Sin embargo, análisis realizados por los mismos equipos en Argentina (1995 – 2004, Altcheh *et al.*, 2005) y Bolivia (1999 – 2001, Torrico *et al.*, 2004; 2004-2006 Torrico *et al.*, 2007) han indicado un descenso en la incidencia de casos diagnosticados.

Las migraciones de personas desde esta región, en especial durante las últimas décadas, han promovido a la Tripanosomiasis Americana como una enfermedad global, siendo ahora observada en países en que no existe la transmisión vectorial (Ej. Europa, Canadá, Japón, Australia) (Schmunis, 2007). La tendencia actual de las migraciones, la

cual ha tendido a ser más de mujeres que hombres (Pellegrino, 2004), es relevante debido al riesgo de la transmisión congénita en áreas no endémicas (Buekens *et al.*, 2008). Casos de enfermedad de Chagas congénita han sido reportados en Estados Unidos (Leiby *et al.*, 1999), Suecia (Pehrson *et al.*, 1982) y recientemente en España (Riera *et al.*, 2006; Carrilero *et al.*, 2009) y Suiza (Jackason *et al.*, 2009).

ii. Características específicas

La transmisión congénita de *T. cruzi*, en contraste con la toxoplasmosis, puede ocurrir tanto en la fase aguda como crónica de la infección maternal y repetirse en cada gestación, siendo posible que ocurra durante todo el período fértil de la mujer infectada (Bittencourt, 1992; Carlier y Torrico, 2003). A pesar de esto, la mayoría de los casos derivan de madres crónicamente infectadas, las cuales fueron contagiadas por el insecto vector durante su niñez al haber vivido en áreas endémicas durante su infancia (Carlier y Torrico, 2003).

Por otra parte, la transmisión trasgeneracional puede ocurrir desde una madre infectada a su hija, pudiendo repetirse dicha infección en la generación siguiente (Carlier y Torrico, 2003), siendo una característica que pueden contribuir a la formación de *clustering* familiares de casos congénitos (Sánchez *et al.*, 2005).

Tanto la transmisión trasgeneracional como la formación de *clústers* sugieren un particular riesgo a largo plazo desde las mujeres infectadas gestantes tanto en áreas endémicas como no endémicas (Carlier y Truyens, 2010). Dicha situación han convertido a la infección congénita por *T. cruzi* en particular en un importante problema de salud pública que puede extenderse fácilmente en el espacio (dado las migraciones) y en el tiempo (Raimundo *et al.*, 2010).

c. Rol de la placenta en la infección congénita

i. Respuesta Inmune Innata

Estudios recientes han demostrado que algunos miembros de la familia de receptores semejantes a *Toll* (TLR), específicamente el TLR2 y TLR4, son capaces de reconocer patrones moleculares asociados a *T. cruzi* (Tarleton, 2007). Estos receptores son expresados por el trofoblasto, en conjunto con fibroblastos, macrófagos y células endoteliales (Koga y Mor, 2010). La expresión de ambos receptores se ve fuertemente incrementada durante la infección de la placenta. Durante este proceso, al detectar ciertas vías intracelulares, la placenta promueve una respuesta inmune innata con la liberación a la sangre materna de citoquinas proinflamatorias (Redline, 2006). Además, el receptor FcRn, expresado en las células trofoblásticas, puede ayudar en el proceso de fagocitosis de los parásitos (Simister, 2003). Es así como estos mecanismos innatos activados en la placenta pueden disminuir los niveles de parasitemia en ciertos intervalos, limitando o previniendo la transmisión materno-fetal del parásito (Carlier y Truyens, 2010). Estudios *in vitro* han demostrado la muerte de parásitos por óxido nítrico producido en la placenta (Triquell *et al.*, 2009) y el rol inhibitor de ciertas partes en la actividad de los tripomastigotes (Frank *et al.*, 2000). El reporte de casos en que ha existido inflamación, sin la consecuente infección congénita, es un argumento a favor de la potencial eficacia en el control de la infección por parte de la placenta (Bittencourt, 1992).

ii. Efectos en la placenta por la invasión de *T. cruzi*

La infección en la mujer gestante puede ser asociada con una notoria inflamación de la placenta (placentitis), existiendo la posibilidad de efectos patológicos (Carlier y Truyens, 2010). Respecto a lo mismo, se ha demostrado que intensos niveles en citoquinas como el TNF pueden inducir efectos abortivos (Haider y Knofler, 2009). Esto último, asociado a otros factores, puede inducir apoptosis en las células de la placenta, incrementa la posibilidad de ruptura de la barrera protectora, facilitando la infección fetal (Redline, 2004). Análisis histopatológicos de placentas provenientes de abortos, mortinatos y partos prematuros (con muerte en el periodo neonatal) derivados de pacientes infectados congénitamente por *T. cruzi*, han mostrado villitis con largas áreas

de necrosis asociada (Bittencourt, 1988). Estudios inmunohistoquímicos han observado importantes niveles de respuesta inflamatoria, con infiltrados en que el mayor componente han sido macrófagos, linfocitos T CD8 y una pocas células NK (Altemani *et al.*, 2000).

Otros estudios han mostrado severas villitis con la presencia de macrófagos y granulocitos en los sitios de necrosis trofoblástica (Altemani *et al.*, 2000). Niveles de producción local elevados de mediadores inflamatorios, como moléculas derivadas del oxígeno) o el óxido nítrico, pueden tener efectos deletéreos en la vascularización de la placenta (Myatt y Cui, 2004). Esto, agregado a la liberación de citoquinas inflamatorias en la circulación fetal, puede provocar un síndrome de respuesta inflamatoria fetal, empeorando el pronóstico clínico de la enfermedad de Chagas congénito, o quizás contribuyendo a efectos abortivos o de mortalidad neonatal (Romero *et al.*, 2007).

Sin embargo, la inflamación severa de las vellosidades ha sido menor o poco observada en placentas de neonatos infectados por la vía congénita, en donde la necrosis o lisis, asociada a la infiltración por neutrófilos y linfocitos, ha sido detectada en la mayoría de los casos en la placa coriónica (corionitis) y al cordón umbilical (funisitis) (Carlier, 2005). Estas lesiones en la membranas alrededor del feto puede inducir su debilitamiento y una ruptura prematura, lo cual es frecuentemente observado en casos de infección congénita por *T. cruzi* (Torrico *et al.*, 2004).

d. Vías de transmisión congénita

i. Vía hematológica trasplacentar

La ruta trasplacentar es la ruta principal de transmisión de *T. cruzi* presente en la sangre de la madre. Esta ruta requiere que el parásito cruce la barrera trofoblástica (primera línea de defensa) u otro tejido, antes de cruzar los tejidos mesenquimales (segunda barrera de defensa) para finalmente ganar acceso a los vasos sanguíneos presentes en el tejido mesenquimal (Carlier y Truyens, 2010).

Invasión parasitaria del trofoblasto

Las vellosidades de la placenta humana están cubiertas por dos capas del trofoblasto: una capa externa llamada sinciotrofoblasto y una capa interna llamada citotrofoblasto (Benirschke *et al.*, 2006). A grandes rasgos, solo la barrera externa se interpone entre la sangre materna y la fetal, dado que el número de las células del citotrofoblasto disminuyen durante la gestación (Benirschke *et al.*, 2006). Algunos estudios *in vitro* han observado que el *T. cruzi* puede fácilmente infectar y multiplicarse en las células trofoblásticas (Sartori *et al.*, 2002). El parásito induce un desmontaje de la actina del citoesqueleto intracelular y la fosfatasa alcalina placentaria, lo cual lo ayuda a invadir y multiplicarse en las células trofoblásticas (Sartori *et al.*, 2003).

Análisis histopatológico de placentas obtenidas de casos congénitos han mostrado una intensa villitis asociada a *T. cruzi*, parásitos presentes en las vellosidades trofoblásticas como, a su vez, amastigotes en las células estromales (Drut y Araujo, 2000). Sin embargo, en otro estudio realizado en Bolivia, la villitis fue raramente observada y los parásitos fueron difícilmente identificados (Carlier, 2005). Estos estudios sugieren que el trofoblasto, en la mayoría de las ocasiones, es una barrera potencial para el *T. cruzi* y que la transmisión al feto, cuando ocurre, es por lo general a través de rutas trasplacentarias alternativas (Carlier y Truyens, 2010).

Invasión parasitaria en áreas sin trofoblasto

En algunos estudios histopatológicos, los parásitos fueron encontrados principalmente en la placa coriónica, membranas y en el cordón umbilical, asociado con corionitis y placentitis (Carlier, 2005). Estas observaciones sugieren que los parásitos presentes en el espacio entre las vellosidades, optan por un camino a través de los tejidos de la placenta desprovisto de las defensas trofoblásticas (Carlier y Truyens, 2010). Análisis de biopsias seriadas hechas en placentas de recién nacidos en Bolivia mostraron una alta densidad de parásitos a nivel de la zona marginal, con una gradual disminución de la densidad en la placa coriónica y las membranas distantes (Carlier, 2005). Además, se sabe que las zonas marginales de la placenta (que la unen a las membranas de la placa coriónica) están constituidas por células musculares lisas envueltas por una matriz

extracelular fibrinoide, siendo únicamente cubierta por epitelio maternal y no por tejido trofoblástico (Nanaev *et al.*, 2000).

Transmisión parasitaria a través de rupturas

Brechas o rupturas en la placenta pueden facilitar la transmisión del *T. cruzi* desde la sangre materna al permitirle escapar de las defensas trofoblásticas (Carlier y Truyens, 2010). Estas fisuras pueden resultar del daño producido por una placentitis o aparecer naturalmente durante la labor de parto debido a daño derivado de las contracciones uterinas (Benirschke *et al.*, 2006). Esta vía de transmisión se ha hecho relevante dado que la utilizan los leucocitos infectados con el VIH para llegar al feto (Biggar *et al.*, 2008).

Migración parasitaria a través del tejido coriónico y estromal

A excepción de la transmisión a partir de rupturas, una vez que el *T. cruzi* traspasa la barrera trofoblástica se encuentra dentro del tejido coriónico/estromal en las vellosidades o en la placa coriónica, las cuales están constituidas por fibras de tejido conectivo y por células como fibroblastos y macrófagos (Benirschke *et al.*, 2006). Los tripomastigotes de *T. cruzi* que no son destruidos por las células fagocíticas en el tejido mesenquimal son capaces de multiplicarse y completar el ciclo en las células, liberando nuevos parásitos móviles (Carlier, 2005). Una vez que ha infectado las células musculares y endoteliales de los vasos sanguíneos fetales, el parásito finalmente gana acceso a la circulación fetal (Fernandez-Aguilar *et al.*, 2005).

ii. Otras vías de transmisión materno-fetal

Un probable modo de transmisión materno-fetal podría ser a través de la liberación de parásitos dentro del líquido amniótico desde las células amnióticas (Carlier y Truyens, 2010). Debido a la presencia de parásitos dentro de la placa coriónica y las membranas, puede originarse una infección secundaria en la capa contigua de células amnióticas (Carlier, 2005). Los parásitos liberados en el líquido pueden infectar al feto a través de la

ruta oral o pulmonar, pudiendo incluso eventualmente infectarlo a través de la piel (Fernández-Aguilar *et al.*, 2005). Sin embargo, en aspirados del contenido y fluidos gástricos de recién nacidos infectados, el *T. cruzi* no fue encontrado mediante microscopía, detectándose su ADN con dificultad (Virreira *et al.*, 2006). Esto sugiere que los parásitos podrían ser destruidos normalmente por los péptidos antimicrobianos contenidos en el líquido amniótico, siendo una vía de infección poco común en humanos (Akinbi *et al.*, 2004).

iii. Momento de la transmisión congénita

Se piensa que la transmisión de tripomastigotes sanguíneos durante el primer trimestre de gestación sería rara o no existiría, dado que el espacio entre las vellosidades y la placenta aún no está abierto. A su vez, el riego sanguíneo desde la madre se vuelve continuo y difuso en la placenta solo después de la duodécima semana de gestación (Jauniaux *et al.*, 2003).

Los abortos, mortinatos y partos prematuros en las mujeres infectadas por el *T. cruzi* son más frecuentes entre la semana 19 a 37 de gestación. Sin embargo, aún no existe la prueba concreta ni investigaciones sistemáticas que permitan responsabilizar a la infección congénita de estas alteraciones (Azogue *et al.*, 1985). A pesar de ser infrecuente, se han reportado casos de infección aguda por *T. cruzi* durante la preñez, la cual sugirió una posible transmisión del parásito alrededor de la semana 20 de gestación (Moretti *et al.*, 2005). De todos modos, la mayoría de las mujeres infectadas se encuentran en la fase crónica de la infección, dado que la adquirieron tiempo antes del embarazo (Carlier y Truyens, 2010). Se esperaría que la transmisión de los tripomastigotes ocurra con mayor frecuencia durante el segundo o tercer trimestre de gestación y, en algunos casos, durante la labor de parto a través de rupturas en la placenta (Carlier y Truyens, 2010).

e. Factores involucrados en la transmisión congénita

i. Genotipo de *T.cruzi*

Trypanosoma cruzi es un parásito que posee una heterogeneidad compleja en cuanto a los linajes genéticos. A su vez, las diferencias filogenéticas podrían tener consecuencias relevantes tanto en la transmisión congénita como en su patogenicidad (Carlier y Truyens, 2010). Recientemente se ha clasificado al *T. cruzi* en 6 genotipos principales (Zingales *et al.*, 2009). En cuanto a la infección congénita en humanos, se han reportado en los genotipos TcI, TcII, TcIII, TcV y TcVI (Carlier y Truyens, 2010). El genotipo TcV es el que predomina en Bolivia, Argentina, Chile, Paraguay y algunos estados de Brasil, correspondiendo al 80-90% de los casos congénitos reportados (Corrales *et al.*, 2009). Tanto el genotipo TcII como el TcVI han sido reportados en Argentina, Brasil, y Bolivia (Burgos *et al.*, 2007). El TcI ha sido identificado en recién nacidos en Colombia (Falla *et al.*, 2009), mientras que el TcIII ha sido identificado en Paraguay (Puerto *et al.*, 2010).

A su vez, se ha visto que el genotipo detectado en las madres ha sido encontrado en sus hijos al nacer, incluso en gestaciones consecutivas, lo cual demuestra que la gestación no induce cambios en la población parasitaria predominante (Virreira *et al.*, 2007; Schijman, 2007). A pesar de ello, aún no existe clara evidencia en la relación entre el genotipo del *T. cruzi* y la infección congénita en humanos, no existiendo información concluyente (Carlier y Truyens, 2010).

ii. Carga parasitaria de la madre

La carga parasitaria o parasitemia de la mujer gestante sería un factor importante que contribuiría a la transmisión congénita del *T. cruzi*. Afirmación respaldada en estudios en mujeres gestantes que sufrieron una infección aguda por *T. cruzi*, existiendo transmisión congénita en la mayoría (Moretti *et al.*, 2005). Esto indica que hay un mayor riesgo de transmisión en mujeres gestantes que desarrollan una alta parasitemia, versus las que se encuentran en el estadio crónico de la infección (Carlier y Truyens, 2010). Otros estudios indicaron una mayor frecuencia de hemocultivos positivos a *T. cruzi* en madres crónicamente infectadas que transmitieron congénitamente la infección en comparación a mujeres que no, comprobando la relación entre parasitemia e infección congénita

(Hermann *et al.*, 2004). La información permite postular que niveles significativos de parasitemia, en los espacios entre las vellosidades, es necesario para copar los sistemas endógenos de defensa que posee la placenta (Carlier y Truyens, 2010).

iii. Inmunidad materna y otros factores relacionados

La inmunidad materna podría ser un factor limitante tanto en la transmisión como en el desarrollo de la infección congénita en el feto o neonato (Carlier y Truyens, 2010). Estudios han comprobado que anticuerpos IgG maternos específicos contra el *T.cruzi* tiene un rol protector tanto en la madre como en su hijo (Breniere *et al.*, 1983).

La activación de la inmunidad innata en mujeres gestantes podría contribuir a limitar la ocurrencia y severidad de la infección congénita. Esta afirmación se respalda en estudios hechos en mujeres infectadas, las cuales desarrollaron mayores niveles de IL-1, IL-6 y TNF ante la estimulación con el *T.cruzi* en comparación a un grupo control no infectado (Vekemans *et al.*, 2000). Otros estudios reportaron altos niveles sanguíneos de TNF en mujeres con parasitemia detectable (Cuna *et al.*, 2009). Este tipo de estudios sugiere el rol protector que tendría la inmunidad innata tanto para la madre como para su hijo (Truyens *et al.*, 2005).

Se han visto bajos niveles de respuesta inmune mediada por linfocitos T y menores niveles de IFN y en mujeres que han transmitido la infección a sus hijos, hecho que probablemente contribuiría a un incremento en la parasitemia (Hermann *et al.*, 2004). La persistencia de una capacidad de respuesta reducida posterior a la gestación sugiere que ciertas mujeres podrían estar predispuestas a repetir la transmisión congénita del parásito, creando la inquietud sobre la existencia de posibles factores genéticos que favorecen la transmisión (Hermann *et al.*, 2004).

Otros factores maternos, como la edad, el número de parto, y/o malnutrición podrían ser factores que favorezcan la transmisión congénita del *T. cruzi* (Torrice *et al.*, 2004). A su vez, las mujeres en lugares con una alta densidad del vector biológico están expuestas a múltiples reinfecciones con el *T. cruzi*, lo cual contribuiría a un incremento de la parasitemia durante la gestación (Torrice *et al.*, 2006).

iv. Respuesta inmune del feto y el neonato

Un factor crucial para detener, limitar o permitir el desarrollo de la infección en el feto o el neonato es la capacidad de este para montar una respuesta inmune innata y/o específica contra el *T. cruzi* (Carlier y Truyens, 2010).

Se ha comprobado que la producción de citoquinas inflamatorias, como a su vez la activación de células NK, es mayor en neonatos libres de la infección en comparación a los que nacieron con la infección congénita, los cuales presentan niveles menores (García *et al.*, 2008). Esta información sugiere un rol protector de las defensas innatas en los niños nacidos de madres infectadas que no desarrollaron la infección, lo cual está probablemente relacionado con la capacidad de sus monocitos para eliminar al parásito (Truyens *et al.*, 2005).

La inmunidad mediada por linfocitos T es considerada de limitada efectividad debido a la relativa inmadurez del sistema inmune en la vida temprana (Wilczynski, 2005). Tanto las células dendríticas como los linfocitos T presentan defectos cualitativos y cuantitativos durante el periodo neonatal, limitando el desarrollo de CD4 como a su vez de una respuesta del tipo Th1, la cual se considera esencial para el control de patógenos intracelulares (Willems *et al.*, 2009). A pesar de esto, se ha demostrado que neonatos congénitamente infectados por *T. cruzi* pueden montar una respuesta parecida a la de un adulto del tipo CD8 con la producción de IFN γ , la cual se sabe que es una citoquina crítica para el control de esta infección (Hermann *et al.*, 2002).

Otros estudios han comprobado que los recién nacidos con una limitada capacidad para producir IFN γ , desarrollan los niveles más altos de parasitemia, además de las formas más severas de la enfermedad de Chagas congénita (Carlier, 2005). Tal como se postuló anteriormente, habrían *clústers* familiares en que la infección congénita por *T. cruzi* se perpetúa, lo cual sugiere que ciertos fetos o neonatos podrían estar predispuestos a una menor capacidad en su respuesta inmune, sugiriendo nuevamente un posible rol de factores genéticos (Carlier y Truyens, 2010). En cuanto al género, la mayoría de los estudios no ha demostrado predisposición por un sexo en particular (Torrico *et al.*, 2004; Salas *et al.*, 2007).

f. Manifestaciones clínicas de la enfermedad de Chagas congénita

i. Manifestaciones Clínicas

La infección congénita por *T. cruzi*, a pesar de que existen casos agudos, es asintomática la mayor parte de las veces, lo cual se observa entre el 40 – 100% de los casos (Carlier y Torrico, 2003). A pesar de esto, se sabe que las manifestaciones clínicas de la enfermedad de Chagas congénita pueden aparecer días o semanas después del nacimiento (Howard, 1962). Esto se ha tomado como un argumento a favor de la transmisión del parásito de forma tardía durante la gestación, reduciendo el período de tiempo en que el patógeno se puede multiplicar en el feto e inducir daño (Carlier y Truyens, 2010).

Los signos y los síntomas que se pueden observar en los recién nacidos con la enfermedad de Chagas congénita no son específicos (Carlier y Truyens, 2010). El tipo de sintomatología es similar a otras infecciones congénitas, como en el caso del citomegalovirus o el herpes virus, los cuales comúnmente se denominan parte del síndrome de TORCH. (Klein *et al.*, 2006). Esto, además de la alta frecuencia de casos asintomáticos, hace necesaria la existencia de herramientas diagnósticas capaces de detectar la infección cercana al nacimiento (Carlier y Truyens, 2010). Los recién nacidos infectados pueden presentar fiebre, prematuridad (<37 semanas de gestación), bajo peso al nacimiento (<2500 g), hepato y esplenomegalia, neumonitis y en algunos casos ictericia (Carlier y Torrico, 2003).

La ruptura prematura de las membranas, frecuentemente observada en la enfermedad de Chagas congénita, puede resultar en el nacimiento de niños prematuros con una función pulmonar inmadura, estando predispuestos a alteraciones respiratorias (Torrico *et al.*, 2004). El crecimiento retardado puede ser asociado a disfunciones multisistémicas provocadas por el parásito en el feto, como a su vez una consecuencia de la placentitis (Carlier y Truyens, 2010).

Se pueden observar en algunos casos de Chagas congénito manifestaciones clínicas más severas, como es el caso de la meningoencefalitis o de miocarditis aguda, lo cual resulta en alteraciones del ritmo cardíaco y cardiomegalia (Freilij y Altchek, 1995). En cuanto a manifestaciones hematológicas, la anemia y la trombocitopenia son las

principales alteraciones reportadas en los casos de enfermedad de Chagas congénita (Torrice *et al.*, 2004), tanto el megaesófago como el megacolon han sido raramente reportados en los casos congénitos (Costa-Pinto *et al.*, 2001). No se han detectado malformaciones en los niños infectados (Carlier y Truyens, 2010).

ii. Tasa de letalidad

La mortalidad puede ocurrir unos días luego del nacimiento en los casos severos sin tratamiento, en una tasa del 15%, siendo cercano al 100% en los casos de coinfección con el VIH (Salas *et al.*, 2007). La tasa de abortos y de mortinatos en mujeres crónicamente infectadas se ha reportado como similar o ligeramente superior en comparación a mujeres sin la infección (Schenone *et al.*, 1985).

Un hecho interesante que se destaca es la diferencia entre los estudios clínicos más antiguos con los más recientes, indicando los primeros la mayor mortalidad y morbilidad debido a la infección (Carlier y Truyens, 2010). En contraste, en los estudios más recientes, la mayoría de los casos reportados son asintomáticos, presentándose las manifestaciones más severas en los casos de coinfección con el VIH. (Carlier y Truyens, 2010). Sin embargo, se considera difícil la comparación de los reportes clínicos debido particularmente a la baja incidencia de casos de infección congénita (Torrice *et al.*, 2006).

iii. Consecuencias de la infección congénita

En caso de que la infección congénita no es tratada, independiente de la morbilidad neonatal, puede existir un desarrollo de la enfermedad crónica, con la posible aparición de la miocardiopatía chagásica o las alteraciones digestivas (Carlier *et al.*, 2002). A pesar de esto, se ha visto que la evolución a la cardiopatía severa es menos frecuente en comparación a los sujetos que residen en áreas endémicas de la infección y que la contraen por la vía vectorial (Storino *et al.*, 2002). Se considera una posible consecuencia a largo plazo la posible transmisión trasgeneracional del *T. cruzi* al mantenerse en niñas infectadas (Carlier y Truyens, 2010).

Otra posible consecuencia es la huella o *imprinting* que ocurre en el sistema inmune del feto y el neonato (Carlier y Truyens, 2010). Esto se explica por la transferencia desde la madre tanto de anticuerpos como de material antigénico del parásito, lo cual puede conducir a una mayor eficiencia de la respuesta inmune o a un cierto grado de tolerancia a reinfecciones (Petersen, 2007). Estudios han demostrado que los recién nacidos infectados desarrollan una respuesta inmune de tipo 1 más fuerte contra las vacunas de la hepatitis B, difteria y tétanos en comparación a recién nacidos de mujeres sin la infección (Dauby *et al.*, 2009).

g. Diagnóstico de la infección congénita

En cuanto al diagnóstico de la infección congénita, se divide en dos pasos: la detección de la infección en la mujer gestante y la confirmación de la infección en los recién nacidos de las madres positivas (Carlier y Truyens, 2010).

i. Detección de la infección en la madre

Para confirmar la infección en la mujer gestante, es necesario que exista un resultado positivo en 2 test serológicos convencionales destinados a la detección de anticuerpos específicos contra el *T. cruzi*, ya sea por Inmunofluorescencia (IF), ELISA o IHA (Andrade y Gontijo, 2008). Se recomienda realizar estos exámenes lo más pronto posible luego de que el diagnóstico de gestación haya sido confirmado, aunque se puede realizar durante cualquier momento de la gestación, incluido durante el parto o desde la sangre del cordón umbilical (Carlier y Torrico., 2003).

ii. Detección de la infección fetal *in útero*

Aunque se puede realizar una amniocentesis para la extracción de líquido amniótico, no es común detectar la presencia de ADN del parásito a través de la técnica PCR (Virreira *et al.*, 2006), por lo mismo, no se recomienda este tipo de análisis para la detección del *T.cruzi* durante la gestación (Carlier y Torrico, 2003).

En algunos casos se han obtenido muestras de sangre a través de una centesis del cordón umbilical por parte de personal especializado para la realización de los exámenes convencionales, sin embargo, es raramente utilizada para el diagnóstico prenatal de la infección congénita por *T. cruzi* (Okumura et al., 2004).

iii. Detección de la infección en el período neonatal

La muestra de sangre puede ser obtenida durante el nacimiento desde el cordón umbilical, siendo la vía más fácil y de menor trauma tanto para la madre como para el recién nacido (Carlier y Truyens, 2010). Luego de ese período la muestra puede ser obtenida por venipuntura periférica desde el brazo, dedo o el talón del neonato. En casos sintomáticos de meningoencefalitis, una muestra de LCE puede ser utilizada para la detección (Carlier y Truyens, 2010).

Diagnóstico parasitológico

Se pueden detectar la presencia de tripomastigotes vivos a través de un examen microscópico directo mediante una muestra de sangre del neonato (Carlier y Truyens, 2010). En los casos en que sea negativo, la técnica microstrout puede ser empleada, la cual consiste en el examen microscópico de la capa leucocitaria o flogística en microtubos luego de haber sido centrifugados (Carlier y Torrico, 2003). Esta técnica es muy recomendada dado que tiene una mayor sensibilidad que la inspección directa, pudiendo detectar alrededor de 40 parásitos por mL, siendo además un proceso rápido y accesible (Torrico et al., 2005). Un método alternativo es la técnica de Strout clásica, cuya diferencia es utilizar un volumen de sangre mayor al microstrout (Azogue y Darras, 1995).

Métodos indirectos, como lo es el hemocultivo y el xenodiagnóstico, pueden ser usados para detectar la infección congénita ante bajas cargas parasitarias (Moya et al., 2005). Los contras de este método son su mayor costo y que demora semanas para obtener los resultados (Carlier y Truyens, 2010).

Todos los métodos de este tipo necesitan un personal calificado, dado que la detección de parásitos en la sangre es un diagnóstico definitivo que confirma la infección

congénita (Carlier y Torrico, 2003). En los casos negativos al nacimiento, se requiere el análisis de otras muestras semanas o meses después, ya que esto aumenta la sensibilidad de la detección cuando la infección congénita ocurrió en períodos tardíos durante la gestación (Carlier y Truyens, 2011).

PCR

Este tipo de test puede detectar pequeñas cantidades de ADN del *T.cruzi* en muestras de sangre, lo cual puede permitir el diagnóstico de la infección congénita (Mora *et al.*, 2005; Burgos *et al.*, 2009). Sin embargo, si los protocolos o los *primers* utilizados en el proceso han sido recientemente estandarizados, la validación de su uso clínico debe ser evaluado (TDR, 2009). La interpretación de los resultados se complica si estos no son determinantes, dado que pequeñas trazas de ADN parasitario, transmitido por la madre, puede ser detectado como parásitos vivos. Además de esto, un posible proceso de auto-cura en fetos que montaron una respuesta inmune eficiente no puede ser evaluada por este método (Carlier y Truyens, 2010).

Este tipo de inconvenientes es una probabilidad que explicaría las altas tasas de transmisión materno - fetal que han sido reportados en estudios que solo han utilizado la técnica PCR cercana al nacimiento como examen diagnóstico (Mora *et al.*, 2005), motivo por el cual es necesario realizar PCR secuencial al nacer y entre el primer y segundo mes del vida del recién nacido. El PCR cuantitativo o de tiempo real, permite medir los niveles de ADN parasitario presente, podría ser útil como un método para validar los resultados de la técnica PCR convencional siempre y cuando se realice en forma seriada (Schijman *et al.*, 2003).

Exámenes serológicos

Detección de anticuerpos IgM – IgA específicos

La detección de este tipo de anticuerpos fue propuesto por algunos investigadores como un método para el diagnóstico de la infección congénita por *T.cruzi* (Aznar *et al.*, 1995). Sin embargo, estos isotopos de anticuerpos no han sido detectados en todos los

recién nacidos confirmados por el diagnóstico parasitológico, como a su vez sí ha sido detectado en recién nacidos que no presentaron la infección congénita, por lo cual no se recomienda este examen para el diagnóstico de la infección congénita por *T. cruzi* (Carlier y Torrico., 2003; Rodríguez *et al.*, 2005).

Detección de antígenos específicos por anticuerpos IgG

Ensayos del tipo Dotblot han sido capaces de identificar casos congénitos al detectar anticuerpos IgG que reconocieron antígenos de fase aguda o SAPA, sintetizados en fetos o neonatos infectados y que no fueron transferidos desde su madre (Reyes *et al.*, 1990). Sin embargo, otros estudios indicaron que este tipo de antígenos sí pueden ser detectados en la madre, además de pacientes en la fase crónica de la enfermedad (Breniere *et al.*, 1997).

Histopatología de la placenta

Tanto estudios de histopatología estándar o de tipo inmunoenzimáticos, como análisis por PCR o cultivos de placenta, han sido considerados para el diagnóstico de la infección congénita (Azogue y Darras, 1995; Carlier y Torrico, 2003). En todo caso, la presencia de parásitos en la placenta no confirma necesariamente la infección congénita, dado que, como se dijo anteriormente, la placenta tiene la capacidad de contener la infección parasitaria (Carlier y Truyens, 2010).

iv. Detección de infección congénita en el lactante

Si el recién nacido de una madre infectada muestra resultados negativos con los métodos diagnósticos anteriormente mencionados, o si no fue posible realizar estas pruebas, la detección de anticuerpos específicos usando los métodos serológicos estándar, pueden ser usados luego que los anticuerpos IgG transferidos desde la madre hayan desaparecido (Carlier y Truyens, 2010). Diferentes estudios han concordado en indicar que estos anticuerpos deberían desaparecer antes de los 8 o 9 meses de edad,

por lo que un examen serológico negativo después de los 8 meses indica la ausencia de la infección congénita. A su vez, un resultado positivo a esta edad indica que el infante está infectado, siendo válido en áreas en que las otras vías de infección han sido controladas o erradicadas (Carlier y Torrico, 2003).

La detección de los anticuerpos IgG contra los antígenos SAPA luego de los 3 meses de edad es una alternativa para obtener un diagnóstico de la infección congénita, ya que estos anticuerpos desaparecen antes que los anticuerpos IgG transferidos por la madre (Russomando *et al.*, 2005), sin embargo, este tipo de análisis aún no se encuentra disponible en kits comerciales.

h. Tratamiento

Mediante varios estudios, se ha llegado a un consenso en que todo niño infectado congénitamente por *T.cruzi* debe ser tratado con los medicamentos estándar contra este parásito, el Benznidazol y Nifurtimox, lo más pronto posible luego del diagnóstico (Blanco *et al.*, 2000; Schijman *et al.*, 2003; Torrico *et al.*, 2004; Luquetti *et al.*, 2005). La dosis recomendada de Benznidazol y Nifurtimox son 5-10 mg/kg/día y 10-15 mg/kg/día, respectivamente, en neonatos e infantes hasta el primer año de vida, siendo 60 días el período de tratamiento recomendado y 30 días lo mínimo (Carlier *et al.*, 2011). Una problemática de tratamientos más largos es el rápido incremento de peso corporal durante este período, lo cual dificulta la dosificación ya que aún no existen presentaciones pediátricas de estos medicamentos (Sosa-Estani *et al.*, 2005).

En cuanto a los efectos adversos vistos en adultos, estos no han sido detectados en tratamientos con Benznidazol y raramente al utilizar el Nifurtimox (Blanco *et al.*, 2000). Respecto a la eficacia de la terapia, se sabe que es alrededor del 90 al 100% cuando el tratamiento es realizado antes del primer año de vida (Carlier y Torrico, 2003; Schijman *et al.*, 2003). La serología negativa es necesaria para confirmar la cura, siendo vital que se realice entre 3 – 16 meses luego del tratamiento (Chippaux *et al.*, 2010). En el uso del PCR convencional o del PCR en tiempo real podrían disminuir este tiempo de espera, pero es un hecho que debe tener mayor estudio (Schijman *et al.*, 2003; Burgos *et al.*, 2009).

III. HIPÓTESIS

- Existen diferencias en la incidencia de la infección congénita por *T.cruzi* entre recién nacidos a término y recién nacidos prematuros (< 37 semanas de gestación).

IV. OBJETIVO GENERAL

Determinar la incidencia de Transmisión Congénita del *T. cruzi* en los hijos de las madres derivadas al Hospital de La Serena por parto prematuro desde la Provincia del Choapa, entre los años 2005 – 2009.

V. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir el número de mujeres con serología positiva a *T.cruzi* durante el periodo de estudio, a través de la revisión de sus fichas clínicas o por serología convencional (ELISA e IFI).
- Recopilar la información obtenida durante el parto de los RN prematuros, tomando en cuenta el test de APGAR como un valor predictivo en la sobrevivencia y la salud del neonato.
- Analizar si existen diferencias estadísticas en la tasa de infección congénita por *T. cruzi* entre RN prematuros y RN no prematuros nacidos durante el periodo analizado.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

A) Grupo de estudio y control

El grupo de estudio estuvo conformado por 90 madres y sus hijos, procedentes de la Provincia del Choapa (Illapel, Los Vilos, Canela y Salamanca), cuyo parto ocurrió en el Hospital de La Serena entre los años 2005-2009. El análisis sobre la condición serológica de las madres se hizo mediante la revisión de los libros de exámenes en cada centro asistencial, requiriendo la obtención de muestras biológicas en los casos en que dicha información fue desconocida. La condición de infección chagásica en las madres sin antecedentes fue determinada mediante la detección de anticuerpos contra el *T. cruzi* a través de las técnicas serológicas de ELISA e IFI IgG. Se realizó ELISA, IFI IgG y PCR en los hijos de las madres cuyos antecedentes previos o exámenes confirmen la infección chagásica.

El grupo control estuvo conformado por binomios madre – hijo elegidos al azar, originarios de la Provincia del Choapa, y cuyos partos ocurrieron durante el periodo analizado. A diferencia del grupo de estudio, los antecedentes de dichos binomios ya fueron obtenidos previamente como parte del proyecto piloto llevado a cabo en la región desde el año 2005 (Proyecto FONDECYT 1080445).

B) Revisión de fichas clínicas

Se realizó una revisión de las fichas clínicas de los hijos y las madres derivadas en busca de los antecedentes recopilados durante el parto y el periodo post-parto, determinando sus APGAR y la presencia o ausencia de manifestaciones clínicas durante el período en que fueron evaluados en el Hospital de la Serena.

C) Obtención de muestras biológicas

Las muestras de sangre periférica, en el caso de las madres sin serología e hijos de madres con la infección chagásica confirmada, fueron obtenidas mediante punción venosa. En el caso de las muestras para serología, se obtuvo el suero, el cual

fue mantenido a -20 °C hasta su uso. Las muestras destinadas para PCR fueron recibidas en tubos que contenían igual volumen de Guanidina-HCl 6M y EDTA 0.2 M (preservante y anticoagulante respectivamente).

D) Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta

Esta reacción detecta la existencia de anticuerpos IgG dirigidos contra *T. cruzi*, utilizándose como antígeno formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepa Tulahuén), las que fueron cultivadas en medio Diamond suplementado con 5% de SFB y mantenidas a 28°C. La cosecha se realizó durante la fase exponencial de crecimiento por centrifugación a 500g por 10 min. a 4°C. Se consideró como reacción positiva el título que fue igual o mayor a 1/20. Como conjugado se utilizará Fluoline G Globulina de cabra anti IgG humana marcada con Isocianato de Fluoresceína (BioMerieux, Ref. 75692).

E) Reacción de ELISA

Esta reacción detecta la existencia de anticuerpos IgG contra *T. cruzi*. Se efectuará utilizando como antígeno formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepa Tulahuén). Se usaron 5 µg de antígeno por pocillo. La determinación de densidad óptica (DO) se realizó en lector automático Dynatech a 490 nm. El límite discriminativo de positividad se calculó como el producto de la media aritmética de los controles negativos más 3 desviaciones estándar (Zulantay, *et al.*, 1998).

F) Técnica de PCR

Todas las muestras fueron incubadas a 98°C por 15 min para favorecer el desencadenamiento de la red de minicírculos de *T. cruzi* y se conservaron a -20°C. Posteriormente, se realizó la extracción y purificación del ADN mediante el kit Jetquick de GENOMED.

Se desarrolló de acuerdo a la técnica descrita por Solari *et al.* (2001). La mezcla de reacción estuvo compuesta por 5 µl de la muestra de ADN purificada, 2 µl de los oligonucleótidos 121 (5'-AAATAATGTACGGG (T/G) GAGATGCATGA3') y 122

(5'GGTTCGATTGGGGTTGGTGTAAATATA-3'), a una concentración de 25 μ M, 10 μ l de buffer de Taq polimerasa (Tris-HCl pH 8,8 67 mM, 16,6 mM de (NH₄)₂SO₄, 6,7 mM de MgCl₂, 10 mM 2-Mercaptoetanol), 0,5 μ l de BSA, 1 μ l (0,4 mM) de los cuatro dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 29 μ l de agua bidestilada para un volumen final de 50 μ l, además de 4 U Taq polimerasa (0,5 μ l).

La reacción de PCR se compone de: un ciclo inicial de 98°C por 2 minutos, otro de 1 minuto a la misma temperatura, luego 64°C por 1 minuto y finalmente 2 minutos a 72°C; 33 ciclos intermediarios de 94°C por 1 minuto, 64°C por 1 minuto y 72°C por 2 minutos; y un ciclo final de 72°C por 10 minutos. La prueba se realizará en un termociclador PTC-100. Luego, 10 μ l del amplificado se mezcló con 4 μ l de buffer de carga que contiene xilencianol y azul de bromofenol y se sometió a electroforesis durante 90 minutos a 115 volts en gel de agarosa al 2% en buffer Tris Borato EDTA 1x. Se utilizó como control marcador de 100 pb. El gel fue teñido con bromuro de etidio (10 μ g/ml) por 10 minutos y luego fotografiado.

G) Análisis Estadístico

Los resultados fueron evaluados utilizando las pruebas de diferencias en las tasas de infección entre el grupo en estudio y el grupo control, considerando un error máximo de un 5%. Para evaluar si existen diferencias significativas entre las frecuencias en ambos grupos para la variable en estudio, se utilizó el estadístico Chi- cuadrado (χ^2).

En este caso, la hipótesis nula será aceptada cuando el valor de X^2 sea mayor o igual al valor determinado en la tabla de distribución para la prueba (error de un 5%). Las hipótesis a comprobar son:

H_0 : No existen diferencias significativas en cuanto al porcentaje de positividad a *T. cruzi* entre los recién nacidos prematuros (grupo de estudio) y los recién nacidos de término (grupo control).

H_1 : Existen diferencias significativas en cuanto al porcentaje de positividad a *T. cruzi* entre los recién nacidos prematuros (grupo de estudio) y los recién nacidos de término (grupo control).

Dado que el estudio buscó la presencia o ausencia de la infección congénita por *T. cruzi* en los RN prematuros, la variable en estudio será la serología positiva o negativa de los hijos de ambos grupos.

VII. RESULTADOS

A) Grupo de Estudio

a. Madres

TABLA 1. SITUACIÓN SEROLÓGICA DE 132 MUJERES DE LA PROVINCIA DEL CHOAPA, DERIVADAS POR PREMATURIDAD AL HOSPITAL DE LA SERENA, RESPECTO A LA INFECCIÓN POR *T.cruzi* (2005 – 2009).

Localidad	Serología			Total
	Negativa	Positiva	Desconocida	
Canela	15	5	13	33
Illapel	31	1	8	40
Los Vilos	22	0	13	35
Salamanca	13	1	10	24
Total	81	7	44	132

En la Tabla 1, se detallan los resultados obtenidos luego de la revisión de los antecedentes y la obtención de muestras en las 132 mujeres. Se puede señalar lo siguiente:

- Se determinó la situación respecto a la infección por *T. cruzi* en 88 de las 132 mujeres, correspondiendo al 66,66% del total.
- Se comprobó la ausencia de la infección en 81 mujeres (61,36%). Respecto a las positivas, se diagnosticó la presencia de la infección en 7 mujeres (5,3% del total).

- La mayor parte de los datos fue obtenida a través de la revisión de los antecedentes previos en las fichas clínicas, siendo escasa la información obtenida al intentar rastrear a las pacientes en cada localidad.

Con la información obtenida sobre la situación de estas mujeres, se calculó una Tasa de infección por *T.cruzi* de un 7,95%, tomando en cuenta solo los casos en los que se logró determinar la ausencia o presencia de la infección.

b. Hijos

TABLA 2. SITUACIÓN SEROLOGICA DE 143 NIÑOS PREMATUROS DE LA PROVINCIA DEL CHOAPA, NACIDOS EN EL HOSPITAL DE LA SERENA, RESPECTO A LA INFECCIÓN POR *T. cruzi* (2005 – 2009).

Localidad	Serología			Total
	Negativa	Positiva	Desconocida	
Canela	18	1	15	34
Illapel	37	0	9	46
Los Vilos	26	0	13	39
Salamanca	13	0	11	24
Total	94	1	48	143

La Tabla 2, muestra los resultados obtenidos al investigar la situación de los hijos respecto a la infección chagásica. En cuanto a esta información, se puede destacar lo siguiente:

- Mediante la revisión de la situación materna, se descartó la infección chagásica en 91 de los 143 hijos, correspondiendo al 63,63% del total.

- Luego de rastrear a los hijos de las madres con serología positiva, se confirmó la ausencia de la infección en 3 niños más, siendo un total 94 los hijos sin infección chagásica (65,73%).
- A través de la serología y del estudio por PCR, se diagnosticó la infección en 1 de los 7 casos probables, correspondiendo al 0,69% de los RN.
- No se pudo comprobar o descartar la infección en 2 de los 7 hijos de las madres chagásica. En uno de los casos hubo problemas en el rastreo, mientras que en el otro no se pudo analizar la situación del hijo por cambio de la madre a otra región durante el periodo en estudio.

Con esta información, y tomando en cuenta sólo a los hijos en que se pudo confirmar la infección de la madre, se logró determinar una incidencia de la infección congénita de un 14,28%.

B) Revisión de Fichas Clínicas

TABLA 3. PUNTAJES EN LA ESCALA APGAR (5 Y 10 MINUTOS) DE 143 NIÑOS PREMATUROS, NACIDOS EN EL HOSPITAL DE LA SERENA (2005 – 2009).

APGAR	Tiempo	
	1 minuto	5 minutos
0 a 3	4	3
4 a 7	29	10
8 a 10	104	124
Sin Antecedente	6	-
Total	143	143

En la tabla 3, se muestra los resultados en la Escala APGAR de los RN del grupo en estudio. Según esta escala, la división en puntaje permite ver las condiciones del neonato como a su vez las medidas a tomar si es que son requeridas. Respecto a esta información se puede destacar lo siguiente:

- 104 de los 143 RN presentaron un puntaje entre 8 y 10 en la primera medición, representando un 72,72% del total, aumentando a 124 a los 5 minutos (86,71%). Este puntaje se considera como normal, no siendo necesaria medidas de soporte vital (Ej. Oxigenación, reanimación). Respecto a los hijos de las madres positivas al *T.cruzi*, 6 de los 7 presentaron puntajes en este rango.
- 29 de los RN presentaron un puntaje entre 7 a 4 (20,27%) en la primera medición, disminuyendo a 10 en la siguiente prueba (6,99%). En este rango se encuentra uno de los hijos de las mujeres infectadas por el *T.cruzi*, en cuyo caso fue necesario la reanimación, como a su vez la internación en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN).
- Solo 4 de los niños presentaron un APGAR entre 0 y 3 (2,79%), usándose en estos casos los mayores cuidados y las medidas más radicales para salvar la vida del neonato. Al revisar los antecedentes posteriores, se comprobó que 3 de estos 4 niños murieron durante el periodo neonatal (primeras 4 semanas de vida).

Durante esta revisión, se verificó la muerte de 4 niños durante el periodo neonatal (2,79%), ninguno de ellos hijos de las madres con serología positiva a *T.cruzi*.

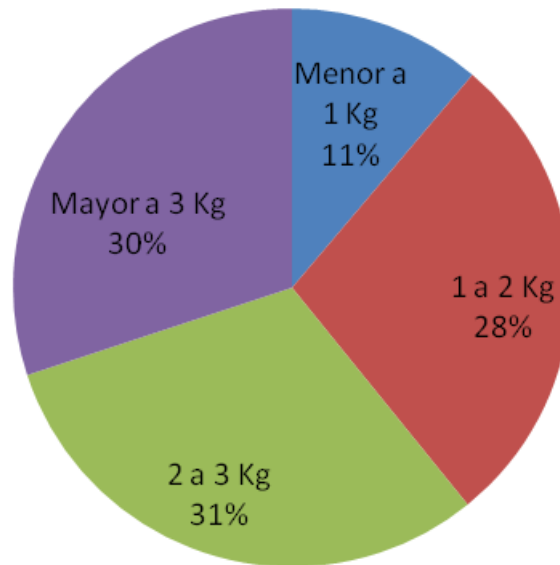


Figura 1. Peso al Nacimiento (Kg) de 143 niños prematuros, nacidos en el Hospital de La Serena (2005 – 2009).

Al igual que la escala APGAR, el peso del RN nacimiento es un valor predictivo tanto en el pronóstico del RN como, a su vez, de las medidas necesarias para asegurar su sobrevivencia (Hubnër y Ramírez, 2002). Respecto a los datos se puede mencionar lo siguiente:

- 16 de los 143 RN presentaron un peso menor a 1 Kg, considerándose un indicador de prematuridad extrema (Hubnër y Ramírez, 2002). En el caso de los hijos de madres chagásicas, dos se encuentran en la categoría. Es importante destacar que uno de ellos fue el de menor APGAR (entre 3 a 7), además de ser quien no pudo ser rastreado durante el estudio, desconociéndose si presenta o no la infección.
- El mayor porcentaje de los niños presentaron peso de 2 Kg o mayor, siendo un resultado concordante con los valores en la escala APGAR vistas en este grupo. Es importante destacar que 5 de los 7 hijos de madres chagásicas se encuentran en esta categoría, incluido el único caso diagnosticado como positivo.

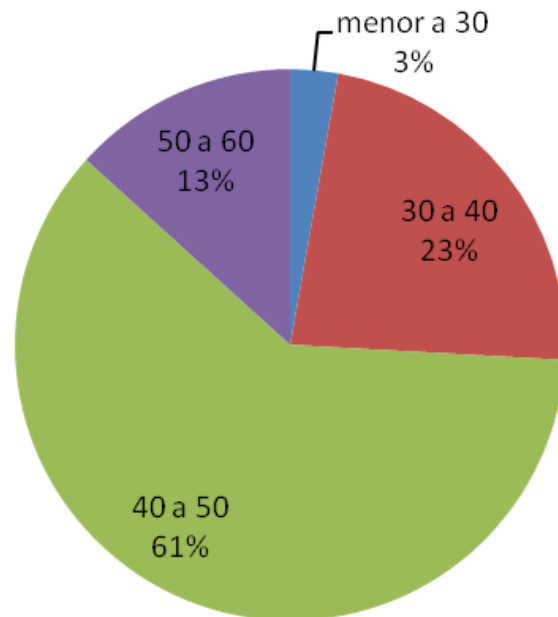


Figura 2. Altura al Nacimiento (Cm) de 143 niños prematuros, nacidos en el Hospital de La Serena (2005 – 2009).

Aunque no tiene la importancia del peso como indicador de sobrevida, el tamaño al nacimiento se relaciona con el tamaño en la adolescencia, y con la salud futura del neonato. Respecto a estos resultados se puede comentar lo siguiente:

- El mayor porcentaje de los RN se encuentra entre los 40 a 50 cm, cercanos al valor considerado como promedio (50 cm) (Hubnër y Ramírez, 2002). Esto es concordante con los valores de APGAR y peso al nacimiento.
- Respecto a los hijos de madres chagásicas, 5 de los 7 se encuentra entre los 40 a 50 cm de tamaño mientras 2 de ellos se están en el rango de los 30 a 40 cm, los mismo que presentaron los menores pesos (menor a 1 Kg), considerándose ambos prematuros extremos.

■ Hidrocefalia ■ Infección ocular ■ Cardiopatía

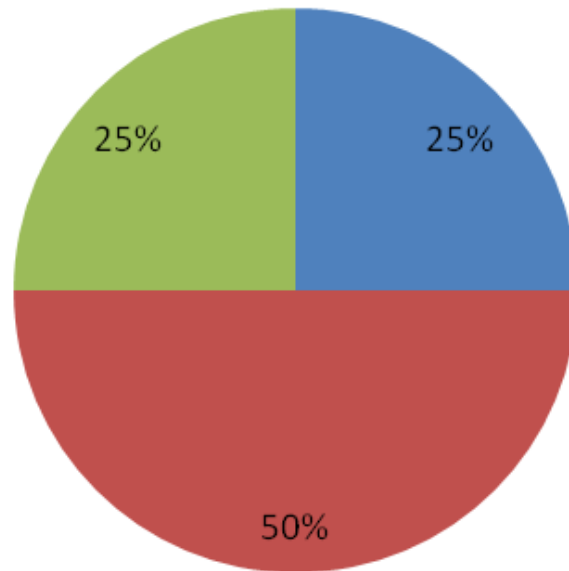


Figura 3. Alteraciones Patológicas al Nacimiento en 143 niños prematuros, nacidos en el Hospital de La Serena (2005 – 2009).

Un total de 4 RN presentó alteraciones patológicas al nacer. Es importante destacar que 3 de ellos son hijos de madres cuya situación serológica respecto al *T.cruzi* es desconocida. En el caso particular del RN con cardiopatía, la madre fue confirmada como negativa a la infección durante el estudio. La infección ocular es un signo que puede asociarse a los casos de enfermedad de Chagas Congénita. Sin embargo, se considera que es una enfermedad inespecífica, existiendo signos más comunes de ver que la infección ocular (Ej. Esplenomegalia) (Moretti *et al.* 2006).

VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

TABLA 4. TABLA DE CONTINGENCIA

Serología cruzada entre los hijos del grupo en estudio (prematuros) y del grupo control (no prematuros).

		Grupo		Total
		Estudio	Control	
Serología	Negativo	6	141	145
	%	85,7%	95,9%	95,4%
	Positivo	1	6	7
	%	14,3%	4,1%	4,6%
Total		7	147	154
%		100,0%	100,0%	100,0%

En el grupo en estudio (hijos prematuros) un 14,3% de los niños nacidos de madres infectadas fueron positivos al *T.cruzi*, en cambio en el grupo control (hijos no prematuros) un 4.1% fue positivo, sin diferencias estadísticamente significativas ($X^2=2,789$).

El inconveniente en este caso fue la alta frecuencia de casos positivos a *T. cruzi* en el grupo control, en relación al grupo en estudio, dado que el primero estaba compuesto exclusivamente por madres serológicamente positivas, mientras que el grupo de estudio cuenta con madres positivas y negativas, siendo 7 los hijos en que se determinó la ausencia o presencia de la infección.

Se decidió realizar una tabla de contingencia entre un grupo control con 15 hijos no prematuros y un grupo de estudio con los 7 hijos prematuros nacidos de mujeres chagásicas. Al ser grupos muy pequeños para utilizar la prueba de X^2 , se utilizó el

estadístico exacto de Fisher cuyo valor debe ser $\geq 0,5$ para aceptar que existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

TABLA 5. TABLA DE CONTINGENCIA

Serología cruzada entre los hijos del grupo en estudio (prematuros) y del grupo control (no prematuros) (7 x 15).

			Grupo		Total
			Estudio	Control	
Serología Hijo	Negativo	Recuento	6	14	18
		%	85,7%	93,3%	90,0%
	Positivo	Recuento	1	1	2
		%	14,3%	6,7%	10,0%
Total		N ^a	7	15	22
		%	100,0%	100,0%	100,0%

En el grupo control, 1 de cada 15 niños tuvo serología positiva al *T.cruzi* (6,7%), mientras que en el grupo en estudio, 1 de cada 7 niños fue positivo a la infección (14,3%). A pesar de la diferencia numérica, se comprobó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control (hijos no prematuros) y el grupo en estudio (hijos prematuros) en relación al porcentaje de positividad a *T.cruzi* ($p= 0,447$).

IX. DISCUSIÓN

El objetivo principal de esta memoria de título fue determinar la situación respecto a la infección chagásica de 132 mujeres y sus hijos durante el periodo en estudio (2005 – 2009), las cuales fueron derivadas al Hospital de La Serena luego de ser diagnosticadas como prematuras en los distintos hospitales de la Provincia del Choapa, IV región de Chile.

Respecto a la prevalencia de la infección chagásica en mujeres embarazadas o en edad fértil, distintos estudios la sitúan entre el 1 y 18%, dependiendo de la metodología diagnóstica utilizada y de las características epidemiológicas del lugar en estudio (Schenone *et al.*, 1989). El estudio piloto, realizado en la Provincia del Choapa, del cual deriva esta memoria, entregó una prevalencia de la infección chagásica para mujeres en edad fértil de un 3,7% durante el periodo 2005 - 2008, consistente con otros estudios realizados en la misma localidad (Apt *et al.*, 2010), mientras que trabajos realizados por los estos investigadores, entre los años 2005 – 2007, calcularon una prevalencia estimada para mujeres en edad fértil del 4,9% (Godoy *et al.*, 2008). Esto es consistente con lo encontrado en esta memoria, en donde la tasa de infección estimada fue de un 7,95%, lo cual se encuentra dentro de los valores esperados tomando en cuenta que corresponden a mujeres provenientes de una región endémica de la enfermedad, respaldado por los resultados de investigaciones llevadas a cabo con anterioridad. El control del vector *T. infestans* ha provocado una disminución en la prevalencia de la infección chagásica durante la última década, lo que no disminuye la importancia de la transmisión congénita, problema de salud pública que se estima se mantendrá al menos 30 años más (Schofield *et al.*, 2006).

En cuanto a la incidencia de la transmisión congénita de *T. cruzi*, está definida como el número de casos congénitos respecto al número de madres infectadas. Se han visto tasas que van desde 1 a 12% según diferentes estudios, dependiendo de factores como la metodología y la situación epidemiológica de cada país o región (Carlier y Torrico, 2003). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), durante el año 2005 ocurrieron 14.385 casos de infección congénita en Latinoamérica, de los cuales 445 corresponderían a Chile, concentrándose la mayoría de los casos en países como Bolivia,

Argentina y Brasil (Carlier y Truyens, 2010). Estudios realizados en la década de los 80 en Chile, específicamente en Santiago, mostraron una incidencia de entre un 11 al 18%, siendo valores por encima de las tasas esperadas actualmente (Tello *et al.*, 1982). Por el contrario, resultados preliminares del estudio piloto llevado a cabo en la Provincia del Choapa, mostraron una incidencia preliminar de un 2.5%, teniendo en cuenta que fue realizado en un área endémica de la infección (Apt *et al.*, 2010). Esta diferencia se puede deber al uso de distinta metodología, como también por la tendencia a la baja en las tasas de infección congénita durante las últimas décadas, lo cual puede deberse al control vectorial implementado durante este periodo (Carlier y Truyens., 2010). Estudios seriados durante 1992-1994 y 2004-2005, efectuados por el mismo investigador en Bolivia, encontraron incidencias de un 1,4% y un 0,3% respectivamente, demostrando la tendencia a la baja en la incidencia (Torrice *et al.*, 2007).

Luego de obtener los resultados de esta memoria, se evidencio una incidencia para la transmisión congénita de un 14,28%, muy por encima de los resultados previos obtenidos en el resto del estudio piloto. Sin embargo, al hacer el análisis estadístico, se comprobó que no existen diferencias en las incidencias entre este grupo y uno control elegido dentro de las mujeres del plan piloto. Uno de los inconvenientes en este caso es el bajo número de mujeres estudiadas en esta memoria, dado que se trata sólo de las diagnosticadas con partos prematuros.

En relación a esto, desde el año 2011 el Ministerio de Salud (MINSAL) agrego, dentro de su vigilancia epidemiológica de la Enfermedad de Chagas, a los casos congénitos bajo la definición de transmisión trasplacentaria (MINSAL., 2011). Esto abre nuevas posibilidades en el futuro en cuanto al estudio de la infección congénita en prematuros, dado que un plan a nivel nacional tendrá una gran cantidad de datos, permitiendo un estudio a nivel poblacional con una mayor extensión en sus conclusiones, en especial si existen reales diferencias en la incidencia de este tipo de transmisión entre niños prematuros y niños a término. A pesar de que se tiene certeza de los efectos que tiene la infección chagásica materna en la placenta, aún no es clara la importancia de *T.cruzi* en la génesis de RN prematuros.

En sus investigaciones, Howard (1962) vio una relación entre la enfermedad de Chagas congénita y la prematurez, y señaló que la infección sería más frecuente en los

recién nacidos prematuros. Otros investigadores, como es el caso de Moya *et al.*, (2005), proponen que el *T. cruzi* no produciría trastornos en el crecimiento intrauterino del feto, concluyendo que la mayor parte de los RN serían a término. Respecto al tema, el MINSAL (2010) señala en sus guías clínicas que el parto prematuro es considerado un síndrome, con múltiples etiologías que desencadenan o facilitan la manifestación de partos a pretérmino, considerándose como una entidad que depende de una gran variedad de factores maternos, ambientales y del feto. Por ello es de suma importancia la vigilancia epidemiológica de la transmisión congénita, ya que permitiría realizar estudios a largo plazo con conclusiones contundentes sobre el tema.

Dado que existe una estimación del número de partos durante el periodo del plan piloto, contando los de término y los considerados prematuros, se puede hacer una estimación de la tasa de prematurez en esta población. Según los resultados del plan piloto, ocurrieron 3778 partos entre el año 2005 – 2008, de los cuales 108 partos fueron considerados prematuros, por lo que la tasa estimada es de 2,85%, mientras que los datos del MINSAL hablan de una tasa estimada del 6% en la última década (MINSAL, 2010). Respecto a los prematuros de muy bajo peso al nacimiento (RNMBP), que considera a los RN con menos de 1.5 Kg de peso (prematurez extrema), en esta población se calcula que 8 de cada 1000 niños presentan esta condición, siendo la estimación nacional 10 de cada 1000 niños. Por lo tanto, la tasa de prematurez estaría por debajo del índice nacional y similar en el caso de los prematuros extremos.

Respecto a las estimaciones del APGAR, en el estudio se vio un alto porcentaje de valores sobre 8 en este test (86,71%), lo cual se considera un buen antecedente de sobrevida y de salud durante el primer año de vida del infante. Según Hübner y Juárez (2002), este Test sigue considerándose válido para estimar el pronóstico de sobrevida tanto en recién nacidos como en prematuros, afirmando que una puntuación mayor a 3 es de buen pronóstico, mientras que puntuaciones inferiores son consideradas malas, con bajas tasas de sobrevida en el periodo neonatal, más aun cuando se mantiene el valor bajo en las mediciones sucesivas. En el caso particular de los prematuros en esta memoria, solo 3 niños mantuvieron un APGAR menor a 3 durante ambas mediciones, los cuales murieron durante el periodo neonatal. En cuanto al peso de nacimiento, es un dato que necesariamente debe ser evaluado en conjunto con las semanas de gestación para usarlo como predictor de sobrevida y crecimiento (Hübner y Ramírez, 2002). Se

desconoce mayores datos sobre la edad gestacional de los RN, por lo que no se puede usar como un predictor de salud neonatal ni de sobrevida, pudiéndose evaluar en el caso de los RNBP, los que estarían en una tasa similar a la Nacional (0,8%).

Cabe mencionar que la talla al nacimiento no se considera un predictor de sobrevida, pero sí como uno de salud en la niñez y en la adolescencia (Hübner y Ramírez, 2002). Al igual que el caso del peso, es necesario confrontarla con las semanas de gestación, por lo cual no es posible sacar mayores conclusiones con los datos manejados.

Un punto de discusión en esta memoria sería el alto número de pacientes en el que no se logró determinar su condición respecto a la infección chagásica (33,34%). Esto se podría explicar en parte porque son mujeres que no fueron contadas en el plan piloto, por lo cual no existía una metodología de seguimiento a nivel de los hospitales, encargados de obtener las muestras del binomio madre-hijo durante el nacimiento, metodología que no se pudo llevar a cabo en estas 132 mujeres por su derivación a un hospital fuera del área de estudio. Las revisiones de las fichas clínicas en cada centro asistencial fueron la mayor fuente de información para la situación serológica en las madres, debido a la escasa cantidad de mujeres en que se logró realizar el seguimiento y la obtención de una muestra para realizar los exámenes convencionales. A su vez, durante el tiempo en que se desarrolló esta memoria aún no existían normas ministeriales que obligaran a realizar exámenes para detectar a *T.cruzi* en las mujeres embarazadas, por lo cual no existía la información de muchas pacientes a pesar de llevar varios embarazos en la Provincia. Durante la revisión de las fichas clínicas y los libros de exámenes, se vio una alta heterogeneidad en la información manejada, pues algunos hospitales poseen bases de datos digitalizadas, mientras que en otros, las fichas son guardadas y archivadas, algunas extraviadas durante el periodo en estudio (como lo fue en el caso de las pacientes con partos en el año 2005).

La decisión del MINSAL, al iniciar una vigilancia epidemiológica que cuente con la información a nivel nacional de las tasas de infección congénita, es una medida acorde a la perspectiva actual, al ser la única manera de conocer la situación real de la transmisión trasplacentaria en nuestro país, tomando como punto de partida los resultados del plan piloto en la Provincia del Choapa,

X. CONCLUSIONES

- Mediante el presente estudio se logró rescatar información desconocida de mujeres embarazadas durante el periodo de estudio, permitiendo descartar la infección chagásica en su mayoría (81), mientras que en 7 se confirmó la presencia de *T.cruzi*. El conocimiento de estos casos modificó las estimaciones del plan piloto original, además de posibilitar el tratamiento de las mujeres infectadas como parte de la fase siguiente del plan.
- En cuanto al único hijo en quien se confirmó la transmisión vertical de *T.cruzi*, se logró hacer un rastreo de su situación y la de su madre, entrando ambos en el plan de tratamiento aplicado desde el año 2010.
- A pesar de que existe una diferencia en la tasa de infección congénita por *T. cruzi* entre los niños prematuros y los a término, mediante el análisis estadístico posterior se comprobó que no es una diferencia significativa.
- Los datos de mayor valor para el estudio fueron los recopilados en los centros hospitalarios, siendo escasa la información que se obtuvo a través de las tomas de muestras biológicas, principalmente por la pérdida de pacientes y la ausencia a los Hospitales de la comuna de las personas que lograron ser citadas.

XI. BIBLIOGRAFÍA

AKINBI, H. T; NARENDRAN, V; PASS, A. K; MARKART, P; HOATH, S. B. 2004. Host defense proteins in vernix caseosa and amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 191(6); 2090–2096.

ALTCHEH, J; BIANCARDI, M; LAPENA, A; BALLERING, G; FREILIJ, H. 2005. Congenital Chagas disease: experience in the Hospital de Niños Ricardo Gutierrez, Buenos Aires, Argentina. *Rev Soc Bras Med Trop* 38; 41 - 45

ALTEMANI, A.M; BITTENCOURT, A.L; LANA, A.M. 2000. Immunohistochemical characterization of the inflammatory infiltrate in placental Chagas disease: a qualitative and quantitative analysis. *Am J Trop Med Hyg* 62(2); 319 – 324.

ANDRADE, A; GONTIJO, E. 2008. Neonatal Screening for congenital Chagas infection: application of latent class analysis for diagnostic test evaluation. *Rev Soc Bras Med Trop* 41; 615 – 620.

APT, W.; HEITMANN, I.; JERCIC, M.; JOFRE, L.; MUÑOZ, P.; HAUCK, I.; SAN MARTIN, A.; SAPUNAR, J.; TORRES, M.; ZULANTAY, I. 2006. Prevención y control de la enfermedad de Chagas. Guías clínicas de la enfermedad de Chagas. [En línea]. Comité de Parasitología, Departamento de Enfermedades emergentes y re-emergentes, Ministerio de Salud. 30 pág. <http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-10182008000300008&script=sci_arttext> [Consulta 25 – 07 – 2010]

APT, W.; ZULANTAY, I.; SOLARI, A.; ORTIZ, S.; ODDO, D.; CORRAL, G.; TRUYENS, C.; CARLIER, Y. 2010. Vertical transmission of *Trypanosoma cruzi* in the Province of Choapa, IV Region, Chile. Preliminary Report (2005 – 2008). Bios Res 43(3); 269 – 274.

AZNAR, C; LOPEZ-BERGAMI, P; BRANDARIZ, S; MARIETTE, C; LIEGEARD, P; ALVES, M.D. 1995, Prevalence of anti-R-13 antibodies in human *Trypanosoma cruzi* infection. FEMS Immunol Med Microbiol 12(3 – 4); 231 – 238.

AZOGUE, E; LA FUENTE, C; DARRAS, C. 1985. Congenital Chagas disease in Bolivia: epidemiological aspects and pathological findings. Trans R Soc Trop Med Hyg 79(2); 176 – 180.

AZOGUE, E; DARRAS, C. 1995. Congenital Chagas in Bolivia: comparative study of the effectiveness and cost of diagnostic methods. Rev Soc Bras Med Trop 28(1); 39 – 43.

BENIRSCHKE, K; KAUFMANN, P; BAERGEN, R. 2006. Pathology of the Human Placenta [En Línea]. 5ta ed. Springer, New York. <<http://www.springerlink.com/content/978-0-387-26738-8#section=443263&page=1>>[Consulta: 18-11-2011]

BIGGAR, R.J; LEE, T.H; WEN, L; BROADHEAD, R; KUMWENDA, N; TAHA, T.E. 2008. The role of transplacental microtransfusions of maternal lymphocytes in HIV transmission to newborns. AIDS 22; 2251 – 2256.

BITTENCOURT, A.L. 1988. American trypanosomiasis (Chagas disease). In: Mclead, C. (Ed.). Parasitic infections in pregnancy and the Newborn. Oxford University Press. Oxford; 62 – 86.

BITTENCOURT, A.L. 1992. Possible risk factors for vertical transmission of Chagas disease. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 34(5); 403 – 408.

BLANCO, S.B; SEGURA, E.L; CURA, E.N; CHUIT, R; TULIAN, L; FLORES, I. 2000. Congenital Transmission of *Trypanosoma cruzi*: an operational outline for detecting and treating infected infants in north-western Argentina. *Trop Med Int Health* 5(4); 293- 301.

BOTTO-MAHAN, C; SEPULVEDA, M; VIDAL, M; ACUÑA-RETAMAR, M; ORTIZ, S; SOLARI, A. 2008. *Trypanosoma cruzi* infection in the sylvatic kissing bug *Mepraia gajardoi* from the Chilean Southern Pacific Ocean coast. *Acta Trop* 105(2); 166-169.

BRENIERE, S.F; BAILLY, M; CARRASCO, R; CARLIER, Y. 1983. Transmission transplacentaire des anticorps anti- *Trypanosoma cruzi*. *Cah ORSTOM Ser Ent Med Parasitol* 21(3); 139 – 140.

BRENIERE, S.F; YAKSIC, N; TELLERIA, J; BOSSENO, M.F; NOIREAU, F; WINCKER, P. 1997. Immune response to *Trypanosoma cruzi* shed acute phase antigen in children from an endemic area for Chagas disease in Bolivia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 92(4); 503-507.

BRUTUS, L; SCHNEIDER, D; POSTIGO, J; ROMERO, M; SANTALLA, J; CHIPPAUX, J. 2008. Congenital Chagas disease: Diagnostic and clinical aspects in an area without vectorial transmission, Bermejo, Bolivia. *Acta Tropica* 106(3); 195 – 199.

BUEKENS, P; ALMENDARES, O; CARLIER, Y; DUMONTEIL, E, EBERHARD, M; GAMBOA-LEON, R. 2008. Mother-to-Child transmission of Chagas disease in North America: why don't we do more?. *Matern Child Health J* 12(3); 283- 286.

BURGOS, J.M; ALTCHER, J; BISIO, M; DUFFY, T; VALADARES, H.M; SEIDENSTEIN, M.E. 2007. Direct molecular profiling of minicircle signatures and lineages of *Trypanosoma cruzi* bloodstream populations causing congenital Chagas disease. *Int J Parasitol* 37(12); 1319- 1327.

BURGOS, J.M; ALTCHER, J; PETRUCELLI, N; BISIO, M; LEVIN, M.J; FREILIJ. 2009. Molecular diagnosis and treatment monitoring of congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* to twins of a triplet delivery. *Diagn Microbiol Infect Dis* 65(1); 58 – 61.

CARLIER, Y; PINTO DIAS, J.C; LUQUETTI, A; HONTEBEYRIE, M; TORRICO, F; TRUYENS, C. 2002. Trypanomiase américaine ou maladie de Chagas. SAS Elsevier, Editions Scientifiques et Médicale; 21.

CARLIER, Y. 2005. Factors and mechanisms involved in the transmission and development of congenital infection with *Trypanosoma cruzi*. *Rev Soc Bras Med Trop* 38; 105 -107.

CARLIER, Y; TORRICO, F. 2003. Congenital infection with *Trypanosoma cruzi* from mechanism of transmission to strategies for diagnosis and control. *Rev Soc Bras Med Trop* 36(6); 767 – 771.

CARLIER, Y; TRUYENS, C. 2010. Maternal-fetal transmission of *Trypanosoma cruzi*. **In:** Telleria J, Tibayrenc M, editors. American trypanosomiasis: Chagas disease, one hundred years of research. UK, USA: Elsevier; 539–581.

CARLIER, Y; TRUYENS, F; SOSA-ESTANI, S; RUSSOMANDO, G; LUQUETTI, A, FREILIJ, H. ALBAJAR, P.2011. Congenital Chagas Disease: Recommendations for Diagnosis, Treatment and Control of Newborns, Siblings and Pregnant Women. PLoS Negl Trop Dis 5(10); e1250.

CARRILERO, B; QUEZADA, J; ALFAYATE, S; SEGOVIA, M. 2009. Congenital Chagas disease in a newborn of a Bolivian mother. Enferm Infecc Microbiol Clin 27(8); 486- 487.

CHIPPAUX, J; CLAVIJO, A; SANTALLA, J; POSTIGO, J, SCHNEIDER, D; BRUTUS, L. 2010. Antibody drop in newborns congenitally infected by *Trypanosoma cruzi* treated with benznidazole. Trop Med Int Health 15(1); 87- 93.

CORRALES, R; MORA, M; NEGRETTE, O; DIOSQUE, P; LACUNZA, D; VIRREIRA, M. 2009. Congenital Chagas disease involves *Trypanosoma cruzi* sub-lineage IId in the northwestern province of Salta, Argentina. Infect Genet Evol 9(2); 278- 282.

COSTA-PINTO, E; ALMEIDA, E; FIGUEIREDO, D; BUCARETCHI, F; HESSEL, G. 2001. Chagasic megaesophagus and megacolon diagnosed in childhood and probably caused by vertical transmission. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 43(4); 227- 230.

CUNA, W; CHOQUE, A; PASSERA, R; RODRIGUEZ, C. 2009. Pro-inflammatory cytokins production in chagasic mothers and their uninfected newborns. J Parasitol 95(4); 891 – 894.

DAUBY, N; ALONSO-VEGA, C; SUAREZ, E; FLORES, A; HERMANN, E; CORDOVA, M. 2009. Maternal infection with *Trypanosoma cruzi* and Congenital Chagas disease induce a trend to a type 1 polarization of infant immune responses to vaccines. PLoS Negl Trop Dis 3(12); e571.

DRUT, R; ARAUJO, M. 2000. Image analysis of nucleomegalic cells in Chagas disease placentitis [En línea]. Placenta, Vol. 21, 280 – 282 <http://www.mendeley.com/research/image-analysis-of-nucleomegalic-cells-in-chagas-disease-placentitis-1/> [Consulta: 15-11-2011]

FALLA, A; HERRERA, C; FAJARDO, A; MONTILLA, M; VALLEJO, G; GUHL, F. 2009. Haplotype identification within *Trypanosoma cruzi* I in Colombian isolates from several reservoirs, vectors and humans. Acta Tropica 110(1); 15 – 21.

FERNANDEZ-AGUILAR, S; LAMBOT, M; TORRICO, F; ALONSO-VEGA, C; CORDOBA, M; SUAREZ, E. 2005. Placental lesions, in human *Trypanosoma cruzi* infection. Rev Soc Bras Med Trop 38; 84 – 86.

FRANK, F; SARTORI, M; ASTEGGIANO, C; LIN, S; DE FABRO, S; FRETES, R. 2000. The effect of placental subfractions on *Trypanosoma cruzi*. Exp Mol Pathol 69(2); 144-151.

FREILIJ, H; ALTCHER, J. 1995. Congenital Chagas disease: diagnostic and clinical aspects. Clin infec Dis 21(3); 551- 555.

GARCIA, M; DE RISSIO, A; VILLALONGA, X; MENGONI, E; CARDONI, R. 2008. Soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors (sTNF-R1 and R2) in pregnant women chronically infected with *Trypanosoma cruzi* and their children. *Am J Trop Med Hyg* 78(3); 499- 502.

GODOY, L.; GONZALEZ, S.; ZULANTAY, I.; CORRAL, G.; SALAS, C.; GOMEZ, M.; POZO, L.; PEREDA, P.; GUZMÁN, C.; ALDUNATE, M.; APT, W. 2008. Prevalencia de la infección chagásica en mujeres embarazadas de la Provincia de Choapa. IV Región. Chile. Periodo 2005-2007. I congreso chileno de parasitología. Libro de resúmenes. 53.

GÜRTLER, R; SEGURA, E; COHEN, J. 2003. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* infection in Argentina. *Emerg Infec Dis* 9(1); 29 – 33.

GUZMAN, E; ZAVAL, J; ACOSTA, K; ROSADO, M. 1999. Importancia de la caracterización de cepas de *Trypanosoma cruzi*. *Rev Biomed* 10; 177 – 184.

HAIDER, S; KNOFLER, M. 2009. Human tumour necrosis factor: physiological and pathological roles in placenta and endometrium. *Placenta* 30(2); 111- 123.

HERMANN, E; TRUYENS, C; ALONSO-VEGA, C; RODRIGUEZ, P; BERTHE, A; TORRICO, F. 2004. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* is associated with maternal enhanced parasitemia and decreased production of interferón- gamma in response to parasite antigens. *J Infect Dis* 189(7); 1274 - 1281.

HERMANN, E; TRUYENS, C; ALONSO-VEGA, C; EVEN, J; RODRIGUEZ, P; BERTHE, A. 2002. Human fetuses are able to mount an adultlike CD8 T-cell response. *Blood* 100(6); 2153- 2158.

HOWARD, J. 1962. La enfermedad de Chagas congénita. **In:** Colección monografías biológicas, Ed. Standler, Universidad de Chile; 51 – 55.

HÜBNER, M; JUÁREZ, M. 2002. Test de Apgar. Después de medio siglo ¿sigue vigente?. Rev Med Chil 130(8); 925 – 930.

HÜBNER, M; RAMÍREZ, R. 2002. Sobrevida, viabilidad y pronóstico del prematuro. Rev Med Chil 130(8); 931 - 938.

JACKASON, Y; MYERS, C; DIANA, A; MARTI, H; WOLFF, H; CHAPPUIS, F. 2009. Congenital transmission of Chagas disease in Latin American immigrants in Switzerland. Emerg Infect Dis 15(4); 601- 603.

JAUNIAUX, E; GULBIS, B; BURTON, G. 2003. The human first trimester gestational sac limits rather than facilitates oxygen transfer to the foetus- a review. Placenta 24; 86- 93.

KLEIN, J; BAKER, C; REMINGTON, J; WILSON, C. 2006. Current concepts of infections of the fetus and newborn infant **In** Infectious Diseases of the fetus and Newborn Infant. Elsevier Saunders, Philadelphia; 13- 25.

KOGA, K; MOR, G. 2010. Toll-like receptors at the maternal-fetal interface in normal pregnancy and pregnancy disorders. Am J Reprod Immunol 63(6); 587- 600.

LEIBY, D; FUCCI, M; STUMP, R. 1999. *Trypanosoma cruzi* in a low- to moderate-risk blood donor population: seroprevalence and possible congenital transfusion. Transfusion 39(3); 310 – 315.

LUQUETTI, A; DIAS, J; PRATA, A. 2005. Diagnosis and treatment of congenital infection caused by *Trypanosoma cruzi* in Brasil. Rev Soc Bras Med Trop 38; 27- 28.

MINSAL. 2010. Guía Clínica – Prevención del Parto Prematuro. [En línea]. Series de guías clínicas MINSAL. <www.redsalud.gov.cl/archivos/guiasges/prevencionpartoprematuro.pdf> [Consulta: 11-03-2012]

MINSAL. 2011. Circular de Vigilancia de la enfermedad de Chagas. [En línea]. Subsecretaría de Salud Pública, Departamento de Epidemiología.

<www.epi.minsal.cl/epi/html/normas/circul/Circular-Chagas.pdf> [Consulta: 10-03-2012].

MORETTI, E; BASSO, B; CASTRO, I; CARRIZO, P; CHAUL, M; BARBIERI, G. 2005. Chagas disease: study of congenital transmission in cases of acute maternal infection. Rev Soc Bras Med Trop 38(1); 53 - 55.

MORA, M; SANCHEZ, N; MARCO, D; BARRIO, A; CIACCIO, M; SEGURA, M. 2005. Early diagnosis of congenital *Trypanosoma cruzi* infection using PCR, hemoculture, and capillary concentration, as compared with delayed serology. J Parasitol 91(6); 1468 - 1473.

MOYA, P; BASSO, B; MORETTI, E. 2005. Congenital Chagas disease in Cordoba, Argentina: epidemiological, clinical, diagnostic, and therapeutic aspects. Experience of 30 years of follow up. Rev Soc Bras Med Trop 38; 33 – 40.

MYATT, L; CUI, X. 2004. Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol* 122(4); 369 – 382.

NANAEV, A; KOSANKE, G; KEMP, B; FRANK, H; HUPPERTZ, B; KAUFMANN, P. 2000. The human placenta is encircled by a ring of smooth muscle cell. *Placenta* 21(1); 122- 125.

OKAMURA, M; APARECIDA, D; CAMARGO, M; SCHULTZ, R; ZUGAIB, M. 2004. Prenatal diagnosis of congenital Chagas disease (American tripanosomiasis). *Prenat Diagn* 24(3); 179- 181.

PELLEGRINO. 2004. Migration from Latin American to Europe. Trends and Policy Challenges. Series N° 16. IOM. Migration Research; 30.

PEHRSON, P; WAHLGREN, M; BENGTTSSON, E. 1982. Intracranial calcifications probably due to congenital Chagas disease. *Am J Trop Med Hyg* 31; 449- 451.

PETERSEN, E. 2007. Protozoan and helminth infections in pregnancy. Short-term and long-term implications of transmission of infection from mother to foetus. *Parasitology* 134(13); 1855- 1862.

PUERTO, F; SANCHEZ, Z; NARA, E; MEZA, G; PAREDES, B; FERREIRA, E. 2010. *Trypanosoma cruzi* lineages detected in congenitally infected infants and *Triatoma infestans* from the same disease- endemic region under entomologic surveillance in Paraguay. *Am J Trop Med Hyg* 82(3); 386- 390.

RAIMUNDO, S; MASSAD, E; YANG, H. 2010. Modelling congenital transmission of Chagas disease. *Biosystems* 99(3); 215- 222.

REDLINE, R. 2006. Inflammatory responses in the placenta and umbilical cord. *Semin Fetal Neonatal Med* 11(5); 296- 301.

REDLINE, R. 2004. Placental inflammation. *Semin Neonatol* 9(4); 265- 274.

REYES, M; LORCA, M; MUÑOZ, P; FRASCH, A. 1990. Fetal IgG specificities against *Trypanosoma cruzi* antigens in infected newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87(7); 2846 - 2850.

RIERA, C; GUARRO, A; KASSAB, H; JORBA, J; CASTRO, M; ANGRILL, R. 2006. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in Europe (Spain): a case report. *Am J Trop Med Hyg* 75(6); 1078- 1081.

RODRIGUEZ, P; TRUYENS, C; ALONSO-VEGA, C; FLORES, A; CORDOVA, M; SUAREZ, E. 2005. Serum levels for IgM and IgA antibodies to anti-*Trypanosoma cruzi* in samples of blood from newborns from mothers with positive serology for Chagas disease. *Rev Soc Bras Med Trop* 38; 62- 64.

ROMERO, R; GOTSH, F; PINELES, B; KUSANOVIC, J. 2007. Inflammation in pregnancy: its roles in reproductive physiology, obstetrical complications, and fetal injury. *Nutr Rev* 65(12); 194- 202.

ROZAS, M.; BOTTO-MAHAN, C.; CORONADO, X.; ORTIZ, S.; CATTAN, P.; SOLARI, A. 2005. Short report: *Trypanosoma cruzi* infection in wild mammals from a chagasic area of Chile. *Am J Trop Med Hyg* 73(3); 517-519.

RUSSOMANDO, G; ALMIRON, M; CANDIA, N; FRANCO, L; SANCHEZ, Z. 2005. Implementation and evaluation of a locally sustainable system of prenatal diagnosis to detect cases of congenital Chagas disease in endemic areas of Paraguay. *Rev Soc Bras Med Trop* 38; 49- 54.

SALAS, N; COT, M; SCHNEIDER, D; MENDOZA, B; SANTALLA, J; POSTIGO, J. 2007. Risk factors and consequences of congenital Chagas disease in Yacuiba, south Bolivia. *Trop Med Int Health* 12(12); 1498 - 1505.

SANCHEZ, N; MORA, M, BASOMBRIO, M. 2005. High prevalence of congenital *Trypanosoma cruzi* infection and family clustering in Salta, Argentina. *Pediatrics* 115(6); 668 - 672.

SARTORI, M; LIN, S; FRANK, F; MALCHIODI, E; DE FABRO, S. 2002. Role of placental alkaline phosphatase in the interaction between human placental trophoblast and *Trypanosoma cruzi*. *Exp Mol Pathol* 72(1); 84- 90.

SARTORI, M; PONS, P; MEZZANO, L; LIN, S; DE FABRO, S. 2003. *Trypanosoma cruzi* infection induces microfilament depletion in human placenta syncytiotrophoblast. *Placenta* 24(7); 767- 771.

SCHENONE, H; CONTRERAS, M; BORGONO, J; ROJAS, A; VILLAREAL, F. 1985. Congenital Chagas disease in Chile. Longitudinal study of the reproductivity of women with or without Chagas disease and of some parasitological and clinical parameters of them and their corresponding children. Bol Chil Parasitol 40(1 – 2); 24- 29.

SCHENONE, H.; CONTRERAS, M.; BORGONO, J.; ROJAS, A.; TELH, P.; SALINAS, P. 1989. Algunas características epidemiológicas, climáticas y parasitológicas de la enfermedad de Chagas congénita en Chile. Rev Pediatr (Santiago) 32; 65-72.

SCHIJMAN, A; ALTCHER, J; BURGOS, J; BIANCARDI, M; BISIO, M; LEVIN, M. 2003. Aetiological treatment of congenital Chagas disease diagnosed and monitored by the polymerase chain reaction. J Antimicrob Chemother 52(3); 441- 449.

SCHIJMAN, A. 2007. Congenital Chagas disease,[En línea]. In Mushahwarm, I.. Congenital and Other Related Infectious Diseases of the Newborn, Elsevier; 223- 258.

http://books.google.cl/books?id=nzIURDmotXUC&printsec=frontcover&hl=es&source=gb_s_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

[Consulta: 15-11-2011].

SCHMUNIS, G. 2007. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the rol of international migration. Mem Inst Oswaldo Cruz 102; 75- 85.

SCHOFIELD, C; JANNIN, J; SALVATELLA, R. 2006. The future of Chagas disease control. Trends Parasitol 22 (12); 583 – 588.

SIMISTER, N. 2003. Placental Transport of immunoglobulin G. *Vaccine* 21(24); 3365 - 3369.

SOLARI A., CAMPILLAY R., ORTIZ S. AND WALLACE A. 2001. Identification of *Trypanosoma cruzi* genotypes circulating in Chilean chagasic patients. *Exp Parasitol* 97(4); 226 - 233.

SOSA-ESTANI, S; BELIZAN, J; ALTHABE, F; ROBINSTEIN, A. 2005. The need of a neonatal preparation of Chagas disease. *PLoS Med* 2(11); e387.

STORINO, R; AUGER, S; CARAVELLO, O; URRUTIA, M; SANMARTINO, M. 2002. Chagasic cardiopathy in endemic area versus sporadically infected patients. *Rev Saude Pública* 36(6); 755- 758.

TARLETON, R.2007. Immune system recognition of *Trypanosoma cruzi*. *Curr Opin Immunol* 19(4); 430- 434.

TDR. 2009. Standardized protocol for PCR analysis of Chagas disease. [En línea]

<<http://apps.who.int/tdr/svc/publications/tdrnews/issue-82/meeting-chagas>>

[Consulta: 18-11-2011]

TELLO, P; FERNANDEZ, P; SANDOVAL, L, AMPUERO, G; PIZARRO, T; SCHENONE, H. 1982. Incidence of *Trypanosoma cruzi* infection in mothers and sons in a section of the northern area of Santiago. *Bol Chil Parasitol* 37(1 – 2); 23 – 24.

TORRICO, F; ALONSO-VEGA, C; SUAREZ, E; RODRIGUEZ, P; TORRICO, M; DRAMAIX, M. 2004. Maternal *Trypanosoma cruzi* infection, pregnancy outcome, morbidity, and mortality of congenitally infected and non-infected newborns in Bolivia. Am J Trop Med Hyg 70(2); 201- 209.

TORRICO, M; SOLANO, M; GUZMNA, J; PARRADO, R; SUAREZ, E; ALONSO-VEGA, C. 2005. Estimation of the parasitemia in *Trypanosoma cruzi* human infection: high parasitemias are associated with severe and fatal congenital Chagas disease. Rev Soc Bras Med Trop 38; 58- 61.

TORRICO, F; VEGA, C; SUAREZ, E; TELLEZ, T; BRUTUS, L; RODRIGUEZ, P. 2006. Are maternal re-infections with *Trypanosoma cruzi* associated with higher morbidity and mortality of congenital Chagas disease?. Trop Med Int Health 11(5); 628- 635.

TORRICO, F; ALONSO-VEGA, C; BILLOT, C; TRUYENS, C; CARLIER, Y. 2007. Relaciones materno-fetales en la infección con *T.cruzi* y la implementación de un programa nacional de detección y tratamiento congénito en Bolivia. Enf Emerg 9; 9- 16.

TRIQUELL, M; DIAZ-LUJAN, C; FREILIJ, H; PAGLINI, P; FRETES, R. 2009. Placental infection by two subpopulations of *Trypanosoma cruzi* is conditioned by differential survival of the parasite in a deleterious placental medium and not by tissue reproduction. Trans R Soc Trop Med Hyg 103(10); 1011 - 1018.

TRUYENS, C; HERMANN, E; ALONSO-VEGA, C; RODRIGUEZ, P; VEKERMANS, J; TORRICO, F. 2005. Immune responses of non-infected neonates of mothers infected with *Trypanosoma cruzi*. Rev Soc Bras Med Trop 38; 96 - 100.

VEKEMANS, J; TRUYENS, C; TORRICO, F; SOLANO, M; TORRICO, M; RODRIGUEZ, P. 2000. Maternal *Trypanosoma cruzi* infection upregulates capacity of uninfected neonate cells to produce pro- and anti- inflammatory cytokines. *Infect Immun* 68(9); 5430 - 5434.

VIRREIRA, M; MARTINEZ, S; ALONSO-VEGA, C; TORRICO, F; SOLANO, M; TORRICO, M. 2006. Amniotic fluid is not useful for diagnosis of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg* 75(6); 1082 - 1084.

VIRREIRA, M; TRUYENS, C; ALONSO-VEGA, C; BRUTUS, I; JIJENA, J; TORRICO, F. 2007. Comparison of *Trypanosoma cruzi* lineages and levels of parasitic DNA in infected mothers and their newborns. *Am J Trop Med Hyg* 77(1); 102- 106.

WILCZYNSKI, J. 2005. Th1/Th2 cytokines balance – yin and yang of reproductive immunology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 122(2); 136 - 143.

WILLEMS, F; VOLLSTEDT, S; SUTER, M. 2009. Phenotype and function of neonatal DC. *Eur J Immunol* 39(1); 26- 35.

ZINGALES, B; ANDRADE, S; BRIONES, M; CAMPBELL, D; CHIARI, E; FERNANDES, O; GUHL, F; LAGES-SILVA, E; MACEDO, A; MACHADO, C; MILES, M; ROMANHA, A; STURM, N; TIBAYRENC, M; SCHIJMAN, A. 2009. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104(7); 1051 – 1054.

ZULANTAY, I.; APT, W.; RODRIGUEZ, J.; VENEGAS, J.; SANCHEZ, G. 1998. Serologic evaluation of treatment of chronic Chagas disease with allopurinol and itraconazole. *Rev Med Chil* 126(3); 265 - 70.