



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE INFECTOLOGÍA E INMUNOLOGÍA

**PREVALENCIA DE LA INFECCION POR *Trypanosoma cruzi*
EN MUJERES EMBARAZADAS Y SUS RECIEN NACIDOS EN TRES
HOSPITALES DE TERCER NIVEL**

QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:

INFECTOLOGÍA

PRESENTA:

DRA. MARIA ALEJANDRA ESTEVES JARAMILLO

**DR. FEDERICO JAVIER ORTIZ IBARRA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN
DIRECTOR DE TESIS**



México, D.F.

Agosto, 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA

AUTORIZACION DE TESIS

TÍTULO

“Prevalencia de la Infección por *Trypanosoma cruzi* en Mujeres Embarazadas y sus Recién Nacidos en Tres Hospitales de Tercer Nivel”

DR. ENRIQUE GÓMEZ SÁNCHEZ

DIRECTOR DE ENSEÑANZA

DR. FEDERICO JAVIER ORTÍZ IBARRA

PROFESOR TITULAR DEL CURSO

DR. FEDERICO JAVIER ORTÍZ IBARRA

DIRECTOR DE TESIS

AGRADECIMIENTOS.

A Dios, mi motivo de ser.

A mis padres por su incondicional apoyo, amor y dedicación.

A mis hermanos Gabriel y Claudia mi eterna fuente de inspiración.

A mis abuelitas Trinita y Carmelita y a mi tía Tere que desde el cielo me cuidan.

A Julio César, que día a día me impulsa a crecer.

A mi tutor, Dr. Federico Javier Ortíz Ibarra, mi ejemplo a seguir.

A mis maestros, Dr. Jesús Reyna Figueroa, Dr. Gerardo Casanova Román, Dr. Roberto Villagrana Zesati, Dr. Ricardo Figueroa Damian, Dra. Noemi Plazola Camacho, Dr. Enrique Segura Cervantes, Diana, Irma y Carmen mis guías en el camino.

A la Dra. Enedina Jiménez por toda su enseñanza y paciencia.

INDICE

Introducción.....	1
Resumen.....	2
Planteamiento del Problema.....	3
Marco Teórico	
Enfermedad de Chagas.....	3
Epidemiología.....	3
Ciclo de vida de <i>Trypanosoma cruzi</i>	4
Cuadro clínico.....	6
Chagas congénito.....	7
Diagnóstico.....	9
Tratamiento.....	10
Seguimiento.....	11
Objetivos.....	12
Justificación.....	12
Alcance.....	13
Estrategias Terapéuticas.....	13
Metodología	
Descripción del estudio.....	13
Lugar del estudio.....	13
Material.....	13
Métodos	
Ensayo Inmunoenzimático (ELISA)	
Obtención de la muestra.....	14
ELISA.....	15

Ensayo Chagas STAT-PAK.....	15
Microhematócrito.....	16
Reacción de Polimerasa en Cadena (PCR)	
Extracción de ADN.....	17
Reacción en cadena de la polimerasa y control interno.....	17
Electroforesis en gel de agarosa al 1%.....	17
Cálculo de muestra.....	18
Criterios de inclusión.....	18
Criterios de eliminación.....	19
Definición operacional de variables.....	19
Análisis estadístico.....	24
Consideraciones éticas.....	25
Resultados.....	25
Discusión.....	27
Conclusiones.....	29
Anexos.....	30
Referencias.....	34

INTRODUCCION

La Enfermedad de Chagas es una parasitosis endémica en los países de Latinoamérica. En los últimos años, la Organización Mundial de la Salud (OMS) a través de la Red Global para la Eliminación del Chagas, ha lanzado una nueva estrategia destinada a lograr la erradicación de la enfermedad en el mundo antes del año 2010, una iniciativa diseñada para dar respuesta a preguntas clave sobre el tratamiento y control de esta enfermedad y para coordinar esfuerzos en la prevención de su transmisión.

En Latinoamérica, durante los años ochenta, cerca de 20 millones de personas fueron infectadas. Desde entonces, estos países han realizado grandes esfuerzos para controlar esta enfermedad y en la actualidad se estima que menos de 8 millones de personas continúan infectadas. A pesar de estos logros, la enfermedad no está aún bajo control.

En las regiones donde se ha logrado o avanzado en el control de la transmisión vectorial y transfusional de *Trypanosoma cruzi*, la transmisión congénita constituye la principal forma de persistencia de la parasitosis en las poblaciones humanas.

La vía de transmisión congénita resulta ser de importancia tanto para el área endémica como no endémica, debido a las migraciones de individuos infectados. Esta realidad obliga a todo personal de la salud, a instruirse acerca de esta enfermedad.

La mujer embarazada infectada, ya sea en forma aguda o crónica, puede transmitir el parásito al feto en un porcentaje que varía según la región estudiada y la población. El diagnóstico precoz de la enfermedad de Chagas congénita es importante, debido a la existencia de tratamientos eficaces.

En México no se tiene ninguna experiencia relacionada con la transmisión placentaria de *T. cruzi* por lo que sigue siendo una interrogante a pesar de saber que la tripanosomiasis es una realidad; lo cual no es sorprendente pues las condiciones para que se presente la enfermedad se cumplen, el parásito, el vector y la pobreza.

En este trabajo se pretende conocer con exactitud la tasa de transmisión congénita de la enfermedad de Chagas en tres áreas de la República Mexicana y con esto poder establecer medidas de prevención y tratamiento oportuno para los recién nacidos infectados.

RESUMEN

Título: PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi* EN MUJERES EMBARAZADAS Y SUS RECIÉN NACIDOS EN TRES HOSPITALES DE TERCER NIVEL

Antecedentes: El *Trypanosoma cruzi* es el agente causal de la enfermedad de Chagas. Se transmite principalmente a través de picadura de insectos vectores, transfusión de hemoderivados, trasplante de órganos, así como transmisión del parásito de la madre al producto durante el embarazo.

La detección de los casos de Chagas congénito se basa en una prueba sanguínea que se puede realizar en la sangre de cordón tomada durante el parto, o bien en la sangre periférica del recién nacido, durante las primeras horas de vida.

No se conocen cuales son la prevalencia de la transmisión congénita por *T. cruzi* en México.

Objetivo: Estimar la prevalencia de infección por *T. cruzi* en mujeres embarazadas y sus recién nacidos en México.

Material y Métodos: Se incluyeron mujeres embarazadas y a sus recién nacidos de 3 hospitales de referencia: el primero en zona no endémica (Instituto Nacional de Perinatología, Distrito Federal) y en dos hospitales de zonas endémicas (Hospital Civil de Guadalajara, Jalisco y Hospital General, Oaxaca) de septiembre de 2006 a junio 2007. Se estudiaron a las madres con pruebas serológicamente y a los recién nacidos con pruebas parasitarias.

Resultados: La tasa de transmisión congénita en los 3 estados de la República Mexicana estudiados, hasta el momento fue de cero.

Conclusión: En México es necesaria la implementación de todas aquellas medidas que tienden a identificar a las mujeres embarazadas con infección por *T. cruzi*. y la posibilidad de tratar a sus recién nacidos infectados, con elevada efectividad terapéutica.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La presencia de la infección entre la población en México de mujeres embarazadas con *T.cruzi* no se conoce, pero estudios en otros países han reportado que varía de acuerdo a la región geográfica y a las características socioeconómicas de los grupos estudiados y la mayoría de ellas pueden no presentar signos ni síntomas atribuibles a la infección, pero eso no las excluye de tener la enfermedad en la fase aguda o crónica y con ello transmitir una infección hacia el feto a través de la placenta.(1,2) La infección fetal que se produce como consecuencia de la presencia de la parasitemia materna, puede provocar en el feto alteraciones en su viabilidad y/o en su crecimiento. El diagnóstico de la infección por *T. cruzi* en recién nacidos es esencial para una rápida administración de fármacos antiparasitarios.(3)

MARCO TEÓRICO

Enfermedad de Chagas

La tripanosomiasis Americana o enfermedad de Chagas fue descubierta en 1909 por Carlos Chagas al detectar parásitos flagelados en sangre periférica de una niña de dos años que padecía una enfermedad cuyos signos y síntomas no se correlacionaban con los de ninguna de las patologías descritas hasta el momento. Meses después, este mismo científico describió y le daba nombre al agente causal de esta enfermedad: *Trypanosoma cruzi* (Chagas 1909, *Schizotrypanum cruzi*) (4,5) , un parásito flagelado del orden de los Kinetoplástidos que, junto con *Trypanosoma brucei*, agente causal de la enfermedad del sueño, (ambos del género *Trypanosoma*), y *Leishmania sp*, causante de leishmaniasis viscerales y tegumentarias, pertenecen a la familia Trypanosomatidae. Carlos Chagas continuó llevando a cabo un exhaustivo estudio de esta patología, publicando numerosos trabajos referentes a características clínicas de la enfermedad, poblaciones de riesgo y diagnóstico en su etapa aguda. (4).

Epidemiología

Según estimaciones de la Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS), 16 a 18 millones de personas están actualmente infectadas y 100 millones se encuentran en riesgo de contraer la enfermedad. (6, 7).

En México, el estudio más extenso y homogéneo para determinar la prevalencia de la infección por *T. cruzi* realizado hasta el momento, es la Encuesta Nacional de Seroprevalencia (ENS) de 1987 (8) , la cual confirmó la distribución irregular de la enfermedad en México, con alta endemicidad en las áreas rurales con un promedio de seroprevalencia entre 5 y 20%, y prácticamente libre de la enfermedad en zonas urbanas. En general, 74.5% de los seropositivos fueron menores de 39 años.

Las formas de transmisión del *T. cruzi* son a través de vectores, reduvidos, hematófagos conocidos en México como “chinchas hociconas”. correspondiendo al 80% de los casos, por hemotrasfusiones, por vía trasplacentaria, recepción de trasplantes, principalmente. (9) Se han descrito casos de infección humana por vía de la lactancia, aunque este tipo de transmisión es controversial. (9,10)

Los vectores que transmiten la enfermedad se distribuyen desde los 42° de latitud norte hasta los 46° de latitud sur, donde las condiciones ecológicas son propicias para la transmisión y persistencia de la endemidad. (11)

Los estudios entomológicos de los vectores triatominos reportando que existen 39 especies de triatóminos en México. De éstos 20 se han encontrado infectados por *T. cruzi*. (12, 13) Las especies de mayor importancia médica son *Triatoma barberi*, *T. dimidiata*, *Rhodnius prolixus*, *Triatoma longipennis*, *Triatoma phyllosoma* y *Triatoma picturata*. (14,15)

Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*

Los protozoarios de la familia *Trypanosomatidae* presentan durante su ciclo de vida numerosas *formas* que pueden ser fácilmente distinguidas por técnica de microscopía y que reciben el nombre de *estadios*. A grandes rasgos en *T. cruzi* pueden detectarse cuatro estadios, dos en el mamífero hospedador (amastigote y tripomastigote sanguíneo) y dos en el insecto vector (epimastigotes y tripomastigotes metacíclicos). Los epimastigotes se encuentran en el estómago e intestino medio del vector. Los primeros, poseen forma ahusada, una longitud de 20-40 µm, con un núcleo redondo y un kinetoplasto (región de la mitocondria que contiene el ADN mitocondrial) que se ubica en la parte anterior del primero. Son formas que se dividen por fisión binaria, no son infectantes y, a diferencia de los demás estadios, pueden cultivarse en medio axénico. Por otra parte, los tripomastigotes metacíclicos se generan por diferenciación de epimastigotes. Cuando estos últimos llegan al recto del insecto vector, se adhieren a través de su flagelo mediante interacciones hidrofóbicas a la cutícula de la pared intestinal; esta adhesión es la que dispara el proceso de transformación que se denomina *metaciclogénesis* y que está mediado por AMPc (16).

Este proceso involucra cambios en el metabolismo del parásito, expresión de nuevos marcadores de superficie, cambios que permiten a la membrana flagelar despegarse del sustrato al cual se había unido el epimastigote, y la *salida del ciclo celular*, ya que esta forma del parásito es *infectante y no replicativa*.

Los tripomastigotes metacíclicos así generados se despegan de la pared intestinal y son eliminados en las heces y la orina de la vinchuca. Poseen forma elongada (aprox. 20 µm de longitud), una membrana ondulante en uno de sus lados, su núcleo es alargado y el kinetoplasto se encuentra ubicado *posterior* al mismo. El ciclo de vida de *T. cruzi* comienza cuando el insecto vector se alimenta con la sangre del hospedador mamífero y luego defeca sobre la zona afectada. Los tripomastigotes metacíclicos contenidos en las heces del triatomo penetrar a

través de la piel lesionada, pasan al torrente sanguíneo e invaden un amplio rango de células nucleadas.

Inicialmente hay una adhesión del parásito a la membrana plasmática de la célula huésped, mediante un proceso de reconocimiento célula-célula en el que intervienen residuos de azúcares: galactosa, manosa y N-acetil-glucosamina expuestos por la superficie de ambas.(17) Existen numerosas evidencias que indican que el ácido siálico está fuertemente involucrado en dicho proceso de reconocimiento, y que una glicoproteína de superficie del parásito con actividad de trans-sialidasa y neuraminidasa, denominada *trans-sialidasa*, cumple un rol primordial en la invasión .(18 y 19) Una vez unido a la membrana plasmática de la célula hospedadora, el trypomastigote envía una serie de señales que producen modificaciones en la concentración de Ca^{2+} intracelular de dicha célula, y que conducen a la movilización de microtúbulos de su citoesqueleto. Esto produce el reclutamiento de lisosomas hacia la zona de contacto con el parásito . Se postula que las movilizaciones de Ca^{2+} serían mediadas por la acción de dos peptidasas parasitarias: la oligopeptidasa B y la cruzipaina.(20) La primera actuaría de manera *indirecta* mediante el clivaje de un precursor inactivo para generar un agonista de calcio que es liberado al exterior. Posteriormente, este interactúa con un receptor de la membrana plasmática de la célula del mamífero que produce la activación de la fosfolipasa C que a su vez genera un aumento en los niveles intracelulares de inositol trifosfato (IP3). Dichos aumentos conducen a la movilización del calcio intracelular (21). El mecanismo de movilización de Ca^{2+} cruzipaina-dependiente, involucra la liberación de la enzima al espacio extracelular a través del bolsillo flagelar del parásito, el clivaje por parte de la misma de quinínogenos de alto peso molecular provenientes de la célula huésped, y la concomitante formación de quininas activas (bradiquinina). Estas son reconocidas por un receptor en la membrana plasmática de la célula hospedadora que estimula la liberación del Ca^{2+} intracelular IP3 dependiente.(22,23)

Después de la adhesión, entra el parásito en la célula mediante un proceso de *endocitosis* constituyéndose así la *vacuola parasitófora*, que posee los lisosomas movilizados *unidos* a su cara externa . Luego, dichos lisosomas se fusionan con la membrana de la vacuola y liberan su contenido produciendo de esta manera la acidificación del compartimento. A continuación el parásito secreta una molécula tipo porina denominada Tc-Tox, que produce poros en la membrana de la vacuola parasitófora y permite su salida hacia el citosol de la célula hospedadora . La exposición de los tripomastigotes al medio ácido de dicha vacuola es un requisito para la supervivencia de *T. cruzi*, ya que la activación de Tc-Tox ocurre *solamente* en este entorno.(20) Una vez en el citoplasma de la célula, el tripomastigote comienza a sufrir el proceso de diferenciación a esferomastigote o

amastigote: su flagelo se acorta y se hace casi inexistente, su cuerpo celular se redondea y el núcleo vuelve a tomar forma redondeada . Esta forma del parásito es *replicativa*, y ahora es considerada también *infectante*, ya que se ha comprobado que amastigotes liberados al torrente sanguíneo son capaces de propagar la infección. Ley y cols. (24) demostraron que los amastigotes son capaces de invadir células, fundamentalmente fagocíticas, por un mecanismo esencialmente distinto al de los tripomastigotes. Unas 24 a 35 horas después de su salida al citosol, el amastigote comienza a dividirse activamente por fisión binaria y llega a formar pseudo-quistes dentro de la célula. Cuando ya existe una alta densidad de parásitos intracelulares, los amastigotes se diferencian a tripomastigotes sanguíneos que salen de la célula infectada, pasan a la sangre o linfa del mamífero y pueden invadir nuevas células (16,20).

Los tripomastigotes sanguíneos poseen forma similar a los tripomastigotes metacíclicos, y comparten algunas propiedades biológicas, sin embargo los primeros poseen la capacidad de transformarse en epimastigotes a 27°C en sangre o medio axénico, propiedad que está ausente en los metacíclicos. Además ambas formas del parásito también poseen antígenos estadio específicos y presentan diferentes modos de interactuar con las células hospedadoras. El ciclo de vida del parásito se cierra cuando el insecto vector se alimenta con la sangre de un mamífero infectado. Dicha sangre contiene tripomastigotes sanguíneos que, al llegar al intestino del triatomino se diferencian a epimastigotes.

Cuadro Clínico.

La enfermedad presenta un estadio inicial agudo que evoluciona hacia una etapa crónica en la cual puede verificarse sintomatología o desarrollarse en la mayoría de los casos como una fase asintomática. (25)

Las manifestaciones clínicas en el estado agudo están caracterizadas por: inflamación edematosa en el sitio de la infección (Chagoma), y síndrome de Romaña; comienzan entre los 6 y 10 días post infección y pueden permanecer de 1 a 2 meses. Sin embargo, numerosos casos agudos pasan desapercibidos, ya que cursan con síntomas generales tales como, fiebre, linfadenopatías, y exantema. (26)

Durante la etapa aguda es posible certificar la presencia del parásito en el huésped infectado, ya que los elevados niveles de parasitemia, permiten visualizar al *T. cruzi* en sangre. (27)

Luego de dicha etapa, los pacientes se convierten en asintomáticos, un 70- 85 % de ellos continúan en ese estado por el resto de su vida (esta presentación es conocida como la forma indeterminada del Chagas crónico), mientras que un 27 % sufre cardiopatías crónicas (miocardiopatía chagásica), un 6 % padece lesiones digestivas (megaesófago y megacolon), y un 3 % presenta desórdenes neurológicos (manifestaciones que pueden aparecer de 10 a 25 años después de la infección inicial).(25,26)

En la etapa crónica el número de parásitos circulantes disminuye marcadamente, y aún los métodos directos de alta sensibilidad como el xenodiagnóstico resultan poco eficaces para la demostración del *T. cruzi*. (27)

Chagas congénito

La incidencia de casos congénitos (ICC) en toda la población de neonatos, depende de la proporción de madres seropositivas en toda la población.

Estudios sobre la infección en embarazadas muestran que la prevalencia 2% a 51% en áreas urbanas y de 23 a 81% en regiones rurales de países latinoamericanos. (28)

Se desconocen muchos de los factores que condicionan la infección transplacentaria debido a que no todos los hijos de madres chagasicas adquieren la infección, la incidencia del Chagas congénito varía de 2,1 a 28,2 % en Chile Argentina de 0,5 a 10,4% 0,5 a 4,0 en Uruguay, Paraguay 10%, Bolivia de 5 a 6%.(28,29)

El primer registro de infección por *T. cruzi* congénita fue realizado por Carlos Chagas en 1911 (1) quien observó 2 recién nacidos con crisis convulsivas que fallecieron a los 6 y 8 días de vida y cuyas autopsias revelaron la presencia del parásito.

En México, la primera comunicación de un niño con enfermedad de Chagas congénito se produjo en 1998.(30)

La mayoría de las embarazadas infectadas no presentan síntomas o signos atribuibles a la enfermedad de Chagas. Votta y col. (31) hallaron en gestantes sólo un 10% de bloqueo de rama derecha, sin ningún síntoma. La ausencia de manifestaciones clínicas y electrocardiográficas podría deberse a que la edad de mayor fertilidad es inferior a los 30 años, mientras que la aparición de los trastornos cardiológicos en la enfermedad de Chagas se evidencian generalmente a partir de los 40 años.

Se sabe que la transmisión trasplacentaria dependerá del nivel de parasitemia y de inmunidad de la madre, por ello una embarazada pueda transmitir el parásito en cualquier estadio de la infección.(32) Sin embargo se ha observado que la infección aguda durante la gestación aumenta el riesgo de transmisión trasplacentaria; en los pocos casos publicados (33) Además, debido a que *T. cruzi* genera en el hospedero una infección persistente, una madre infectada puede transmitir la infección en uno o más de sus embarazos.

Se ha reportado que la reinfección múltiple de la madre a través de picaduras de vectores de *T. cruzi* durante el embarazo aumenta la parasitemia y conduce a una forma más grave de la enfermedad congénita. (34)

El *T. cruzi* invade y se multiplica en las células de Hofbauer, los tripomastigotes liberados posteriormente pueden invadir al embrión o feto. Esto puede ocurrir aun antes del cuarto mes de gestación cuando el epitelio trofoblástico presenta mayor desarrollo. Se ha comprobado una relación directa entre el compromiso inflamatorio de la placenta y la morbilidad fetal.(35) Aunque la presencia del parásito en placenta no tendría necesariamente una estricta correlación con la infección fetal, dado que se observaron casos de enfermedad de Chagas congénita sin hallazgo histológico de *T. cruzi* (3) y también nidación placentaria, sin infección fetal.

Las lesiones placentarias se caracterizan por focos inflamatorios agudos y/o crónicos, áreas de necrosis, nidos de amastigotes rodeados por inflamación mononuclear de variable intensidad, localizadas en la decidua y en la placa amniocorial. Se puede observar también una vellositis e intervallositis de variable intensidad. (36) Las placentas parasitadas de pacientes con infección crónica no presentaron alteraciones macroscópicas.

Los recién nacidos vivos con infección intrauterina presentan distinto grado de morbilidad. Las manifestaciones clínicas varían ampliamente, desde niños prematuros con importante sintomatología y elevada mortalidad, niños con retraso en el crecimiento intrauterino, hasta los neonatos de término y asintomáticos (60-80%). (1,37,38) Cuando la sintomatología se presenta antes de los 30 días de vida extrauterina se clasifica como precoz y cuando es después de 30 días es tardía. Los niños pueden presentar diferente grado de compromiso del estado general, hipotonía muscular, fiebre y frecuentemente hepatoesplenomegalia.

En casos aislados se observan cuadros de insuficiencia cardíaca o meningoencefalitis con crisis convulsivas. Otros productos con madres infectadas por *T. cruzi* resultan en abortos y óbitos.(39-41)

En muchos estudios de Argentina, Brasil, Chile y Paraguay, del 60 a 90% de infecciones congénitas se han reportado como asintomáticas. Sin embargo en Bolivia sus reportes indicaron casos de la enfermedad de Chagas congénita fue de alrededor del 50% con rangos de mortalidad del 2 al 14% de bebés infectados. (42)

Un recién nacido con infección congénita debe cumplir los siguientes requisitos:

- nacido de madre con serología positiva
- con parásitos evidenciados al nacimiento
- con parásitos o serología positiva que no sea de origen materno, detectados después del nacimiento, sin antecedentes de transmisión vectorial o transfusional (3).

Diagnóstico

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas debe basarse en una combinación de resultados incluyendo la historia clínica, la detección del parásito y ensayos serológicos posteriores.

Las pruebas diagnósticas para detectar anticuerpos en el suero de las personas infectadas con *T. cruzi* ya validadas y aprobadas por la OPS son tres: ensayo inmunoenzimático (ELISA), hemaglutinación indirecta (HAI) e inmunofluorescencia indirecta (IFI), la sensibilidad varía entre 85 al 92% y la especificidad del 88 al 95 % es por ello que para dar un diagnóstico positivo la OPS pide que dos de ellas sean positivas. (43).

Los métodos de serodiagnóstico convencionales para infección por *T. cruzi* en recién nacidos de madres serorreactivas tienen un valor predictivo positivo bajo, debido a que la presencia de anticuerpos IgG anti *T. cruzi* en el neonato puede deberse a la transferencia pasiva de anticuerpos IgG maternos. Dichos anticuerpos desaparecen normalmente alrededor del sexto mes en los niños no infectados. (44) Los métodos de diagnóstico más empleados en los recién nacidos hijos de madres infectadas por *T. cruzi*, se incluyen métodos directos, entre ellos el examen directo por microhematócrito que permite detectar al parásito en la sangre de cordón umbilical utilizando métodos de concentración con tubos capilares y la técnica de reacción de polimerasa en cadena(PCR)(45,46).

Tratamiento

El tratamiento etiológico en la enfermedad de Chagas está dirigido a erradicar el parásito, evitar la aparición o progresión de lesiones viscerales e interferir en la cadena de transmisión.

Dicho tratamiento se indica en: infección aguda, infección congénita, reactivaciones en inmunodeprimidos e infección crónica indeterminada. (47)

Durante las seis décadas pasadas se han probado más de 100 productos experimentales con diferentes estructuras químicas para el tratamiento de las infecciones producidas por *T. cruzi*. (48)

Sin embargo solamente dos drogas tripanocidas han sido aceptadas, registradas y comercializadas por autoridades nacionales de salud en países de América Latina: Nifurtimox(Lampit®) y el benznidazol (Radanil®), han sido eficaces. (49)

El Nifurtimox , cuya fórmula es 3- metil- 4- (5' nitro furfuril idenamino) -tetrahidro-4 H - 1,4-tiazida- 1,1 dióxido es un derivado de nitrofuranos. Su mecanismo de acción es por inhibición del crecimiento, estimulando la generación de H₂O₂ en toda la célula y la producción de O₂ por la fracción mitocondrial de *T. cruzi* (tripanotiona reductasa).La dosis de administración en el recién nacido es de 10-15mg/kg/d cada 12 hs, vía oral durante 90 días.(49)

El Benznidazol, es un derivado sintético N- benzil- 2- nitro- 1-imidazol acetamida. Su efecto se produciría a través de la unión a macromoléculas produciendo daño a nivel del ADN.

La dosis de benznidazol en el recién nacido es de 5-10mg/kg/d cada 12 hs, vía oral, durante 30 a 60 días.

Esta droga se elimina por biotransformación,70% en orina, durante las 72 horas después de terminado el tratamiento, y sólo una pequeña cantidad se elimina por las heces. Se recupera en un rango de 88 a 92% de la dosis administrada en cinco a siete días.(48,50)

La quimioterapia está contraindicada en mujeres grávidas y con niños en lactancia materna ya que ambos fármacos tienen importantes efectos mutagénicos y han demostrado ser tumorigénicos y carcinogénicos. (51)

En el recién nacido debe instaurarse tratamiento antes de los 6 meses de vida cuando se ha confirmado parasitológicamente la infección del recién nacido.

Azogue (52) ha reportado que en recién nacido la negativización parasitológica en recién nacidos tratados con nifurtimox y benznidazol es del 100%.

Los efectos indeseados de ambos fármacos, son los principales motivos para discontinuar el tratamiento. Los efectos adversos más frecuentemente observados con el uso de nifurtimox son: anorexia, pérdida de peso, alteraciones psíquicas, excitabilidad, somnolencia, náusea, vómito, cólico intestinal y diarrea.

Por su parte benznidazol puede provocar reacciones de hipersensibilidad (dermatitis con erupción cutánea), edema generalizado, fiebre, linfadenopatía, dolor muscular y articular, con depresión de la médula ósea, púrpura trombocitopénica y agranulocitosis.(51)

Estudios de toxicidad con nifurtimox han demostrado neurotoxicidad, daño testicular y ovárico, y efectos deletéreos en tejido adrenal, colónico, esofágico y mamario. En el caso de benznidazol se observan también daños tisulares a nivel adrenal, colónico y esofágico.

En caso de persistencia de signos de intolerancia a la droga y compromiso del estado general se debe suspender inmediatamente su administración y reiniciar el tratamiento con la otra droga disponible, luego de 30 días de suspensión.(53)

Seguimiento

El criterio de curación en el recién nacido es la negativización definitiva del examen parasitológico y sobre todo el serológico en dos controles sucesivos, por dos técnicas (50)

El parásito observado con técnica de microhematócrito suele negativizarse a las tres semanas. (53) Sin embargo, estudios mas recientes utilizando técnicas de Biología Molecular (PCR) para detectar fragmentos de material genético (ADN o ARN) en sangre de pacientes chagásicos ha demostrado la positividad de esas reacciones a pesar de la ausencia de tripomastigotes en sangre circulante. (54)

En caso de persistir positiva la parasitemia se deberá tener en cuenta las siguientes posibilidades: a) dosis subterapéuticas b) intolerancia al medicamento, c) cepa resistente al fármaco, la cual se explica por una deficiencia en enzimas reductoras del grupo nitro, por ejemplo, la piruvato-ferredoxina oxidoreductasa.(55)

Finalizado el tratamiento se debe realizar el control serológico cada 6 meses hasta obtener 2 resultados consecutivos negativos. (48)

OBJETIVOS.

1. Estimar la prevalencia de infección con *T. cruzi* en tres hospitales de la República Mexicana de acuerdo a la positividad de las pruebas serológicas de ELISA e Inmunocromatografía.
2. Estimar la prevalencia de infección con *T. cruzi* en los recién nacidos de madres infectadas por este parásito, de acuerdo a la positividad de pruebas de microhematócrito y PCR en sangre tomada del cordón umbilical.

JUSTIFICACION

En México, la información de la prevalencia de la enfermedad de Chagas es escasa y el impacto de esta enfermedad para la salud pública permanecen en debate. (57)

La ENS realizada en 1987 en México (8), que se efectuó en los 32 estados de la República, visitando 32,000 viviendas y recolectando 70,000 muestras

de sangre, se buscaron anticuerpos contra *T. cruzi*.

En la ENS existieron grandes diferencias en la seropositividad a la enfermedad de Chagas y se detectaron focos nuevos de endemia, en estados como Chiapas e Hidalgo.

En ninguno de estos estudios se ha reportado la prevalencia de la infección intrauterina, el cual constituye el tercer mecanismo de transmisión más importante de la enfermedad de Chagas. Conocer la magnitud del problema en la transmisión materno fetal, permitirá desarrollar estrategias de control a nivel de los servicios de salud.

Por otro lado, a pesar de que existen fármacos disponibles para el tratamiento de la infección por *T. cruzi*, su administración está contraindicada durante el embarazo. (51,58) Por tal motivo es imprescindible detectar los casos congénitos que permitan la rápida administración de fármacos antiparasitarios a los recién nacidos infectados por *T. cruzi in utero*.

Debido a que las migraciones crecientes desde zonas rurales hacia áreas urbanas que ocurren en América latina cambiaron el patrón epidemiológico tradicional; la enfermedad de Chagas se urbanizó.

Recientes datos de prevalencia de la enfermedad de Chagas en la población latinoamericana que migró a países del área no endémica, mostraron que el 2% en Berlín (59), el 6% en Belice (60) y el 0,4% en Houston (61) estaban infectados. Esto sugiere la necesidad de realizar el estudio de los niños nacidos de madres infectadas de la población latinoamericana, residentes en zonas no endémicas.

ALCANCE

La transmisión materno-fetal de *T. cruzi* cumple con todas las características requeridas para ser una prioridad en los programas de Salud Pública, ya que es relativamente frecuente, grave, crónica, identificable y tratable. Es urgente conocer de manera adecuada la epidemiología de la transmisión vertical de *T. cruzi* para desarrollar programas de prevención.

ESTRATEGIAS TERAPEUTICAS

Los recién nacidos identificados como casos de chagas congénito, iniciarán tratamiento antiparasitario. Se cuenta con 150 dosis Nifurtimox de Bayer México, donado gentilmente por la doctora Janine M. Ramsey.

METODOLOGÍA

Descripción del estudio

Es un estudio transversal, multicéntrico y multidisciplinario.

Lugar del estudio.

Fue llevado a cabo en los siguientes lugares: Hospital Civil de Guadalajara Jalisco, Hospital General de Oaxaca, Oaxaca y el Instituto Nacional de Perinatología, del DF. El tamaño total de la muestra de 1537 fue calculado, con relación al número de partos atendidos al año. La selección de las madres fue en forma aleatoria.

Material.

Se tomaron 5 ml de sangre de la madre en un tubo sin anticoagulante; para determinar anticuerpos por ELISA.

Posterior al evento obstétrico se tomaron del cordón umbilical 5 ml de sangre en un tubo con anticoagulante para el análisis por PCR capilares para visualizar el parásito por microhematocrito.

De esta forma se cumplieron con las dos pruebas serológicas que pide la OPS para el diagnóstico de infección por *T. cruzi* en madre y las dos pruebas para determinar la presencia del parásito en el recién nacido.

Se aplicó además un cuestionario a las madres para obtener datos demográficos tales como edad, lugar de origen, lugar de residencia, antecedentes ginecoobstétricos etc. (ANEXO 1)

Del expediente clínico del recién nacido se extrajeron también datos demográficos tales como Apgar, edad gestacional, peso, talla, alteraciones hepáticas, alteraciones cardiacas, etc.

Métodos.

Ensayo Inmunoenzimático(ELISA)

Obtención del antígeno.

Se obtuvo el antígeno total de *T. cruzi* a partir de epimastigotes en medio de cultivo LIT (liver infusion triptose) con 20 días de crecimiento, los cuales se concentraron por centrifugación a 3000 g durante 10 minutos. Una vez concentrados, se decantó el sobrenadante y se lavaron dos veces con amortiguador de fosfatos salinos (PBS) 1X pH 7.2, los parásitos se resuspendieron

en amortiguador Tris- HCl 10 mM pH 8.2, con una mezcla de inhibidores de proteasas a una concentración final de: EDTA 500 mM, PMSF 200 mM, Leupeptina 10 mM, Pepstatina 1 mM y Bestatina 1mM. Posteriormente la solución con los parásitos se sonicó utilizando un sonicador para romper células a una prevalencia de 60 Hz de amplitud, con pulsos de 2 segundos durante 2 minutos, repitiendo el proceso tres veces. El contenido se concentró por centrifugación a 10000 g durante 30 minutos a 4°C para posteriormente retirarse el sobrenadante dividiéndolo en alícuotas y guardarlo a -20°C hasta su uso.

Cuantificación de proteínas del extracto total de epimastigotes de *T. cruzi*.

Se realizó la cuantificación de proteínas del extracto total de epimastigotes de *T. cruzi*, que se usó como antígeno utilizando el método de Bradford . Se realizó una curva patrón utilizando albúmina 1 mg/ml en PBS 1X a concentraciones de 5, 10, 15, 20 y 25 µg/ml. Se tomó la lectura del micro ensayo a 595 nm en un lector de ELISA.

ELISA

Para realizar la técnica de ELISA, se utilizaron placas de poliestireno con 100 pozos y 5 µg/ml del antígeno correspondiente, con una dilución de los sueros que se analizaron de 1:250, y una dilución del conjugado anti- humano de 1:5000. La reacción se reveló con peróxido de hidrógeno y ortofenildiamina como sustrato y se incubó a temperatura ambiente hasta dar una reacción colorida. La reacción se detuvo usando ácido sulfúrico 2.5 N y se leerá a 495 nm en un lector de ELISA.(62,63)

Ensayo Chagas STAT-PAK

El ensayo Chagas STAT-PAK (Chembio Diagnostic Systems, Medford, NY) es una prueba inmunocromatográfica de tamizaje para la detección de anticuerpos altamente específicos (B13, 1F8 y H49/JL7) para *T cruzi* en sangre humana, suero o plasma. La prueba se uso para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en conjunto con otra prueba.

Este ensayo contiene a los antígenos unidos a una membrana y una proteína unida a un anticuerpo específico, el cual está conjugado en partículas teñidas. Conforme la muestra a analizar se dispersa lateralmente a través de la membrana, el anticuerpo unido a la proteína conjugada al tinte, une las inmunoglobulinas humanas en la muestra. Para realizar la técnica se necesitaron 5 µl de la muestra la cual se coloca en el pozo del recipiente junto con unas gotas del amortiguador que viene incluido dentro del kit. Después de cinco a quince minutos, la mezcla de la muestra y del amortiguador migró a la cima del mecanismo. El final de la reacción fue indicado por una línea de color en la parte de arriba (control positivo). La presencia de anticuerpos anti- *T. cruzi* en la muestra produjo una línea color rosa a púrpura, mientras que la ausencia de una línea en la zona de reacción, indicó que ésta es negativa. Una segunda línea rosa a púrpura en la zona de reacción, indicó que la reacción se ha completado y que la prueba puede ser validada.(64)

Algunos estudios han demostrado una alta sensibilidad y especificidad de la prueba. Liguetti y cols. (65) reportaron una sensibilidad de 98.5% y una especificidad de 96.0%, mientras que Ponce y cols. (66) reportó sensibilidad de 99.6% y especificidad de 99.9% cuando se comparó con prueba de ELISA.

Microhematocrito. (Micro-strout)

Se tomó la muestra de sangre de cordón umbilical en dos tubos capilares heparinizados llenos hasta tres cuartas partes de cada tubo, los cuales se sellaron con plastilina por el extremo del tubo. Los tubos se centrifugaron en centrífuga para microhematocrito entre 8,000 a 10,000 rpm durante cinco minutos. Los tubos capilares se sacaron de la centrífuga y se colocaron en posición vertical en un soporte de plastilina hasta el momento de la lectura.

Para realizar la observación, se enfocó la región de la línea divisoria entre la capa de glóbulos blancos y plaquetas y el plasma sanguíneo con el objetivo de 10 X del microscopio. Para observar a 40X, se rotó el tubo 45° hasta observar la totalidad de la circunferencia del capilar.(67)

La observación en sangre fresco métodos ha sido reportado como uno de los más sensibles durante la fase aguda de la enfermedad congénita. Un micrométodo para detectar trypomastigote africano a través de microscopía directa de un microhematócrito ha probado ser eficiente. En la enfermedad de Chagas, los parásitos circulantes frecuentemente están presentes en menor número que en la tripanosomiasis africana, por lo que no es extraño que escapen de la observación por este método. Sin embargo, el método modificado de la técnica de

microconcentración resulta en una prueba más sensible, útil para el diagnóstico directo tanto de infección de *Trypanosoma cruzi* congénito o aguda en niños. También es posible la semicuantificación del número de parásitos circulantes. (66)

Feilij y cols. reportaron que con el método de concentración, el número de parásitos vistos durante un período de observación similar fue 3 a 10 veces más elevado que en la observación de sangre fresca. Se detectó hasta 500 parásitos por mililitro, cuando la parasitemia era menor de 1000.

El tiempo promedio de observación para detectar el primer parásito en sangre fresca fue de 27.0 ± 12.1 minutos, mientras que con el método de microhematócrito fue de 4.9 ± 3.08 minutos.

Un inconveniente de esta técnica es que su eficiencia depende del operador, se comunica una sensibilidad que varía entre el 50 y el 93% en el período perinatal. (67)

Reacción de Polimerasa en Cadena.

Extracción de DNA.

La extracción del ADN de la sangre se realizó por método fenol-cloroformo-alcohol isoamílico. Se resuspendieron 100 μ l de sangre en 300 μ l de amortiguador de lisis (0.15 M NaCl I; 0.1M, EDTA; 0.5% SDS; 0.1 mg/ml de proteinasa K). Se incubó durante 2 h a 55°C y se realizaron dos extracciones con fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (25:24:1). Los ácidos nucleicos fueron precipitados con un volumen de etanol absoluto y 0.1 ml del volumen total con acetato de sodio 3M pH 8.0.

El ADN fue precipitado después de una hora a -20°C y se recuperó al centrifugar a 8 000 g durante 30 min. El ARN fue eliminado después de incubarlo con 20 mg/ml de RNA_{asa} a 37°C. Una nueva extracción del ADN se realizó con solventes orgánicos mediante el procedimiento antes mencionado. El ADN se resuspendió en amortiguador TE (10 mM Tris-HCl; 1mM EDTA) y se guardó a -20°C hasta su uso (68).

Reacción en cadena de la polimerasa y control interno.

La mezcla de reacción de 25 µl contuvo 2.5 µl de solución amortiguadora (10 mM Tris-HCl; 50 mM KCl); 1.5 mM de MgCl₂; 0.2 mM de deoxinucleótidos (dATP, dCTP, dGTP, dTTA); 1µM de iniciadores Tcz1 y Tcz2; 500 µg de ADN obtenido de la sangre y 0.3 µl de Taq polimerasa (5U/µl). El programa de amplificación fue: Un ciclo a 94°C de 3 min; y 30 ciclos (93°C de 1 min; 55°C de 1 min y 72°C de 3 min) más un ciclo extensión de 72°C de 8 min (68).

Electroforesis en gel de agarosa al 1%.

Los fragmentos amplificados de ADN fueron separados en un gel de agarosa al 1% usando como amortiguador de corrimiento TAE 1X (tris-acetato 0.04M; EDTA 100 mM) adicionando de 5 µl de bromuro de etidio (1mg/ml). Se aplicó una corriente eléctrica de 80 volts para el corrimiento del gel durante 45 minutos. Posteriormente se analizó en transiluminador (300 nm) (Ultra- violeta Products).

La reacción en cadena de polimerasa ha sido propuesto como una alternativa para el diagnostico de T. cruzi. Se han utilizado varios cebadores complementarios a la region conservada del kinetoplasto minicircular presente en el ADN mitocondrial para detectar el parásito en una muestra de sangre del vertebrado y en el contenido fecal del triatómico.

Sin embargo, se ha sugerido que la técnica utilizando TCZ1(5' – CGA GCT CTT GCC CAC ACG GGT GCT – 3') y TCZ2 (5' – CCT CCA AGC AGC GGA TAG TTC AGG – 3'), que amplifican 188 de 195 pares de bases de una secuencia nuclear repetida. (69)

Algunos autores han discutido que durante la fase aguda de la infección, la detección del parasite mediante esta técnica es de 3.9 días antes que la detección por microscopia.(70,71)

Cálculo de la muestra.

Se determinó la estimación de proporción poblacional en forma puntual y por intervalos con una confianza del 95 % de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$No. = \frac{1 - P}{P(CVo)^2}$$

donde:

P = Prevalencia 1.6% = 0.016.

$1 - P$ = 1.00 - 0.016 = 0.984.

CVo = Coeficiente de variación de 0.2.

$$No. = \frac{1 - 0.016}{0.016 (0.2)^2} = \frac{0.984}{0.0016 \times 0.04} = \frac{0.0984}{0.00064} = 1537$$

Total de la muestra No = 1537

Criterios de inclusión.

Se incluyeron pacientes embarazadas sin restricción de edad, etnia, provenientes de zona rural o urbana, que ingresaran a alguno de los Centros en donde se llevó a cabo el estudio para la atención del evento obstétrico y que firmaran un consentimiento informado (Anexo 2)

En el INPer, las Comisiones de Investigación y Ética recomendaron incluir únicamente a las pacientes sin trabajo de parto, ya que éste podría modificar su decisión para firmar el consentimiento informado. Por tanto, se incluyeron a las pacientes programadas para cesárea electiva que ingresaron al Instituto.

Criterios de eliminación.

Se eliminaron a los pacientes en las que no se tuviera el estudio completo del binómico madre-hijo.

Definición operacional de variables.

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	UNIDAD O ESCALA DE MEDICIÓN
Edad	Cuantitativa discreta Independiente	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un	Años

		individuo	
Peso	Cuantitativa continua Independiente	Es la <u>medida</u> de la <u>fuerza</u> que ejerce la <u>gravedad</u> sobre un cuerpo. En su uso cotidiano, el término "peso" se utiliza a menudo como sinónimo de <u>masa</u> . cantidad de <u>materia</u> contenida en un cuerpo	Gramos (g)
Talla	Cuantitativa continua Independiente	Es la <u>altura</u> de una persona	Centímetros (cm)
Perímetro cefálico	Cuantitativa continua Independiente	Es la medición de la circunferencia de la cabeza de un niño en su parte más amplia (por encima de las cejas y de las orejas y alrededor de la parte	Centímetros (cm)

		posterior de la cabeza)	
Edad Gestacional	Cuantitativa continua Independiente	Tiempo trascurrido de una gestación humana, que dura por término medio 40 semanas (280 días) desde la fecha de última regla	Semanas de Gestación
Escala de Capurro	Cuantitativa continua Independiente	Método clínico posnatal de cálculo de edad gestacional que consiste en la observación de una serie de características físicas a partir de las cuales se asigna una puntuación determinada	Semanas
Hemotrasfusiones	Cualitativa nominal dicotómica	Administración de sangre, o de algún derivado	Si No

	Independiente	de la sangre, al cuerpo del paciente	
Ruptura prematura de membranas	Cualitativa nominal dicotómica Independiente	Salida de líquido a través de la bolsa amniótica antes del inicio del trabajo de parto	Si No
Origen	Cualitativa nominal Independiente	Lugar de nacimiento	
Residencia	Cualitativa nominal Independiente	Lugar en donde se habita en la actualidad	
Apgar	Cuantitativa discreta Independiente	Evaluación del estado general del recién nacido de acuerdo a cinco parámetros, a los cuales se les asigna una	

		puntuación cuya suma da el resultado	
Sexo	Cualitativa dicotómica Independiente	<u>Género</u> , define de forma psicosocial los diferentes estados sexuales	Femenino Masculino
Chagas congénito	Cualitativa nominal dicotómica Dependiente	Chagas Congénito: Niño nacido de madre infectada, cuya infección es demostrada a través de la presencia: a) Del parásito al momento de nacer. b) Del parásito dentro del primer mes de vida sin antecedentes de trasplante de órganos incluyendo	Positivo Negativo

		<p>transfusiones de sangre.</p> <p>c) Del parásito o de anticuerpos propios anti <i>T. cruzi</i> después del sexto mes de vida en ausencia de contacto con vectores y/o trasplante de órganos incluyendo transfusiones de sangre.</p>	
ELISA anti- <i>T. cruzi</i>	<p>Cualitativa nominal dicotómica</p> <p>Dependiente</p>	Valores de absorbencia mayor o igual a 1	<p>Positivo</p> <p>Negativo</p>
PCR <i>T. cruzi</i>	<p>Cualitativa nominal dicotómica</p> <p>Dependiente</p>	Presencia de ADN blanco de <i>T. cruzi</i> usando cebadores para regiones TCZ1 y TCZ2	<p>Positivo</p> <p>Negativo</p>
Microhematócrito <i>T. cruzi</i>	<p>Cualitativa nominal dicotómica</p> <p>Dependiente</p>	<p>Observación microscópica del parásito</p> <p>en las muestras de sangre del individuo parasitado</p>	<p>Positivo</p> <p>Negativo</p>

Análisis estadístico.

Se trata de un estudio observacional, transversal, descriptivo. Se calcularon medidas de tendencia central, y medidas de dispersión según la naturaleza del atributo estudiado.

Se calculó la Tasa de Trasmisión de Chagas Congénito, calculado como el número de niños con Chagas Congénito/total de niños controlados hijos de madres infectadas.

Para la confirmación serológica se analizaron los resultados de 2 técnicas de diferente fundamento y utilizar los resultados de confirmación en la construcción de las tasas de prevalencia A y B.

Prevalencia A: Seroprevalencia de anticuerpo anti *T. cruzi* en embarazadas (anticuerpos)

Prevalencia B: Infección con *T. cruzi* en embarazadas (anticuerpos y/o parásitos)

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*) versión 12.

Consideraciones éticas.

El protocolo fue aceptado por las Comisiones de Investigación y Ética, en la sesión celebrada el 27 de septiembre de 2006 con el número de registro 212250-22601.

RESULTADOS

Resultados del Distrito Federal (Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”)

En el Instituto Nacional de Perinatología (INPer) se estudiaron hasta el momento 59 pacientes. La edad promedio de las mujeres fue de 30.1 ± 7.070 años, con un promedio de gestaciones de 2.5 ± 1.547 gestas, la edad gestacional promedio en el momento del evento obstétrico calculado por fecha de última menstruación fue de 38.6 ± 1.839 semanas de gestación, en 15 (25.4%) de las mujeres se diagnóstico ruptura prematura de membranas.

Cuarenta y un pacientes (69.5%) fueron originarias del Distrito Federal, 10 (16.9%) del Estado de México, 2 (3.4%) provenientes de Michoacan, 2(3.4%) pacientes de Puebla, 1 (1.7%) de Guanajuato encontrándose este mismo porcentaje en pacientes de Guerrero, Querétaro y Veracruz.(Fig 1). Dos pacientes (3.4%) contaron con el antecedente de trasfusión de hemoderivados.

En cuanto a las características demográficas de sus recién nacidos, la edad gestacional promedio calculada por Capurro fue de 39.1 ± 2.061 semanas de gestación, 33(55.9%) fueron masculinos. El peso promedio fue de 3057.2 ± 591.01 gramos, talla de 48.5 ± 2.89 centímetros y perímetro cefálico de 34.8 ± 1.28 centímetros. Fueron calificados con Apgar al minuto de 8.20 ± 1.32 y de $8.95 \pm .28$ a los 5 minutos.

Hasta el momento, se ha identificado una Tasa de Trasmisión de Chagas Congénito de cero.

Resultados de Jalisco (Hospital Civil de Guadalajara)

En la muestra del Estado de Jalisco participaron 150 pacientes hasta el momento del análisis. La edad promedio de las mujeres fue de 25.52 ± 2.79 años, con un promedio de gestaciones de 2.79 ± 1.70 gestas, la edad gestacional promedio en el momento del evento obstétrico calculado por fecha de última menstruación fue de 38.2 ± 2.72 semanas de gestación, en 100 (66.9%) de las mujeres se diagnóstico ruptura prematura de membranas. Cinco pacientes (3.3%) contaron con el

antecedente de transfusión de hemoderivados. Veintiseis de las madres estudiadas (17.3%) de las mujeres presentaron prueba de ELISA positiva.

En cuanto a las características demográficas de sus recién nacidos, la edad gestacional promedio calculada por Capurro fue de 39.1 ± 2.17 semanas de gestación, 88(58.6%) fueron masculinos. El peso promedio fue de 3128.4 ± 676.14 gramos, talla de 51.46 ± 4.79 centímetros y perímetro cefálico de 34.5 ± 2.89 centímetros. Fueron calificados con Apgar al minuto de 8.20 ± 1.32 y de 9.03 ± 0.959 a los 5 minutos. En este lugar la Tasa de Trasmisión Congénita es de cero.

Tres recién nacido fueron positivos para la prueba de reacción de polimerasa en cadena, (PCR) sin embargo , tanto la prueba de ELISA y la inmunocromatografía de las madres fue negativa. (Tabla 1).

Resultados de Oaxaca (Hospital General de Oaxaca)

En la muestra del Estado de Oaxaca se reclutaron 58 pacientes hasta el momento del análisis. La edad promedio de las mujeres fue de 24.52 ± 6.09 años, con un promedio de gestaciones de 2.62 ± 1.29 gestas, la edad gestacional promedio en el momento del evento obstétrico calculado por fecha de última menstruación fue de 38.62 ± 1.18 semanas de gestación, en 54 (94.7%) de las mujeres se diagnóstico ruptura prematura de membranas. Nadie contó con el antecedente de transfusión de hemoderivados. Tres de las madres(5.1%) tuvieron prueba de ELISA positivo.

En cuanto a las características demográficas de sus recién nacidos, la edad gestacional promedio calculada por Capurro fue de 39.3 ± 1.28 semanas de gestación, 31(53.4%) fueron masculinos. El peso promedio fue de 3080.69 ± 424.16 gramos, talla de 50.04 ± 2.56 centímetros y perímetro cefálico de 33.59 ± 1.74 centímetros. Fueron calificados con Apgar al minuto de 7.60 ± 1.02 y de 8.84 ± 0.489 a los 5 minutos. La tasa de trasmisión congénita fue de cero.

DISCUSION

Los cambios poblacionales han incrementado el riesgo de enfermedad por *T cruzi* aún en zonas que no se consideraban endémicas, ya que la historia natural de la enfermedad permite a las personas infectadas crónicamente, permanecer asintomáticos por décadas y por tanto sin sospecha de ser portadores de la enfermedad. Sin embargo, la ausencia de síntomas, no excluye el riesgo de trasmisión, tanto por transfusión sanguínea como por vía trasplacentaria.(72,73)

Di Pentima estudió la seroprevalencia de anticuerpos de *T cruzi* utilizando métodos de ELISA, entre las mujeres embarazadas de origen hispano en Houston, Texas. Reunió suero de 2,107 hispanas y 1658 no hispanas de los cuales encontró 9 muestras reactivas (0.4%) y 2 muestras reactivas (0.1%)

respectivamente. No se midió la transmisión congénita, sin embargo se plantea la necesidad de un tamizaje de anticuerpos para *T cruzi* en mujeres embarazadas para poder brindar intervención oportuna a los casos de enfermedad de Chagas congénita.(61)

En España se han informado también de casos de transmisión congénita de *T cruzi*, en una mujer proveniente de una zona endémica de Bolivia (74).

En las poblaciones que estudiamos, en la Ciudad de México, a partir de la década de los 50's, se ha identificado también un importante fenómeno de migración de otros estados, en donde la infección por *T cruzi* ha sido reconocida como endémica (Guerrero, Michoacán, Oaxaca e Hidalgo). En el 2005, de acuerdo al informe del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI) reportó que de otras ciudades llegaron al D.F. 187, 363 personas. Esta misma situación ocurre en el área metropolitana de Guadalajara, en donde se calcula que la población incrementa por migración en 78,000 habitantes por año. (75)

El fenómeno migratorio de probables madres portadoras de la enfermedad podría exponer a los recién nacidos en las zonas urbanas a estar infectados.

Por otra parte, la transmisión vertical de *T cruzi* ha ido aumentando su importancia relativa a medida que la transmisión vectorial y transfusional han sido y son crecientemente controladas (76,77). La transmisión vertical de *T cruzi* no puede ser prevenida, porque las drogas actualmente disponibles para el tratamiento específico de las mujeres embarazadas infectadas, el nifurtimox y el benznidazol, son tóxicas, y además se desconocen sus efectos en la mujer en edad reproductiva o embarazada. Es así que la transmisión vertical se plantea a futuro como una fuente continua de recién nacidos infectados aún cuando se halla eliminado completamente al vector y la transmisión transfusional.

Sin embargo no puede descartarse que la transmisión de la enfermedad de Chagas en las regiones estudiadas sea por transmisión vectorial, ya que se han reportado zonas endémicas aún de en altitudes de 3,100 m.s.n.m. (78) Las regiones que se estudiaron tienen alturas de 2240m.s.n.m México D.F., 1552 m.s.n.m en Guadalajara y de 1550 m.s.n.m en Oaxaca.

Bien se sabe que la detección precoz de la enfermedad de Chagas en mujeres embarazadas, permitirá el reconocimiento y tratamiento temprano de productos infectados. Hay que tomar en cuenta que el diagnóstico de la enfermedad de Chagas debe basarse en una combinación de resultados incluyendo la historia clínica, la detección del parásito y ensayos serológicos. En nuestro estudio, no hay que descartar que la presencia de seropositividad por prueba de ELISA pudiera también deberse a muestras con contaminación microbiana o de personas con

otras parasitosis o enfermedades Por otro lado, los hijos de madres seronegativas que tuvieron prueba parasitológica positiva, el resultado lo hemos explicado de dos maneras: 1) Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección con *T. cruzi*. La respuesta inmune humoral no es detectable durante las primeras semanas luego de la infección por ningún método existente en el mercado la posibilidad de que una embarazada seronegativa este en estadio agudo de la enfermedad incrementando el riesgo de transmisión (79). Ya además este mecanismo no podría descartarse ya que en modelos de perfusión placentaria con *T. cruzi*, han podido identificarse amastigotes intracitoplasmáticos a partir de 24-48 horas posterior a la perfusión. (80) 2) La prueba de PCR puede dar falsos positivos cuando no se lleva a cabo la correcta extracción del DNA.

A partir de la década de los 80`s, los países de América Latina han realizado enormes esfuerzos para controlar la infección, sin embargo, casos identificados en países no endémicos han demostrado la necesidad de globalizar estos esfuerzos. Por parte de la OMS se ha creado la Red Global para la Eliminación de Chagas con vista a la meta de la eliminación de la enfermedad de Chagas en el 2010.

Los expertos en este grupo han sugerido el fortalecimiento de la vigilancia epidemiológica y de los sistemas de información, prevención de la trasmisión por transfusiones de sangre y por trasplantes de órganos en países endémicos y no endémicos, identificación de pruebas de diagnóstico para el tamizaje y diagnóstico de infección, expansión de la prevención secundaria de la trasmisión congénita y manejo de casos de infecciones congénitas y no congénitas, así como la promoción de un consenso respecto al manejo adecuado de los casos antes mencionados.

En la mayoría de los países endémicos para la enfermedad de Chagas no existe un tamizaje prenatal de la mujer embarazada ni un diagnóstico de los recién nacidos en cuanto a su infección por *T. cruzi*. Blanco y cols (81) sin embargo iniciaron un proyecto para el control de la trasmisión congénita de esta enfermedad en una comunidad rural en Argentina. Este proyecto demostró que la trasmisión congénita de *T. cruzi* puede ser identificada exitosamente a una escala provincial, por medio de un programa inserto en el sistema de atención primaria de salud o del primer nivel de atención.

En México no hay programas de control formal de prevención de la trasmisión de enfermedad de Chagas, a pesar de que se ha estimado que la prevalencia en zona urbana es de 0.3% y hasta 15% en comunidades rurales al Sur del país.

Por esto, se puede asumir que alrededor de 1,600,000 personas podrían ser portadoras de la enfermedad, a pesar de que solo 441 casos se han reportado enfermos en todo el país. Con esto, existe un riesgo de que haya un buen número de mujeres embarazadas infectadas por *T. cruzi* con riesgo de transmitir la enfermedad a sus recién nacidos.(8) Creemos que uno de los principales limitantes en este estudio es el número de muestra, ya que debido al número de pacientes estudiadas se redujo la probabilidad de detectar casos de transmisión congénita, por lo que no se puede descartar que ocurra también en zonas urbana.

Existe el antecedente del estudio realizado por Mendoza y cols (82) en una zona endémica de Perú, que aunque no se encontraron casos de transmisión congénita intrauterina se recomienda diseñar estudios de detección prenatal que permitan evaluar a un mayor número de madres.

CONCLUSIONES

En nuestro estudio, la prevalencia de madres seropositivas fue más elevada en los estados de la República Mexicana en donde la enfermedad es endémica (Oaxaca y Jalisco) que en las no endémicas. Los casos de estas mujeres no fueron confirmados por al menos dos pruebas serológicas como lo establece OPS.

La magnitud de la transmisión congénita que ha sido reportada, justifican el esfuerzo necesario para detectar la infección en las madres y sus bebés, ya que si se aumentara la detección y seguimiento de la mujer embarazada y del bebé en donde se sabe que hay mayor prevalencia, este problema prácticamente desaparecería.

Si bien no es posible impedir la transmisión congénita, si se puede hacer un diagnóstico oportuno de la enfermedad, y con ello ofrecer un tratamiento eficaz al recién nacido.

ANEXO 1

PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi* EN MUJERES EMBARAZADAS Y SUS RECIÉN NACIDOS EN TRES HOSPITALES DE TERCER NIVEL

Folio Número_____.

FICHA DE IDENTIFICACIÓN.

1. Nombre de la madre:_____.
2. Lugar de origen:_____.
3. Tiempo de residencia (años):_____.
4. Edad (años cumplidos):_____.
5. Dirección: _____.
Calle y Número:_____.
- Colonia:_____ C.P._____.
- Delegación o Municipio:_____.
- Estado:_____.
- Teléfono casa (incluir LADA):_____.
- Teléfono celular:_____.
- Teléfono oficina:_____.
- Familiar o amigo de referencia:_____.
- Teléfono:_____.

ANTECEDENTES GINECOOBSTÉTRICOS.

6. Número de gestaciones:
1 a 2 (0) No (1) Si Número _____
3 a 4 (0) No (1) Si Número _____
5 a 6 (0) No (1) Si Número _____
1. Resolución de los embarazos:
Aborto (0) No (1) Si Número: _____
Parto (0) No (1) Si Número:_____
Cesárea (0) No (1) Si Número:_____
Óbito (0) No (1) Si Número:_____

8. Ruptura prematura de membranas en algún embarazo:

(0) No (1) Si

9. Semanas de Gestación por FUR: _____

ANTECEDENTES TRASFUSIONALES.

10. Recepción de hemoderivados en el pasado:

(0) No (1) Si

ANTECEDENTES DEL RECIÉN NACIDO:

11. Fecha de nacimiento (dd/mm/aa): _____

12. Sexo del producto:

(1) Femenino (2) Masculino.

13. Edad gestacional por Capurro: _____

14. Evolución del embarazo actual:

(1) Vivo sano

(2) Vivo enfermo

(3) Mortinato

15. Calificación de Apgar:

1 min. _____.

5 min. _____

SOMATOMETRÍA:

16. Peso al nacimiento (gramos): _____

17. Talla al nacimiento (centímetros): _____

18. Perímetro cefálico (centímetros): _____

19. Alteraciones en hígado _____

20. Alteraciones en corazón _____

21. Alteraciones digestivas _____m,m

22. Resultados de anti -*T. cruzi* por ELISA e Inmunocromatografía.

	Madre
Fecha de estudio	
Valor	

23. Resultados de PCR y microhematocrito para *T. cruzi*.

	RN
Fecha de estudio	
Valor	

ANEXO 2

CARTA DE CONSENTIMIENTO POR PARTE DEL FAMILIAR.

Estoy de acuerdo en participar en el estudio “**PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR *T. cruzi* EN MUJERES EMBARAZADAS Y EN SUS HIJOS RECIEN NACIDOS**” . Me han informado que **el objetivo** de este estudio es conocer la prevalencia de infección de un parásito que se puede transmitir por la picadura de una chinche infectada. **El propósito** es conocer la prevalencia con que se presenta esta infección en México en mujeres embarazadas **lo cual no se conoce** y el riesgo de transmisión del parásito es importante, porque podríamos evitar la transmisión de la enfermedad que causa el parásito a nuestros hijos recién nacidos. **Procedimiento experimental** Me explicó que el método para realizar este estudio consistirá en tomar sólo una vez (antes del parto) de la vena del antebrazo 5 ml de sangre y 2 ml de la sangre de cordón umbilical de mi hijo. Este procedimiento no es invasivo, no me causara ningún daño ni a mi hijo y es **calificado con riesgo mínimo para mi y sin riesgo por mi producto**, además que **no hay otro procedimiento para esta finalidad** Se me ha informado también que **el beneficio que obtendré será conocer si estoy infectada con este parásito**, así como mi hijo; lo que **permitirá poner en alerta a los médicos para recibir tratamiento** después del parto y lo antes posible **a mi hijo** para que se alivie de esta enfermedad transmitida por *T. cruzi*. Con el procedimiento de este estudio (toma de sangre de mi hijo y la mía). No tendré ningún riesgo conocido a corto o largo plazo ni tendré posibles molestias antes ni después de participar en el estudio.

Después de leer este consentimiento, **estoy en libre decisión de no participar en el estudio.**

Todos los resultados tendrán un carácter confidencial y no se lucrara con ellos, igualmente manifiesto que estoy en libertad de negarme a participar en el estudio y se me dará toda la oportunidad de hacer preguntas

En todo momento se podrá recurrir a la Dra. Enedina Jiménez-Cardoso Ph.D Investigador principal. Con dirección en Hospital Infantil de México Federico Gómez, Lab de Investigación en Parasitología.

Teléfono (55) 5588-4019, Celular 0445516070120 Fax (55) 5588-4019

E-mail: enedina @servidor.unam.mx

Así como con al Dr. Federico Javier Ortiz Ibarra, Médico Infectólogo Pediatra, Jefe del Departamento de Infectología e Inmunología, Instituto Nacional de Perinatología de México D. F.

Con teléfono (55) 5520-9900 Ext 334 Celular 5552141077 E-mail: fjoi2@yahoo.com

Por lo antes expuesto, estoy de acuerdo en participar en el estudio.

Fecha

Nombre y firma de la Madre y concubinario

Testigo

Nombre

Relación con el sujeto de estudio

Testigo

Nombre

Relación con el sujeto de estudio

TABLA 1. Características de los pacientes con estudio parasitológico positivo.

Caso	Edad materna	Modo de resolución del embarazo	Origen y residencia	Sexo del Producto	Edad Gestacional	Peso	Síntomas	Madre		Neonato	
								ELISA	CHAGAS STAT-PAK	Microhematócrito (micro-Strout)	PCR
1	31	Parto	Jalisco	Masculino	39 sem	2980g	Asintomático	Neg	Neg	Neg	Pos
2	39	Cesárea	Jalisco	Masculino	37 sem	3220g	Asintomático	Neg	Neg	Neg	Pos
3	18	Parto	Jalisco	Femenino	38 sem	4250g	Asintomático	Neg	Neg	Neg	Pos

Table 1 - Clinical, parasitological and serological results of infected mothers and newborns.

Case	Age	Week of infection	Week of delivery	Clinical symptoms	Type of delivery	Mother			Newborn	
						parasitology	serology	placenta	parasitology	serology
1	30	32	35	severe	cesarea	positive	doubtful	ND*	negative	negative
2	17	28	38	mild	cesarea	positive	doubtful	positive	negative	negative
3	19	20	38	mild	vaginal	positive	positive	ND	positive	positive

* Not done

REFERENCIAS

1. Freilij H, Altchek J. Chagas congénito. En: Storino R, Milei J (eds). Ed. Buenos Aires 1994. Enfermedad de Chagas. Mosby Doyma. 267-78, 1994.
2. Garcia, A., Bahamonde, I., Verdugo, S., Correa, J., Pastene, O., Solari, A., Tassara, R., Lorca, M. Infección transplacentaria por *Trypanosoma cruzi*: Situación en Chile, Revista Médica Chile 2001, 129
3. Carlier Y, Torrico F. Congenital infection with *Trypanosoma cruzi*: from mechanisms of transmission to strategies for diagnosis and control. Rev Soc Bras Med Trop. 2003; 36:767-771
4. Miles MA. The discovery of Chagas disease: progress and prejudice. Infect Dis Clin North Am 2004; 18:247-60
5. Lewinson R. The discovery of *Trypanosoma cruzi* and of the American trypanosomiasis (foot-notes to the history of Chagas' disease). Tran. R. Soc. Trop. Med. 1979; 73:513-523.
6. World Health Organization. Control of Chagas disease: report of a WHO expert committee. Geneva: WHO; 1991; 1-4.
7. Organización Panamericana de la Salud/ Organización Mundial de la Salud. La Salud en Las Américas. Washington D.C.: OPS/OMS; 1998; 1-14
8. Velasco-Castrejon O, Valdespino JL, Tapia-Conyer R, Salvatierra B, Guzman-Bracho C, Magos C. Seroepidemiología de la Enfermedad de Chagas en México. Salud Pública Méx 1992; 34:186-96
9. Kirchhoff LV: Chagas disease. American trypanosomiasis. Infect Dis Clin North Am 1993; 7: 487-502
10. Shikanai-Yasuda MA, Marcondes CB, Guedes LA, Siqueira GS, Barone AA, Dias JC. Possible oral transmission of acute Chagas' disease in Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1991;33:351-7
11. Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. Lancet Infect Dis 2001; 1:92-100
12. Tay J, Schenone H, Sanchez JT, Robert L. Estado actual de los conocimientos sobre la enfermedad de Chagas en la República Mexicana. Bol Chil Parasitol 1992;47:43-53.

13. Velasco Castrejon O, Guzmán Bracho C. Importancia de la enfermedad de Chagas en Mexico. Rev Latinoam Microbiol 1986;28: 275-283.
14. Peterson AT, Sánchez-Cordero V, Beard CB, Ramsey JM. Ecologic Niche Modeling and Potential Reservoirs for Chagas Disease, Mexico. Emerg Infect Dis 2002;8:662-7
15. Dumonteil E. Update on Chagas`disease in Mexico. Salud Pública Méx 1999; 41: 322-27
16. Tyler KM; Engman DM. The life cycle of *Trypanosoma cruzi* revisited. Review. Int Journal for Parasitol 2001; 31: 472-81
17. Andrews NW; Colli W. Adhesion and interiorization of *Trypanosoma cruzi* in mammalian cells. J Protozool 1982; 29: 264-9
18. Todeschini AR, Dias WB, Girard MF, Wieruszkeski JM, Mendonca-Previato JO. Enzymatically inactive trans-sialidase from *Trypanosoma cruzi* binds sialyl and beta-galactopyranosyl residues in a sequential ordered mechanism. J Biol Chem 2004;279:5323-8
19. Leguizamon MS, Mocetti E, García Rivello H, Argibay P, Campetella O. Trans-sialidase from *Trypanosoma cruzi* induces apoptosis in cells from the immune system in vivo. J Infect Dis 1999;180:1398-402
20. Burleigh BA, Woolsey AM. Cell signalling and *Trypanosoma cruzi* invasion. Cell Microbiol 2002; 4: 701-11.
21. Burleigh BA, Caler EV, Webster P, Andrews NW. A cytosolic serine endopeptidase from *Trypanosoma cruzi* is involved in the generation of a novel Ca²⁺-signaling factor for mammalian cells. J Biol Chem 1995; 270: 5172-80
22. Del Nery E, Juliano MA, Lima AP, Scharfstein J, Juliano L. Kininogenase activity by the major cysteinyl proteinase (cruzipain) from *Trypanosoma cruzi* . J Biol Chem 1997; 272: 25713-25718
23. Scharfstein J, Schmitz V, Morandi V, Capella MM, Lima AP, Morrot A. et al. Host cell invasion by *Trypanosoma cruzi* is potentiated by activation of bradykinin B (2) receptors. J Exp Med 2000; 192:1289-300.
24. Ley V, Andrews NW, Robbins ES, Nussenzweig V. Amastigotes from *Trypanosoma cruzi* sustain an infective cycle in mammalian cell. J Exp Med 1988; 168: 649-59.

25. Moncayo A, Ortiz Yanine MI. An update on Chagas disease (human American trypanosomiasis). *Ann Trop Med Parasitol* 2006; 100:663-77
26. Teixeira AR, Nitz N, Guimaro MC, Gomes C, Santos-Buch CA. Chagas disease. *Postgrad Med J* 2006;82:788-98
27. Gomes ML, Nunes RM, Cancado JR. Chagas' disease diagnosis: comparative analysis of parasitologic, molecular, and serologic methods. *Am J Trop Med Hyg* 1999;60:205-10
28. Azogue E. Women and congenital Chagas' disease in Santa Cruz, Bolivia: epidemiological and sociocultural aspects. *Soc. Sci. Med.* 1993; 37: 503-511.
29. Sánchez Negrette O, Mora MC, Basombrio MA. High Prevalence of Congenital *Trypanosoma cruzi* infection and Family Cluster in Salta, Argentina. *Pediatrics* 2005;115:e668-72
30. Guzman-Bracho C, Lahuerta S, Velasco-Castrejon O. Chagas disease. First congenital case report. *Arch Med Res* 29:195-6, 1998.
31. Votta R, Marchese C, Sousa Martinez F, Lautrec L, González C, Arendt F, Toranzos A, Fernández Díaz H. La enfermedad de Chagas en la embarazada y el recién nacido. *Rev Soc Arg Ginec Obst (Buenos Aires)* 53:56, 1974.
32. Hermann E, Truyens C, Alonso-Vega C, Rodríguez P, Berthe A, Torrico F. et al. Congenital Transmisión of *Trypanosoma cruzi* is associated with maternal enhanced parasitemia and decreased productions of interferon gamma in response to parasite antigens. *J Infect Dis* 2004;189(7):1274-81.
33. Assini M, Otero G, Bertona C. Transmisión transplacentaria de la enfermedad de Chagas. Demostración histopatológica. *Rev Bras Pesquis Med Biol.* 3:45, 1970.
34. Torrico F, Vega CA, Suárez E, Tellez T, Brutus L, Rodríguez P. et al. Are maternal re-infections with *Trypanosoma cruzi* associated with higher morbidity and mortality of congenital Chagas disease? *Trop Med Int Health* 2006; 11: 62835
35. Schenone H, Gaggero M, Sapunar J, Contreras MC, Rojas A. Congenital Chagas disease of second generation in Santiago, Chile. Report of two cases. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 43:231-2, 2001.

36. Azogue E. and Darras C. Prospective study of Chagas´disease in newborn children with placental infection caused by *Trypanosoma cruzi* (Santa Cruz-Bolivia). Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 1991; 24: 105-109.
37. Contreras, S, Fernandez MR, Agüero F, Dese-Dese J, Orduna T. y Martino O. Enfermedad de Chagas-Mazza congenita en Salta, Argentina. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 1999; 32: 633-636.
38. Buekens P, Almendares O, Carlier Y, Dumonteil E, Eberhard M, Gamboa-Leon R. et al. Mother-to –child transmission of Chagas´Disease in North America: Why don´t we do more? Matern Child Health J 2007
39. Torrico, F., Alonso-Vega, C., Suarez, E., Rodríguez, P., Torrico, M., Dramaix, M., Truyens, C., Carlier, Y. 2004 Maternal *Trypanosoma cruzi* infection, pregnancy outcome, morbidity, and mortality of congenitally infected and non-infected newborns in Bolivia, Am J Trop Med Hyg 2004; 70:201-9
40. Bittencourt, A., Barbosa, H. Incidencia da transmissao congenita da doenga do Chagas em abortos, Revista de Instituto Medico Tropical de Sao Paulo 1972; 14:257-59
41. Bittencourt, A., Barbosa, H. Importancia do estudo do feto macerado para o diagnostico da forma congenita doenga de Chagas, Revista de Instituto Medico Tropical de Sao Paulo 1972;14: 260-3
42. Azogue E. Women and congenital Chagas´disease in Santa Cruz, Bolivia: epidemiological and sociocultural aspects. Soc. Sci. Med. 1993; 37: 503-511.
43. Ponce C, Ponce E, Vincelli E, Montoya A, de Aguilar V, Gonzalez A. et al. Validation of a rapid and reliable test for diagnosis of Chagas´disease by detection of *Trypanosoma cruzi*-specific antibodies in blood donors and patients in Central America. J. Clin. Microbiol. 2005; 43: 5065-8.
44. Freilij, H. & Altchek, J. Congenital Chagas' disease. Diagnostic and clinical aspects. *Clin Infect Dis* 1995; 21:551–5
45. Moya P, Moretti E, Paolasso R, Basso B, Blanco S, Sanmartino C, Soich de Cura A. Neonatal Chagas´disease:; laboratory diagnosis during the first year of life. Medicina 1989; 49:595

46. Mora CM, Sanchez NO, Marco D, Barrio A, Claccio M, Segura A and Basombrío MA Early diagnosis of congenital *Trypanosoma cruzi* infection using PCR, hemoculture, and capillary concentration, as compared with delayed serology. *J. Parasitol.* 2005; 91: 1468-1473.
47. Marr J, Docampo R. Chemotherapy for Chagas' disease: a perspective of current therapy and considerations for future research. *Rev Infect Dis* 1986; 8:884-903
48. Stoppani AOM, Quimioterapia de la Enfermedad de Chagas. *Medicina* 1999;59:147-65
49. Moya PR, Paolasso R, Blanco S, La Passet M, San Martino C, Basso B. et al. Tratamiento de la Enfermedad de Chagas con Nifurtimox durante los primeros meses de vida. *Medicina* 1985; 45: 553-8
50. López-Antuñano FJ. Quimioterapia de las infecciones producidas por *Trypanosoma cruzi*. *Salud Pública Mex* 1997; 39:463-71
51. Castro JA, de Mecca MM, Bartel LC. Toxic side effects of drugs used to treat Chagas' disease (American trypanosomiasis). *Hum Exp Toxicol* 2006; 25:471-9
52. Azogue CE. Tratamiento de la enfermedad de Chagas congénito con Nifurtimox y Benznidasol: Una experiencia en Santa Cruz Bolivia. *Rev Inst Med Su* 1999; 64:39-43
53. De Castro, S. L. The challenge of Chagas' disease chemotherapy: an update of drugs assayed against *Trypanosoma cruzi*. *Acta Trop* 1993; 53, 83–98
54. Russomando, G., De Tomassone, M. C., De Guillen, I., Acosta, N., Vera, N., Almiron, M. et al. Treatment of congenital Chagas' disease and follow-up by the polymerase chain reaction 1998; *Am J Trop Med Hyg* 59, 487–91
55. Nozaki T, Engel JC, Dvorak JA. Cellular and Molecular Biological Analyses of Nifurtimox Resistance in *Trypanosoma cruzi*. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 1996; 55:111-7
56. Moya P, Prolaso R, Blanco S et al. Tratamiento de la enfermedad de Chagas con Nifortimox durante los primeros meses de vida. *Medicina* 1985; 45:553.

57. Vallejo AM , Reyes PA. Tripanosomiasis americana: ¿un problema sociomédico en México? Arch Inst Cardio Mex 1996;66: 95-97.
58. Blanco S, Segura E, Cura E, Chuit R, Tulian L, Flores I, Garbarino G, Villalonga J, Gurtler R. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi*: an operational outline for detecting and treating infected infants in north-western Argentina. Trop Med Int Health 5:293-301, 2000.
59. Frank M, Hegenscheid B, Janitschke K, Weinke T. Prevalence and epidemiological significance of *Trypanosoma cruzi* infection among Latin American immigrants in Berlin, Germany. Infection 1998;25:355-8
60. Jaramillo R, Bryan JP, Schur J, Pan AA. Prevalence of antibody to *Trypanosoma cruzi* in three populations in Belize. Am J Trop Med Hyg 57:298-301, 1997.
61. Di Pentima MC, Hwang LY, Skeeter CM, Edwards MS. Prevalence of antibody to *Trypanosoma cruzi* in pregnant Hispanic women in Houston. Clin Infect Dis 28:1281-5, 1999.
62. Monteón VM, Sosa T, Reyes PA. Serological tests for American trypanosomiasis. A comparative study. Rev Latinoam Microbiol 1989;31:35-8.
63. Petray P, Bonardello N, Clark R, Agranatti M, Corral R, Grinstein S. Rev Inst Med Trop S Paulo 1992;34:141-7
64. Luquetti AO, Ponce C, Ponce E, Esfandiari J, Schijman A, Revollo S. et al . Chagas´disease diagnosis: a multicentric evaluation of Chagas Stat-Pak, a rapid immunocromatographic assay with recombinant proteins of *Trypanosoma cruzi*. Diag. Microbiol. Infect. Dis. 2003; 46: 265-271.
65. Luquetti AO, Ponce C, Ponce E, Esfandiari J, Schijman A, Revollo S. et al. Chagas´s disease diagnosis: a multicentric evaluation of Chagas Stat-Pak, a rapid immunochromatographic assay with recombinant proteins of *Trypanosoma cruzi*. Diag Microbiol Infect Dis 2003; 46: 265-71

66. Ponce C, Ponce E, Vinelli E, Montoya A, de Aguilar V, González A . et al. Validation of a Rapid and Reliable Test for Diagnosis of Chagas Disease by Detection of *Trypanosoma cruzi*-Specific Antibodies in Blood of Donors and Patients in Central America. *J Clin Microbiol* 2005; 5065-68
67. Feilij H, Muller L, González Cappa SM. Direct Micromethod for Diagnosis of Acute and Congenital Chagas´ Disease. *J Clin Microbiol* 1983; 18:327-30
68. Virreyra M, Torrico F, Truyens,C, Alonso-Vega C, Solano, M, Carlier, Y. and Svoboda, M. Comparison of Polymerase Chain Reaction methods for reliable and easy detection of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2003;68:574-582.
69. Moser DR, Kirchoff LV, Donelson JE: Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA amplification using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1989, 27:1477-1482.
70. Kirchoff LV, Votava JR, Ochs DE, Moser DR: Comparison of PCR and microscopic methods for detecting *Trypanosoma cruzi*. *J Clin Microbiol* 1996, 34(5):1171-1175.
71. Pizarro JC, Lucero DE, Stevens L. PCR reveals significantly higher rates of *Trypanosoma cruzi* infection than microscopy in the Chagas vector, *Triatoma infestans*: High rates found in Chuquisaca, Bolivia. *BMC Infect Dis.* 2007;7:66
72. Kirchoff LV. Changing epidemiology and approaches to therapy for Chagas disease. *Curr Infect Dis Res* 2003; 5: 59-65
73. Kirchoff LV. American tripanosomiasis (Chagas´disease): a tropical disease now in United States. *N Engl J Med* 1993; 329:634-44
74. Riera C, Guarro A, El Kassab H, Jorba JM, Castro M, Angrill R. et al. Congenital Transmission of *Trypanosoma cruzi* in Europe (Spain): A case report. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 2006;75: 1078-81
75. Arroyo AJ. The metropolitan area of Guadalajara. The population growth transition. *Demos* 1994; 15-6

- 76.G. J. Ebrahim. Eradication of American Trypanosomiasis (Chagas' Disease): An Achievable Goal? *J Trop Pediatr* 2004 50: 320-21
- 77.Moncayo A. Chagas disease: current epidemiological trends after the interruption of vectoral and transfusional transmission in the Southern Cone countries. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; 98: 577–91
- 78.Vidaurre-Rojas T, Córdova-Lazo G, Pérez-Villasante L, Córdova-Benzaquen E, Saldías Vargas J, Vivar-Mendoza A. Enfermedad de Chagas en sujetos asintomáticos con y sin alteraciones electrocardiográficas en una zona endémica. *Boletín de la Sociedad Peruana de Medicina Interna* 1999;12
79. Moretti E, Basso B, Castro I, Carrizo-Paez M, Chaul M, Barbieri G. et al. Chagas' disease: study of congenital transmission in cases of acute maternal infection. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005; 38:53-5
- 80.Shippey SH, Zahn CM, Cisar MM, Wu TJ, Satin AJ. Use of the placental perfusion model to evaluate transplacental passage of *Trypanosoma cruzi*. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192:586-91.
- 81.Blanco SB, Segura EL, Gürtler RE. El Control de la Trasmisión Congénita de *Trypanosoma cruzi* en la Argentina. *Medicina* 1999;59:138-42
- 82.Mendoza-Ticona CA, Córdova-Benzaguen E, Ancca-Juárez J, Saldaña-Díaz Joselito, Torres-Choque A, Velázquez Talavera R. et al. Prevalencia de la enfermedad de Chagas en púerperas y transmisión congénita en una zona endémica del Perú *Rev Panam Salud Publica* 2005; 17:147-53