

## ESTUDIO PROSPECTIVO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN RECIEN NACIDOS CON INFECCIÓN PLACENTARIA POR *TRYPANOSOMA CRUZI* (SANTA CRUZ-BOLIVIA)

Esperanza Azogue y Christian Darras

*Para conocer la significación de la infección placentaria por T. cruzi, 820 recién nacidos (RN) con peso  $\leq 2500$  grs fueron examinados por los métodos del Strout y cortes histopatológicos de placenta. 35 RN presentaron infección placentaria por T. cruzi, pero con el examen parasitológico directo en sangre del cordón umbilical negativo. A estos RN se les hizo el seguimiento parasitológico (microhematocrito y xenodiagnóstico) para detectar una eventual positividad en el post-parto. El seguimiento fué a los 7, 15, 30 y 60 días después del nacimiento y con xenodiagnóstico a los 15 días. En 27 RN se pudo completar el seguimiento observándose una positividad parasitaria a T. cruzi en todos los casos. En el grupo control constituido por RN negativos a ambos métodos, no hubo ninguna positividad durante el seguimiento. Estas observaciones nos permiten proponer, que un recién nacido con infección placentaria por T. cruzi es un caso congénito y establecer un esquema práctico de diagnóstico precoz de la enfermedad de Chagas congénito.*

*Palabras-chaves: Recién nacidos. Infección placentaria. Trypanosoma cruzi. Chagas Bolivia.*

En un estudio anterior Azogue y cols<sup>2</sup> en 1985, evidenciaron la importancia de la vía congénita de transmisión de la enfermedad de Chagas en Santa Cruz - Bolivia. Los autores observaron una proporción del 4% de infección chagásica en los recién nacidos (RN), comprobado por el examen por parasitológico directo (Strout), en sangre del cordón umbilical al momento del nacimiento. Sin embargo el 1% de los RN presentaron infección placentaria a *T. cruzi* visualizada por el examen histopatológico, sin que haya presencia del parásito en sangre del RN.

Andrade<sup>1</sup> en 1982, al notar que diferentes cepas de *T. cruzi*, inoculados en ratones, producen un parasitismo variable en la estructura placentaria, sin presencia del *T. cruzi* en los órganos fetales de las crías; postula que la visualización del parásito en vellosidades coriales, sería nada más que una infección placentaria.

Por otra parte, Azogue y cols<sup>4</sup> en 1985 a través de un estudio experimental, mostró el valor del seguimiento parasitológico por el método del micro-

hematocrito, para detectar la transmisión del *T. cruzi*, en las crías procedentes de ratones grávidas, previamente inoculadas.

En virtud a estas observaciones y con la hipótesis de que la presencia del *T. cruzi*, en placenta no solo sería infección placentaria, sino que ya existiría la transmisión de la enfermedad al feto, se inició el presente estudio, para establecer un esquema práctico de diagnóstico precoz de la enfermedad de Chagas por vía congénita en el RN, confrontando diversos métodos de diagnóstico (histopatología, parasitología y serología).

### MATERIAL Y METODOS

Se hizo un estudio prospectivo dirigido a conocer la evolución parasitológica del RN que presentaban infección placentaria en ausencia del *T. cruzi* en sangre del cordón umbilical al momento del nacimiento. El estudio se limitó a los RN que presentaban un peso  $\leq 2500$  grs. grupo considerados a riesgo<sup>2</sup>.

Se examinaron 820 RN, de madres que concurren en trabajo de parto al Instituto de Maternidad "Percy Boland" de la ciudad de Santa Cruz, en el período comprendido de marzo de 1988 a diciembre de 1989.

*Identificación de los Casos y Controles.* Se tomaron muestras de sangre del cordón umbilical (muñón placentario) después del parto y antes del alumbramiento de la placenta. La muestra fue utilizada para identificar la presencia del *T. cruzi* por el método del Strout, modificado de Flores y cols<sup>8</sup>. Se hizo el examen clínico del RN y se llenó una ficha. La descripción de la placenta se hizo en fresco, siguiendo

Servicio de Patología, Centro Nacional de Enfermedades Tropicales, Santa Cruz, Bolivia.

Trabajo presentado en el 3er congreso Latinoamericano de Medicina Tropical en México 20-24 de mayo 1990.

Este proyecto ha sido financiado por el IDRC Recentre Ottawa, Canadá.

Endereço para correspondência: Dra. Esperanza Azogue. Servicio de Patología/CENETROP. Casilla 2974. Santa Cruz, Bolivia.

Recebido para publicação em 03/12/90.

la técnica de Bernischke<sup>5</sup>, las membranas y el cordón fueron considerados en el peso de la placenta. Cortes del cordón, membranas y placenta fueron incluidos en parafina y coloreados por el método de la hematoxilina eosina y la búsqueda del parásito en los cortes histopatológicos.

Se tomó muestras de sangre venosa de la madre para realizar la prueba de la hemaglutinación indirecta para chagas (H.A.I. Boehringer) La reacción serológica en las madres, se consideró positiva a una dilución de 1/30.

El grupo de Estudio (E) fué constituido por RN en los cuáles el *T. cruzi*, no fué detectado en sangre de cordón umbilical al momento del nacimiento, por el método de concentración (Strout); pero si, al examen histopatológico de placenta y con la serología materna positiva (H.A.I.).

Se tomaron 2 grupos controles que nos informaran sobre la incidencia de la transmisión no congénita dentro de este grupo de edad; Un grupo control de RN, que a las pruebas parasitológicas directas del Strout y el histopatológico de placenta no, se observó el *T. cruzi* y la serología materna fué positiva (grupo control A) y el otro grupo de RN, en los cuales no estaba presente el *T. cruzi* en sangre de cordón umbilical, ni en la placenta y con la serología materna negativa (grupo control B).

**Seguimiento de los casos y controles.** Se hizo através de visitas domiciliarias, en el consultorio de CENETROP y en el servicio de neonatología del Instituto de Maternidad "Percy Boland". A los RN que presentaron los exámenes parasitológicos directos negativos a *T. cruzi* en sangre de cordón umbilical, con el examen histopatológico positivo a *T. cruzi* (grupo E), se les hizo el seguimiento clínico y parasitológico utilizando, el método del microhematocrito<sup>10</sup> a los 7, 15, 30 y 60 días después del nacimiento y un xenodiagnóstico a los 15 días (1 caja de 14 ninfas de triatominos de 3er estadio).

Este mismo seguimiento se realizó en el grupo control (A). Al grupo control (B), se les hizo un solo examen parasitológico directo a los 30 días después del nacimiento. Se tomó una muestra de 30 RN para cada grupo control.

Todos los casos positivos a *T. cruzi* circulante, fueron tratados con benzonidazol a la dosis de 5 mlgr/kg/peso por día, durante 1 mes.

## RESULTADOS

**Estudio de los RN de los casos y controles.** De los 820 RN examinados al momento del nacimiento, se han encontrado 78 RN positivos a la presencia del *T. cruzi*, 43 RN detectados por los métodos del Strout e histopatología de placenta y 35 RN (grupo E) solo

Tabla 1 - Relación de la infección chagásica de los (RN) de peso  $\leq 2500$  grs según métodos de diagnóstico al nacimiento.

Histopatología de placenta	STROUT		Total
	Positivo	Negativo	
Positiva	43	35	78
Negativa	0	742	742
Total	43	777	820

por el estudio histopatológico de placenta (Tabla 1). Se hace notar que se observó la presencia del *T. cruzi* en placenta, predominantemente en cordón umbilical y membranas extraplacentarias.

Clinicamente se obtuvo información en 777 RN al momento del nacimiento habiéndose eliminado 43 RN por falta de datos y por algunos fallecidos a las pocas horas después del parto. En estos RN se constató, que 314 fueron sintomáticos y 463 no presentaron signos ni síntomas (asintomáticos) al nacimiento. Los 78 RN infectados a *T. cruzi* y detectados ya sea, por el método del Strout y/o histopatológico de placenta, se los pudo agrupar de la misma manera, habiéndose observado 57 RN sintomáticos, y 21 RN asintomáticos.

En los RN no infectados se ha observado 257 RN sintomáticos y 442 asintomáticos (Tabla 2).

Tabla 2 - Aspectos clínicos de los (RN) de peso  $\leq 2500$  grs en relación con la presencia del *T. cruzi*.

Examen clínico	Infectados	No infectados	Total
Sintomáticos	57	257	314
Asintomáticos	21	442	463
Total	78	699	777

Los signos y síntomas encontrados en los RN infectados, varía en relación con el tiempo, así en 42 RN la sintomatología, se manifestó desde el nacimiento; 9 RN a los 7 días y en 6 RN a los 15 días después del nacimiento.

Reagrupando los signos clínicos observados en los RN infectados, el más llamativo es la hepatoesplenomegalia con o sin ictericia. La diferencia estadística es significativa ( $X^2:28,27$ ;  $p < 0,001$ ), en relación con los RN no infectados (Tabla 3).

Por otra parte se observa una frecuencia mayor de infección a *T. cruzi* en los RN de sexo femenino (50 infectadas de un total de 417), en relación al sexo masculino (28 infectados de un total de 403). La diferencia también es estadísticamente significativa. ( $X^2:5,48$ ;  $p < 0,005$ ).

**Seguimiento parasitológico de los casos (E) y controles (A) y (B).** De los 35 RN que presentaron infección placentaria a *T. cruzi*, con el examen parasitológico directo (Strout), negativo en sangre del

Tabla 3 - Frecuencia de los signos y síntomas observados en los (RN) de peso  $\leq 2500$  grs infectados por el *T. cruzi* y los no infectados.

Signos y síntomas	Recien Nacidos			
	Infectados	%	No infectados	%
Ict. Hep. Espl.*	13	23	7	22
Hep. Espl.	19	33	6	2
Hep. **	4	7	8	3
Ictericia	11	19	58	26
Dif. Resp.***	2	4	120	47
Edema sin Godet	4	7	36	14
Otros Sint.****	4	7	22	9
TOTAL	57	100	257	100

\* Ictericia, Hepatomegalia. Esplenomegalia. \*\* Hepatomegalia.

\*\*\* Dificultad respiratoria. \*\*\*\* Otros síntomas.

cordón a *T. cruzi* (grupo E); 27 completaron su seguimiento y todos presentaron positividad parasitológica, por el método de concentración en tubos capilares (microhematocrito).

En los 8 RN restantes no se consiguió efectuar el seguimiento por razones de tipo operativo y/o por óbitos post-nacimiento.

La aparición de la positividad parasitológica de los RN después del nacimiento fue el siguiente: 4 se positivaron a los 4 días; 11 a los 7 días; 8 a los 15 días y 4 a los 30 días. No hubo necesidad de realizar la toma de sangre a los 60 días.

El xenodiagnóstico a los 15 días, fue efectuado en 12 casos, todos ellos positivos, que reforzaron la positividad del microhematocrito. Los RN de los grupos controles (A) y (B) completaron todos su seguimiento y ninguno se positivizó a los exámenes parasitológicos directos (microhematocrito y/o xenodiagnóstico). (Tabla 4 y 5).

Tabla 4 - Positivación parasitológica del RN con y sin infección placentaria a *T. cruzi*.

RN $\leq 2500$ grs	Al nacimiento	Positivo al seguimiento	Sin seguimiento
Con infección placentaria (E)	35	27	8
Sin infección placentaria (A) y (B)	60	0	0

Tabla 5 - Tiempo de positividad parasitológica en los (RN) de peso  $\leq 2500$  grs con infección placentaria.

Grupo E	Días de positividad a <i>T. cruzi</i>							
	4 días		7 días		15 días		30 días	
	Nº	%*	Nº	%*	Nº	%*	Nº	%*
27	4	15%	11	40-55%	8	30-85%	4	15-100%

\* Porcentajes acumulativos

*Estudio Serológico de las Madres.* En el estudio serológico de las madres no se tomaron en cuenta los casos dudosos y las madres en quienes no se les había conseguido tomar muestras de sangre.

De las 760 madres estudiadas 410 fueron positivas a la hemaglutinación indirecta para Chagas (H.A.I.), lo que nos da una prevalencia serológica de 54% (410/760).

En relación con los RN infectados a *T. cruzi*, todas las madres fueron positivas a la serología a excepción de 2 madres, en quienes la serología fue negativa a pesar repetidos estudios serológicos y Strout negativo.

## DISCUSION

Las observaciones encontradas en este estudio, nos dan un porcentaje global de positividad del 9,5% (70/820) en este grupo de RN de peso menor o igual a 2500 grs. para la transmisión congénita de la enfermedad de Chagas, esta cifra se eleva aún más, si tomamos en cuenta solo a las madres con serología positiva 18,5% (76/410).

Este dato en relación con lo observado por otros investigadores es elevado; Bittecourt y cols<sup>7</sup> en 1972, tomando en cuenta a las madres con serología positiva en Bahia Brasil, observó una incidencia de transmisión de 10,5% en nativos y natimueertos de peso menor o igual a 2000 grs. La metodología de diagnóstico empleada en este estudio fue por realización del xenodiagnóstico en los RN, el examen anatomopatológico de la placenta, sus anexos y de la autopsia de los nati y neomuertos.

Schmunis y cols 1977, Votta y cols 1983 y Bonet 1972 cit, por Bittencourt<sup>6</sup>, han observado que en diferentes regiones de la Argentina la incidencia de la transmisión varía de 2,3 a 10,4% en los RN de madres serológicamente positivas para Chagas, detectados los casos, por el método del xenodiagnóstico en los RN.

Azogue y cols<sup>2</sup> en Santa Cruz Bolivia, observó una incidencia del 15,5% para la transmisión congénita, considerando también solo a las madres serológicamente positivas para Chagas. La metodología

empleada en este estudio fué la visualización del *T. cruzi* en sangre del cordón del RN y/o por el estudio histopatológico de placenta y sus anexos (cordón umbilical y membranas extraplacentarias).

En cuanto a la significación de la infección placentaria por *T. cruzi*, hemos podido observar que los RN negativos a los métodos parasitológicos directos al momento del nacimiento, se positivizaron en el transcurso de los 30 primeros días. La literatura al respecto menciona dos casos de RN con infección placentaria a *T. cruzi* sin presencia del parásito en la sangre del RN al momento del nacimiento y tampoco al seguimiento. En un caso el parasitismo en placenta, se observó a nivel del trofoblasto<sup>12</sup> y sus alrededores (cara materna) y en el otro caso, a nivel de placa corial en escaso número y con infiltrado infamatorio<sup>11</sup>. En nuestra casuística la observación del parásito, se efectuó principalmente en cordón umbilical y membranas extraplacentarias, postulando un mecanismo diferente de transmisión de la enfermedad de Chagas a nivel placentario. No tenemos conocimiento de otros estudios prospectivos de RN. En este estudio todos los RN, con infección placentaria por *T. cruzi* se positivizaron, durante el seguimiento por el método del microhematocrito, observaciones que nos permiten proponer, que la infección placentaria en membranas y cordón umbilical por *T. cruzi*, es signo de transmisión congénita.

En cuanto a la sintomatología de los RN, se destaca la hepato-esplenomegalia con o sin ictericia como signos importantes de sospecha de la enfermedad. Estas observaciones son similares a las de Howard y cols<sup>9</sup>, que asociaron estos datos a la prematuridad en regiones endémicas. Es de destacar la frecuencia de RN asintomáticos en el grupo de los infectados, lo que puede ser debido a una transmisión reciente o de los últimos días de la gestación<sup>3</sup>.

Es interesante la observación de la mayor frecuencia de transmisión congénita en el sexo femenino confirmando lo observado anteriormente por Azogue y cols<sup>3</sup>. Esta transmisión predominante en el sexo femenino, tiene una trascendencia para la transmisión en una 2ª y 3ª generación<sup>13</sup> aún cuando medidas de control hayan eliminado las otras vías de transmisión (vector y por transfusión de sangre).

La posibilidad de que esta transmisión no sea siempre detectada al momento del nacimiento por los exámenes parasitológicos directos, indica la necesidad de un seguimiento del RN durante el primer mes de vida, especialmente cuando existe datos de riesgo como son: el bajo peso al nacer y la hepato esplenomegalia.

#### SUMMARY

*In order to know the significance of placental infection by T. cruzi 820 newborn infants (NB) weighing less than or*

*equal to 2500 grs were examined both clinically and by the Strout method and histopathological sections of the placenta in order to detect congenital infection with Chagas' disease. Thirty five (4,26%) NB presented a placental infections by T. cruzi, but having a negative direct parasitological examination in the cord blood, these NB were followed up parasitologically (microhematocrit), in order to detect an eventual positive change in the post-partum period. The follow-up was done at 7, 15, 30 and 60 days after birth, and with xenodiagnosis 15 days later. In 27 newborn (3,29%) it was possible to complete their follow-up with detection of T. cruzi in every case. In the control group, constituted by NB which were negative to both methods, there was no positivation at all during the follow-up period. These observations show a high frequency of congenital T. cruzi infection in Santa Cruz.*

*Key-words: Newborn. Placental infection. Trypanosoma cruzi. Chaga's disease Bolivia.*

#### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al personal técnico de los laboratorios de CENETROP en las personas: Sra. Yelin Roca, técnica del Laboratorio de Serología; Sra. Amalia Quiroga, técnica de Laboratorio de Anatomía Patológica, por su ayuda y colaboración decidida. Agradecemos también al Director del Instituto de Maternidad "Percy Boland" Dr. Roger Jiménez. A los médicos residentes que intervinieron en la toma de las muestras; así como a la Dra. Jenny Dávalos del servicio de Neonatología por el examen clínico realizado en los recién nacidos del presente estudio.

#### REFERENCIAS

1. Andrade SG. The influence of the strain of *Trypanosoma cruzi* in placental infections in mice. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 76: 123-128, 1982.
2. Azogue E, La Fuente C, Darras C. Congenital Chagas' disease in Bolivia. Epidemiological aspect and pathological findings. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 79: 176-180, 1985.
3. Azogue E, Urioste G. Transmisión congénita de la enfermedad de Chagas en Santa Cruz Bolivia. III - Aspectos clínicos y anatomopatológicos del recién nacido. *Boletín Científico del Centro Nacional de Enfermedades Tropicales* 11: 21-30, 1985.
4. Azogue E, Yan Marck E. Modelo experimental de transmisión congénita de la enfermedad de Chagas en ratones NMRI (fase aguda). *Boletín Científico del Centro Nacional de Enfermedades Tropicales* 11: 86-96, 1985.
5. Benirschke K. Examination of the placenta. *Obstetrics and Gynecology* 18: 309-333, 1961.
6. Bittencourt AL. Doença de Chagas congênita na Bahia. *Revista Bahiana de Saúde Pública* 11: 165-208, 1984.

7. Bittencourt AL, Barbosa HS, Rocha T, Sodré A. Incidencia a transmissao congénita da doença de Chagas en partos prematuros na maternidade Tsylla Albino (Salvador, Bahia). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 14: 131-134, 1972.
8. Flores MA, Trejos A, Paredes AR, Ramos AV. El método de concentración de Strout en el diagnóstico de la fase aguda de la enfermedad de Chagas. *Boletín Chileno de Parasitología* 21: 38-39, 1966.
9. Howard J, Rubio M. Congenital Chagas' disease. I. Clinical and epidemiological study of thirty cases. *Boletín Chileno de Parasitología* 23: 107-112, 1968.
10. Lafuente C, Urgel R, Darras C, Saucedo E. Uso de tubos de microhematocrito para el diagnóstico rápido de la enfermedad de Chagas y malaria. *Annales de la Société Belge de Medecine Tropicale* 65 (Suppl): 95-99, 1985.
11. Moya PR, Villagra L, Risco J. Enfermedad de Chagas congenita. Hallazgos anatomopatologicos en placenta y cordon umbilical. *Revista de la Facultad de Ciencias Medicas* 21: 27, 1979.
12. Rassi A, Borges C, Kôeberle F, De Paula OH. Sobre a transmissao congénita da doença de Chagas. (A proposito da observação de una parturienta na fase aguda). *Revista Goiana de Medicina* 4: 319-322, 1958.
13. Schenone H, Iglesias J, Schenone S, Contreras MC. Infección chagastica congénita de segunda generación. *Boletín Chileno de Parasitología* 42: 71-73, 1987.