

Le dépistage de l'infection congénitale par *Trypanosoma cruzi* en France métropolitaine

Screening for congenital infection by *Trypanosoma cruzi* in France

L. Brutus · J.-A. Santalla · N.-A. Salas · D. Schneider · J.-P. Chippaux

Article reçu le 1^{er} juillet 2009 ; accepté le 7 juillet 2009
© Société de pathologie exotique et Springer-Verlag France 2009

Résumé La transmission congénitale de la maladie de Chagas prend une importance grandissante, dans la mesure où elle émerge dans des communautés infectées par *Trypanosoma cruzi*, mais où la transmission vectorielle n'a jamais existé ou est parfaitement contrôlée grâce aux campagnes de lutte antivectorielle. En zones de transmission vectorielle, comme dans les régions non endémiques, les taux de transmission mère-enfant pourraient être identiques, aux alentours de 5 %, générant une source constante de nouveaux cas de la maladie. Les facteurs de risque de transmission verticale ne sont pas totalement élucidés, mais l'efficacité de la réponse immunitaire adaptative maternelle et la susceptibilité génétique individuelle de la mère, mais aussi de l'enfant, sont suspectées. Outre les risques d'avortement ou de prématurité, l'infection néonatale par *T. cruzi* provoque une forme aiguë de la maladie de Chagas susceptible de s'accompagner d'un syndrome infectieux sévère pouvant entraîner le décès en l'absence de traitement précoce. La maladie de Chagas congénitale constitue une véritable priorité de santé publique, car elle est fréquente, parfois sévère, toujours lourde de conséquences pour l'avenir de l'enfant, mais prévisible, repérable et guérissable. En effet, la presque totalité des nouveau-nés diagnostiqués et traités avant la fin de leur première année de vie guérissent définitivement. Dans la totalité des zones non endémiques, les opérations de dépistage des cas congénitaux de maladie de Chagas sont rendues difficiles par la très faible prévalence de la maladie dans l'ensemble de la population des femmes enceintes, par l'absence de symptomatologie chez la plupart des femmes

infectées et par la méconnaissance de ces problèmes de la part des personnels de santé en charge du suivi de la grossesse. Les actions de prévention secondaire consistent à identifier dans un premier temps les femmes infectées (présentant des antécédents d'exposition et une sérologie positive pour la maladie de Chagas) et à rechercher dans un deuxième temps le parasite chez les nouveau-nés de mères infectées. Aucune prévention primaire n'est en effet possible pendant la grossesse, puisque les deux seuls médicaments antiparasitaires sont toxiques et possiblement tératogènes. En revanche, après l'accouchement, un traitement pourra être proposé aux femmes infectées, afin d'éviter les complications tardives de la maladie et tenter de rompre la chaîne de transmission materno-fœtale pour les grossesses futures.

Mots clés Maladie de Chagas · *Trypanosoma cruzi* · Transmission materno-fœtale · Dépistage · France

Abstract The importance of congenital transmission of Chagas' disease increases with its emergence in communities infected with *Trypanosoma cruzi*, but where vector transmission has never existed or is fully controlled through vector control campaigns. In both endemic and non-endemic areas, the rates of mother-to-child transmission (MTCT) could be the same, by 5%, generating a constant source of new cases of the disease. Risk factors for vertical transmission are not fully elucidated, but the effectiveness of the adaptive immune response and the genetic susceptibility of both the mother and the child are suspected. Besides the risk of miscarriage or premature birth, neonatal infection by *T. cruzi* causes an acute form of Chagas disease, which may be accompanied by a severe infectious syndrome that can cause death if not treated early. This form of the disease is a real public health priority because it is frequent, severe, identifiable and curable. Indeed, almost all newborns diagnosed and treated before the end of their first year of life will be definitely cured. In all non-endemic areas, detection of cases of congenital Chagas disease is hampered by a very low prevalence of the disease in the general population of

L. Brutus (✉) · N.-A. Salas · D. Schneider · J.-P. Chippaux
Institut de recherche pour le développement (IRD),
UR010 « Santé de la mère et de l'enfant en milieu tropical »,
Université Paris-Descartes, 12, rue de l'École de Médecine,
F-75006 Paris, France
e-mail : brutus@ird.fr

J.-A. Santalla · N.-A. Salas
INLASA, laboratoire de parasitologie, La Paz, Bolivie

pregnant women, the lack of symptoms in most infected women and the disregard of these problems from health personnel in charge of monitoring pregnancy. Secondary prevention firstly consists in identifying infected women (with history of exposure and positive serology for Chagas disease) and secondly to look for the parasite in newborns from infected mothers. No primary prevention is indeed possible during pregnancy, since the only two drugs are toxic and possibly teratogenic. However, after birth, treatment could be offered to all infected women in order to prevent late complications of the disease and to make an attempt at breaking the chain of MTCT in future pregnancies.

Keywords Chagas' disease · *Trypanosoma cruzi* · Mother-to-child transmission · Screening · France

Introduction

Parce que les campagnes de lutte antivectorielle sont efficaces dans la plupart des régions endémiques d'Amérique du Sud, les voies non vectorielles de transmission du parasite prennent une importance nouvelle : transfusion sanguine et transfusion congénitale. La première peut être prévenue par une amélioration du dépistage des porteurs de trypanosome, notamment à l'aide de questionnaires ciblés auprès des donneurs et de méthodes de dépistage sérologique [47,66,96]. La seconde pose un problème particulier lorsqu'elle émerge dans des communautés infectées par *Trypanosoma cruzi*, mais où la transmission vectorielle n'a jamais existé ou est parfaitement contrôlée. Le contrôle de l'infection congénitale par *T. cruzi* devient une priorité pour la prévention de cette affection, aussi bien en zone endémique que non endémique [27]. En effet, outre les risques d'avortement ou de prématurité, l'infection néonatale par *T. cruzi* provoque une forme aiguë de la maladie de Chagas susceptible de s'accompagner d'un syndrome infectieux sévère pouvant entraîner le décès en l'absence de traitement précoce [29]. La maladie de Chagas congénitale constitue une véritable priorité de santé publique, car elle est fréquente, parfois sévère, toujours lourde de conséquences pour l'avenir de l'enfant, mais prévisible, repérable et guérissable. En effet, la presque totalité des nouveau-nés diagnostiqués et traités avant la fin de leur première année de vie guérissent définitivement [62,85].

Maladie

La maladie est causée par l'infection congénitale par *T. cruzi*, transmise par une mère en phase aiguë ou chronique de la maladie de Chagas et détectée chez un enfant, symptoma-

tique ou non, porteur de parasites ou d'anticorps spécifiques d'origine non maternelle et ne présentant pas d'antécédent de transfusion sanguine ou d'exposition aux insectes vecteurs de la maladie [5].

Les premières observations réalisées au Brésil ont souligné la gravité de l'infection congénitale par *T. cruzi* avec de fréquents avortements précoces ou tardifs et près de 40 % de mortinatalité et de mortalité néonatale [14,16,17,65]. Actuellement, la forme congénitale de la maladie de Chagas est toujours associée à un risque élevé de mortalité néonatale (2 à 13 %), aussi bien dans les pays d'endémie [80,90] que dans les régions non endémiques [42].

La symptomatologie clinique, observée chez le nouveau-né infecté, n'a rien de spécifique et s'apparente aux tableaux cliniques de la plupart des autres infections congénitales (toxoplasmose, rubéole, cytomégalovirus, herpès, syphilis). Dans plus de 20 % des cas [90], on retrouve, isolés ou associés, un syndrome de détresse respiratoire, une hépatosplénomégalie, une prématurité ou un faible poids de naissance, des œdèmes ou de la fièvre et, dans moins de 5 % de cas [43], des signes de méningoencéphalite ou de myocardite aiguës. Dans de très rares cas, des manifestations digestives à type de mégacœsophage [7,20] ou de mégacôlon [35] peuvent être observées. La proportion de symptomatiques parmi les nouveau-nés infectés est beaucoup plus élevée à la naissance et jusqu'à la fin du premier mois de vie (70 %) qu'entre un et six mois (50 %) ou après six mois de vie (30 %) [2,9,43,98]. Les signes cliniques de gravité (hydrops fœtal, méningoencéphalite) sont aussi plus fréquents à la naissance et s'accompagnent alors d'un pronostic sévère [43,90,98]. L'absence de signe pathognomonique de l'infection et la fréquence des formes asymptomatiques rendent impossible le diagnostic sur une seule base clinique.

Fréquence de l'infection

La forme congénitale de l'infection par *T. cruzi* est fréquente dans l'ensemble des régions endémiques d'Amérique du Sud où l'on a décrit les premiers cas congénitaux de seconde génération, il y a près d'une décennie [84]. Toutefois, elle émerge maintenant aux États-Unis d'Amérique et en Europe où les premiers cas sporadiques ont été décrits depuis 2006 [50,64,76].

Les données concernant la prévalence de la maladie chez les femmes enceintes sont assez nombreuses en Amérique latine. Les taux de prévalence observés reflètent à un moment donné la situation de l'endémie dans chacune des régions concernées et les progrès de la lutte antivectorielle visant à interrompre la transmission par les triatomes. Le Tableau 1 montre que les prévalences de l'infection par *T. cruzi*, qui étaient largement supérieures à 10 % avant 2000 [33,88], ne dépassent pas 5 % aujourd'hui dans la

Tableau 1 Prévalences observées de l'infection par *Trypanosoma cruzi* chez les femmes enceintes en pays d'endémie (*Observed prevalence rates of T. cruzi infection among pregnant women in endemic countries*)

Pays	Références	Échantillons	Prévalences (%)
Uruguay	Sarasua et al., 1986 [82]	2 303	8,3
Paraguay	Russomando et al., 1998 [79]	840	7,7
Brésil (Bahia)	Bittencourt et al., 1985 [18]	1981-1982 : 2 611	8,5
	Dos Santos, 1995 [39]	1990-1991 : 1 024	2,3
Brésil (Parana)	Reiche et al., 2000 [75]	1 164	0,9
Argentine	Blanco et al., 2000 [21]	16 842	5,5
Chili	Garcia et al., 2001 [46]	6 433	2,3
Pérou	Mendoza Ticona et al., 2005 [58]	3 000	0,7
Honduras	Sosa-Estani et al., 2008 [87]	500	4,4
Mexique	Sosa-Estani et al., 2008 [87]	988	0,8
Bolivie (La Paz)	IRD-INLASA, 2008	1 000	1,2
Bolivie (Cochabamba)	Torricono et al., 2004 [90]	1992-1994 : 1 606	27,6
		1999-2001 : 3 879	17,3
Bolivie (Santa Cruz)	Azogue et al., 1985 [10] Chippaux et al., 2009 [32]	1979-1980 : 329	50,8
		2006-2008 : 15 877	23,7
Bolivie (Rural)	Chippaux et al., 2009 [32] ; Brutus et al., 2008 [26] ; Salas et al., 2007 [80]	3 679	34 à 70

Tableau 2 Incidences observées des infections congénitales par *Trypanosoma cruzi* en pays d'endémie (*Observed incidence rates of congenital infection by T. cruzi in endemic countries*)

Pays	Références	Taux de transmission ^a (%)	Taux d'incidence ^b (%)
Uruguay	Sarasua et al., 1986 [82]	1,6	0,01
Paraguay	Russomando et al., 1998 [79]	3,1	0,2
Brésil	Bittencourt et al., 1985 [18]	0,7 à 1,6	0,01 à 0,1
	Rassi et al., 2004 [73]		
Argentine	Blanco et al., 2000 [21]	6,7	0,4
Chili	Garcia et al., 2001 [46]	1,4 à 3,9	0,05 à 0,1
Pérou	Mendoza Ticona et al., 2005 [58]	0 ?	0 ?
Mexique	Sosa-Estani et al., 2008 [87]	0 ?	0 ?
Bolivie (Cochabamba)	Torricono et al., 2004 [90]	1992-1994 : 4,9	1,4
		1999-2001 : 5,9	1,3
Bolivie (Rural)	Salas et al., 2007 [80] Brutus et al., 2008 [26]	5,2 à 6,0	1,6 à 2,6

^a Proportion de nouveau-nés infectés nés de mères infectées par *T. cruzi*.

^b Proportion de nouveau-nés infectés parmi l'ensemble des naissances vivantes.

presque totalité des pays endémiques. La Bolivie fait figure d'exception avec des prévalences dépassant 20 % dans les grands centres urbains et atteignant parfois 70 % en zones rurales.

Les recherches sur la forme congénitale de la maladie de Chagas conduites par les équipes belges et françaises en zones endémiques de Bolivie [80,90] ont démontré l'existence d'un taux relativement constant de la transmission mère-enfant (4 à 6 %) comparable à celui d'autres régions endémiques d'Argentine ou du Paraguay [21,79] (Tableau 2). En zone non endémique d'Amérique latine, le taux de transmission

pourrait s'avérer identique, générant une source constante de nouveaux cas de maladie de Chagas [6,26]. Toutefois, lorsque la prévalence de la maladie chez les femmes enceintes est très faible, l'incidence des cas congénitaux devient difficilement mesurable en l'absence d'études de cohortes importantes [55,58,67].

Compte tenu des mouvements migratoires existant entre les zones rurales et les villes sud-américaines mais aussi vers les pays d'Amérique du Nord ou d'Europe, il résulte une prévalence de la maladie de Chagas chez les femmes enceintes ou en âge de procréer estimée à 0,4 % au Texas et entre 2

et 5 % en Catalogne et à Valencia [36,37,63,70,86]. Cette différence pourrait être liée à l'origine géographique des sujets étudiés. Dans les études espagnoles et suisses, la prévalence est en effet beaucoup plus élevée chez les femmes boliviennes (13 à 22 %) [48,50,63,70,72]. Les premiers cas européens de transmission congénitale, parfois fatals, ont été décrits pour l'essentiel en Suisse [50] et en Espagne [30,42,64,76] où le taux de transmission varie entre 3 et 7 % [48,63]. À titre d'exemple, le nombre de nouveau-nés infectés aux États-Unis a été estimé entre 63 et 315 chaque année [12,27]. Pourtant, seuls deux cas congénitaux ont été signalés en 1999 dans ce pays [51].

Compte tenu des prévalences observées et du taux de transmission verticale probable (5 %), l'incidence de l'infection congénitale par *T. cruzi* en Europe pourrait ainsi atteindre un à deux cas pour 1 000 naissances « exposées » (mères infectées par le parasite).

Histoire naturelle

Pour infecter le fœtus, *T. cruzi* emprunte la voie hématogène selon deux routes possibles : les parasites présents dans les espaces intervilloux pourraient soit traverser le trophoblaste et faire irruption dans les villosités chorioniques et envahir ainsi la plaque choriale [13], soit emprunter la voie chorio-nique à partir des fibroblastes et des macrophages de la plaque choriale et des membranes amniotiques sans atteinte directe du trophoblaste [10,41]. La possibilité d'une transmission par l'allaitement a été évoquée [57], mais plusieurs tentatives d'isolement du parasite à partir du colostrum et du lait maternel ont échoué [4,19].

Les facteurs de risque de la transmission de *T. cruzi* de la mère à l'enfant ne sont pas totalement élucidés. Bittencourt [15] a passé en revue quelques facteurs de risque supposés :

- la phase de la maladie (risque accru en cas de parasitémie circulante durant la phase aiguë) [60] ;
- l'âge et la parité de la mère (risque plus élevé si la mère est plus jeune [90] ou si elle est primipare) [8] ;
- les naissances multiples [80] ;
- les antécédents de mort-nés ou de nouveau-nés atteints par la maladie ou les antécédents de nouveau-nés prématurés (âge gestationnel inférieur à 37 semaines) ou de faible poids de naissance (< 2 500 g) [10,14].

Par ailleurs, de récentes études menées en Argentine [81] ont clairement montré une agrégation familiale des cas de transmission congénitale. Cette étude suggère que l'infection congénitale par *T. cruzi* pourrait être, en partie tout au moins, sous contrôle génétique. D'autres facteurs de risque de transmission congénitale ont été évoqués. L'hypothèse d'une sélection de clones de la part de la mère ou d'une infectivité plus grande pour le placenta d'un type de clone particulier n'a

pas été confirmée, et la variabilité génétique de *T. cruzi* ne paraît pas influencer sur le risque de transmission maternofoetale [28,92]. De même, une exposition répétée à l'infection par les vecteurs dans le milieu domestique et péri-domestique produisant de multiples réinfections ne paraît pas augmenter le risque de transmission congénitale [91]. En revanche, l'exacerbation de la parasitémie, favorisée par l'affaiblissement de la réponse immunitaire adaptative maternelle vis-à-vis du parasite, pourrait accroître le risque de transmission de la mère à l'enfant [49,95]. De la même façon, l'augmentation de la charge parasitaire de *T. cruzi*, observée dans les cas de co-infection avec le VIH, est susceptible de faciliter la transmission du parasite de la mère à l'enfant [44,83].

Définition de la population cible d'un programme de dépistage

C'est la première étape d'un programme de dépistage. Toutes les femmes enceintes infectées par *T. cruzi*, qu'elles soient en phase aiguë ou chronique de la maladie, sont susceptibles de transmettre congénitalement le parasite à leurs enfants. Compte tenu à la fois de l'évolution silencieuse de la maladie pendant de longues années et d'un accès limité aux laboratoires de diagnostic dans les pays d'endémie, la majorité des femmes latino-américaines en âge de procréer ayant émigré en Europe ignorent si elles sont infectées par *T. cruzi*. Les opérations de dépistage concernent donc les femmes présentant un antécédent d'exposition probable au parasite (= femmes enceintes « exposées »), c'est-à-dire, outre les femmes ayant une maladie de Chagas connue, toutes celles qui sont nées dans l'un des pays d'endémie d'Amérique centrale et du Sud (incluant le Mexique et la Guyane, et à l'exception des îles des Caraïbes) ou dont la mère est née dans un de ces pays d'endémie, ou bien qui y ont reçu une transfusion de sang ou une greffe d'organe.

Dans le cadre des opérations de dépistage chez les femmes enceintes, l'OMS [69] recommande l'utilisation d'un test sérologique conventionnel (généralement un Elisa) réalisé sur le plasma ou le sérum de la mère et, en cas de résultat positif, la confirmation par un second test conventionnel (le plus souvent l'immunofluorescence indirecte [IFI]). Cet examen permet de détecter 98 à 99 % des femmes infectées par *T. cruzi* [34,69] (Fig. 1). Des études ont, par ailleurs, établi que les concentrations d'IgG dans le sang périphérique de la mère et dans le sang du cordon ombilical étaient comparables, traduisant le transfert passif de ces anticorps à travers la barrière placentaire [23,87]. Les opérations de dépistage sérologique des femmes enceintes peuvent donc faire appel indistinctement au sang maternel ou du cordon ombilical. Les différents tests immunoenzymatiques commercialisés avec marquage CE peuvent être utilisés lors du dépistage. La facilité d'utilisation des tests de diagnostic rapide

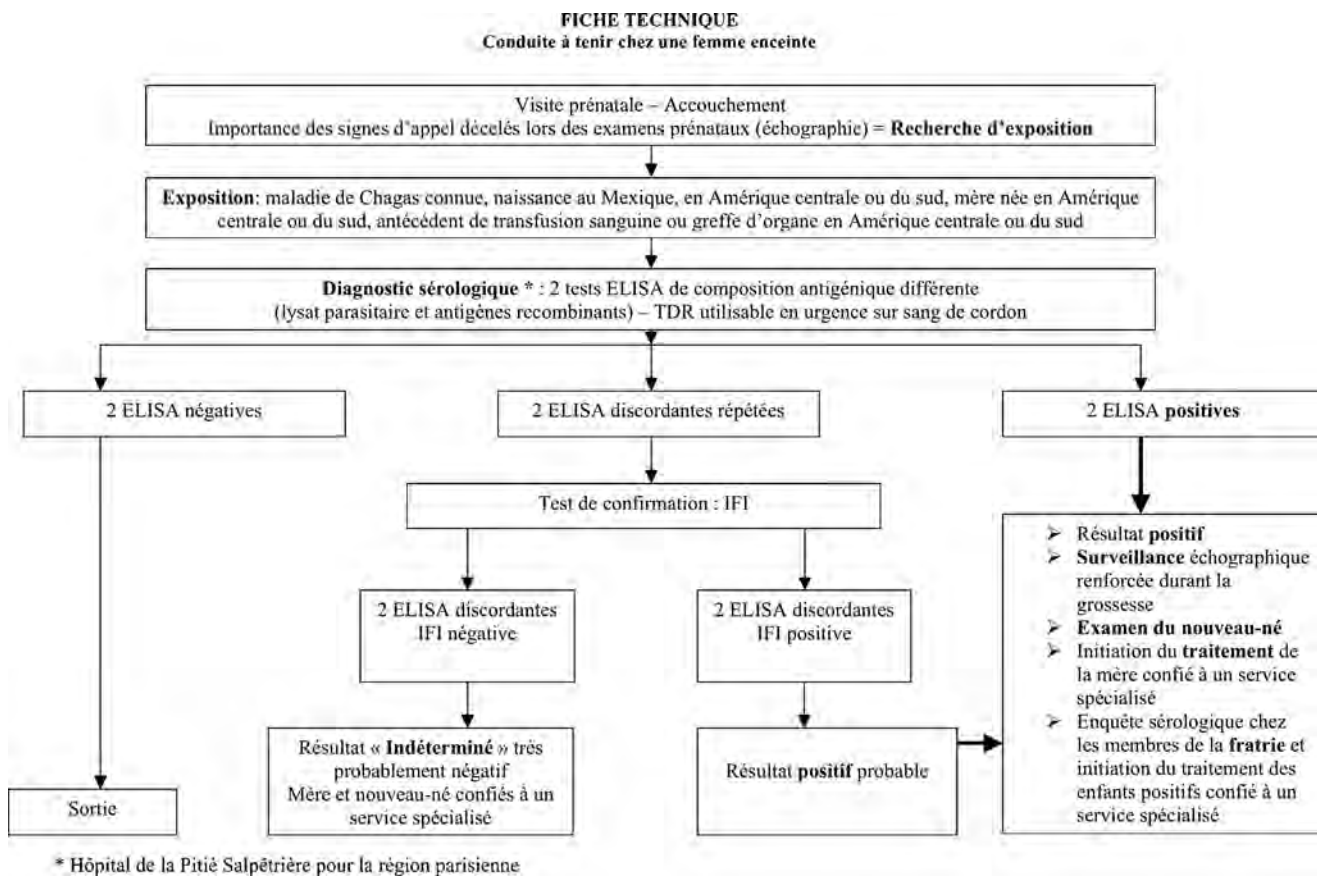


Fig. 1 Algorithme de dépistage de la maladie de Chagas chez la femme enceinte. (Algorithm to detect Chagas' disease in pregnant women)

(TDR) et leur contribution à un traitement sans retard en font des tests très bien acceptés et parfaitement adaptés à une utilisation en urgence dans les maternités au moment de l'accouchement. Certains d'entre eux ont été largement validés chez les femmes enceintes et sur sang du cordon [26,56,71]. Leur sensibilité et spécificité, respectivement 94 et 99 %, sont tout à fait acceptables dans le cadre d'un programme de dépistage des femmes enceintes [32,87]. Malheureusement, aucun de ces tests marqués CE n'est encore distribué en Europe.

Diagnostic néonatal de l'infection congénitale par *T. cruzi*

La deuxième étape des opérations de dépistage concerne tous les nouveau-nés des mères ayant une sérologie positive. Le diagnostic d'infection congénitale par *T. cruzi* doit être réalisé le plus précocement possible en recherchant dès la naissance les parasites sanguins (formes trypanostigotes) dans le sang des nouveau-nés. En effet, l'essentiel de la létalité de cette forme de la maladie de Chagas est concentrée durant la période néonatale. Par ailleurs, l'efficacité du

traitement est d'autant plus grande que celui-ci a été instauré précocement.

Parmi les examens parasitologiques directs, le frottis, la goutte épaisse et l'examen de sang frais ont une sensibilité parfois très inférieure à 90 % en phase aiguë de la maladie [68]. Les techniques de concentration de Strout [89] ou du microhématocrite [11] permettent un taux de détection plus important (90 à 100 %). Parce qu'elle nécessite un faible volume sanguin et qu'elle est simple et robuste, la technique du microhématocrite est particulièrement adaptée à la recherche des trypanostigotes dans le sang des nouveau-nés [45,97]. Le *quantitative buffy coat* (QBC), avec coloration à l'acridine orange, donne aussi d'excellents résultats [53], mais pour un coût largement supérieur à celui du microhématocrite. Compte tenu de la charge parasitaire souvent forte mais intermittente chez les nouveau-nés infectés, la répétition du même examen à plusieurs reprises au cours des premiers mois de vie du nourrisson permet d'augmenter la sensibilité de cette technique. Ainsi, au Paraguay, de 33 % après un seul examen, le taux de détection est passé à 83 % lorsque la technique du microhématocrite a été répétée plusieurs fois après la naissance [79]. De la même façon en Argentine, la sensibilité de cette même technique, réalisée à

plusieurs reprises avant l'âge de six mois, atteint 80 % [2,21,85], voire même 97 % [43]. On prendra donc soin de réaliser cet examen à la naissance sur le sang du cordon des nouveau-nés de mères infectées et au troisième jour de vie, à l'occasion du test de Guthrie, sur le sang périphérique du nourrisson avant que lui et sa mère ne quittent la maternité. La recherche de parasites devra être renouvelée chaque fois que possible durant le premier mois de vie et au minimum au 30^e jour à l'occasion de l'examen systématique du premier mois (Fig. 2), voire au-delà si le suivi de l'enfant le permet.

Les examens parasitologiques indirects (hémocultures, xéno-diagnostic de Brumpt [25]) ont une excellente sensibilité en phase aiguë de la maladie (proche de 100 % [45,68]), mais ils sont compliqués à mettre en œuvre, et leurs résultats peuvent tarder jusqu'à 60 jours. La détection par amplification de séquences de l'ADN de *T. cruzi* (PCR) [28,59] à partir du sang du cordon ombilical ou du sang périphérique de l'enfant est de plus en plus utilisée et possède une sensibilité proche de 100 % dans les six premiers mois de vie [38,79,94]. Toutefois, au-delà de cet âge, la sensibilité s'abaisse aux alentours de 75 % [85]. En revanche, la détection de l'ADN des parasites par PCR à partir du liquide du

sac amniotique au moment de la rupture des membranes ou du liquide d'aspiration gastrique du nouveau-né a montré une sensibilité de 50 % et une spécificité de 80 % [93], insuffisantes pour confirmer le diagnostic de l'infection congénitale par *T. cruzi*.

Lorsque les examens parasitologiques ne sont pas disponibles ou s'ils sont négatifs, le diagnostic de certitude des cas congénitaux repose alors sur la détection d'IgG spécifiques anti-*T. cruzi*. Cette recherche est réalisée à partir du huitième mois de vie de l'enfant compte tenu du temps nécessaire à la clairance des IgG maternelles chez le nourrisson (jusqu'à sept mois) [5,21,69]. En France, le diagnostic sérologique pourrait être réalisé à l'occasion de l'examen obligatoire du neuvième mois. L'observation de la cinétique des anticorps d'origine maternelle depuis la naissance jusqu'à l'âge de neuf mois contribue aussi au diagnostic, et il convient de conserver des échantillons de sérum ou de plasma lors de chacune des étapes diagnostiques de l'enfant.

La détection d'IgM spécifiques anti-*T. cruzi* à la naissance a montré une sensibilité variant, selon les études, entre 60 et 80 % et une spécificité oscillant entre 55 et 90 % [21,61,77]. L'utilisation d'antigènes recombinants n'a pas permis

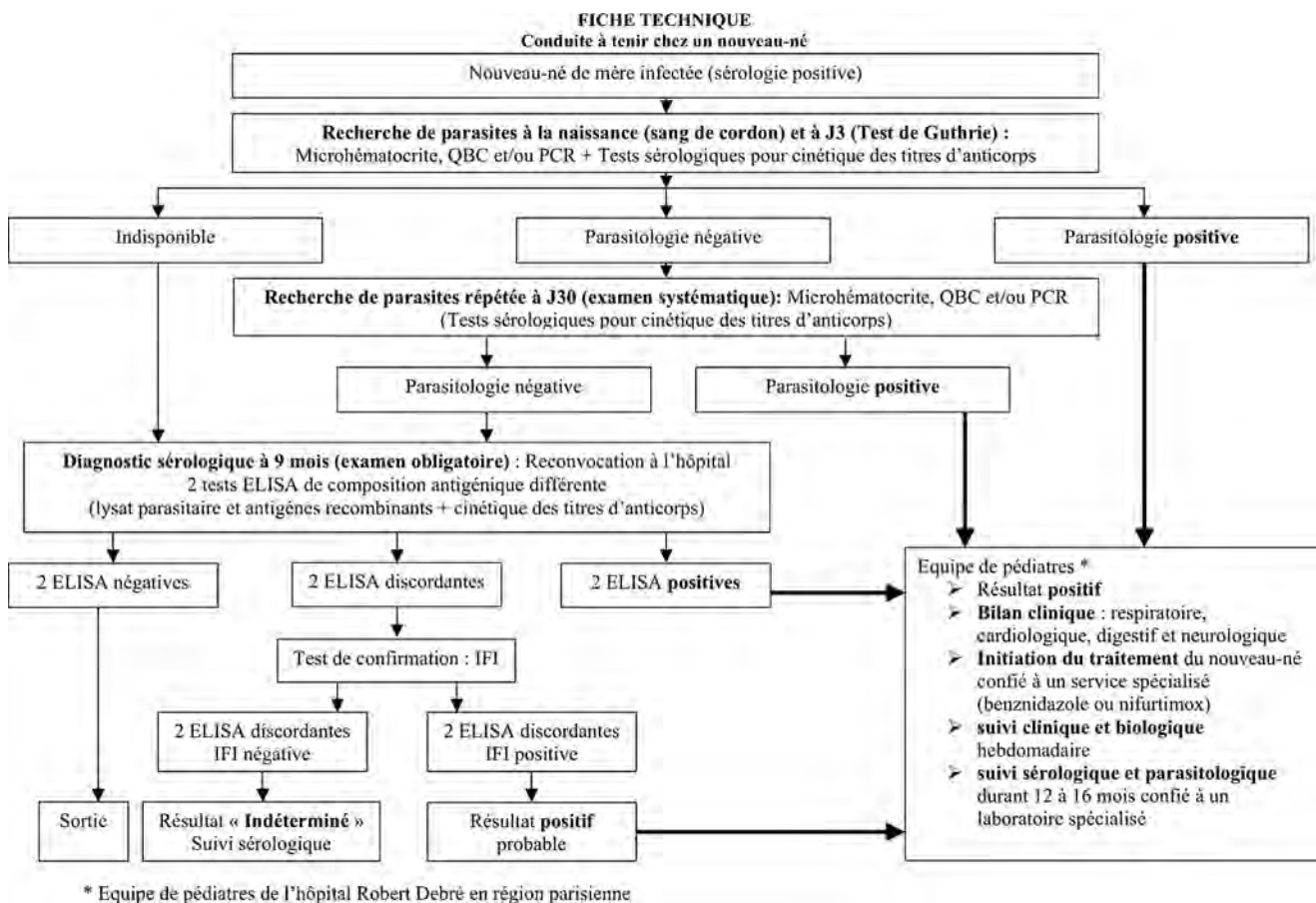


Fig. 2 Algorithme de diagnostic de l'infection congénitale par *Trypanosoma cruzi* chez le nourrisson (Algorithm for the diagnosis of congenital infection by *T. cruzi* in early childhood)

d'améliorer notablement les performances diagnostiques de cette approche [54] qui n'est actuellement pas recommandée pour le diagnostic de la forme congénitale [5]. Des tests Elisa à base d'antigènes recombinants spécifiques de la phase aiguë, tels que le SAPA (*shed acute phase antigen*) [1], ont aussi été utilisés chez les enfants de trois à six mois [78], mais les résultats encourageants observés au Paraguay n'ont pas été reproduits ailleurs. Toutefois, cet antigène pourrait n'être pas totalement spécifique de la phase aiguë, puisque 80 % des enfants en phase chronique indéterminée récente sont positifs en Elisa-SAPA [24].

Prise en charge du nourrisson infecté par *T. cruzi*

La prise en charge de l'enfant infecté congénitalement par *T. cruzi* repose à la fois sur le bilan clinique (cardio-respiratoire, digestif, neurologique) et biologique (hématologique, hépatique, rénal) de l'infection et l'instauration rapide du traitement antiparasitaire. L'hospitalisation dans un centre de référence est indispensable pour la mise en route du traitement qui sera ensuite poursuivi en ambulatoire. Deux médicaments sont actuellement disponibles en ATU nominatives en France : le benznidazole (Lafepe Benznidazol[®]) et le nifurtimox (Lampit[®]). La majorité des auteurs s'accordent sur l'efficacité comparable des deux produits dans le traitement des formes congénitales, mais il n'existe pas d'essai randomisé les comparant. Les études pionnières argentines ont par ailleurs montré que le nifurtimox pouvait être administré durant 60 jours au lieu de 90 jours sans perte d'efficacité [43,62]. Les deux produits s'administrent donc pendant 60 jours à la dose de 10 à 15 mg/kg par jour de nifurtimox en trois prises quotidiennes ou de 7,5 à 10 mg/kg par jour de benznidazole en deux prises par jour [5,69]. Dans tous les cas et surtout pour les nouveau-nés de faible poids, la moitié de la dose quotidienne est délivrée la première semaine afin de vérifier l'absence de toxicité hématologique (leuco- et thrombopénies). À la date de cette revue, les formulations pédiatriques ne sont pas disponibles, et le traitement doit être administré à l'enfant en divisant les comprimés de la forme adulte. Les familles doivent être informées sur la façon de préparer les médicaments afin d'éviter les éventuels surdosages ou des dosages inadaptés responsables d'effets secondaires pouvant gêner l'adhésion au traitement.

La guérison est attestée par la disparition des IgG anti-*T. cruzi* chez l'enfant traité. Si le nouveau-né a été traité dès la naissance ou au cours des premières semaines de vie, la clairance des anticorps maternels s'observe en moins d'un an. C'est ainsi que l'ensemble des études conduites dans les pays du Cône Sud de l'Amérique latine indiquent un taux de guérison de 100 % en moins de 12 mois lorsque les nourrissons ont été traités avant l'âge de six mois

[2,21,79,85,88]. En revanche, il faut attendre plus longtemps si le nourrisson est traité au-delà de six mois. Ainsi, lorsque les nourrissons ont été traités entre 7 et 20 mois, le taux moyen de séroréversion décline de 95 à 70 % au bout de trois ans, et il s'abaisse encore davantage (12 %) si les enfants ont été traités entre 3 et 17 ans [2,62,85]. L'utilisation de tests sérologiques à base de fractions antigéniques du stade trypomastigote [3] ou la mesure de la charge parasitaire par PCR quantitative [40] ont permis l'évaluation de la réponse après traitement et pourraient être utilisées comme marqueurs précoces de guérison particulièrement chez les enfants traités après l'âge de neuf mois.

Malgré l'absence d'étude randomisée comparant les deux médicaments, ils semblent, tous les deux, bien tolérés chez les nouveau-nés et nourrissons de moins de six mois [31], puisque des effets secondaires légers sont observés dans moins de 10 % des cas, à type de troubles gastro-intestinaux (distensions abdominales, diarrhées), de perte de poids et d'éruptions cutanées [21,98]. En revanche, l'apparition des effets indésirables semble dépendre de l'âge de l'enfant et de la dose administrée. Moya et al. signalent que les nombreux effets secondaires du nifurtimox qu'ils ont observés (anorexie, irritabilité, vomissements, diarrhées, perte de poids et éruptions cutanées) sont apparus lorsque les enfants étaient âgés de plus de trois mois au moment du traitement et allaient croissant jusqu'à l'âge de 16 mois [62]. Freilij et Altchek ont observé en moyenne 50 % d'effets secondaires chez des enfants dont l'âge pouvait atteindre dix ans [43]. Il a été signalé environ 10 % d'effets indésirables avec 10 mg/kg par jour de nifurtimox [21], 30 à 50 % avec une dose située entre 10 et 15 mg/kg par jour [2,43] et près de 80 % quand la dose atteint 15 mg/kg par jour [62]. La surveillance du traitement repose sur l'étude des fonctions hématologiques et hépatiques et sur l'observation de la courbe de poids. Face à la survenue d'effets indésirables, les doses quotidiennes seront diminuées tout d'abord puis, si les troubles persistent, le traitement sera suspendu quelques jours.

Conclusion

L'émergence de la maladie de Chagas en Europe et en France [52] pose le problème de la prévention de la forme congénitale de l'infection par *T. cruzi*, seule modalité de transmission autochtone en France métropolitaine en dehors des éventuels cas transfusionnels. Cette prévention repose sur le dépistage sérologique des mères en période prénatale, puis sur la répétition des examens parasitologiques chez l'enfant dès la naissance, permettant un diagnostic et une prise en charge thérapeutique précoces [74]. Et plus tôt l'enfant sera dépisté, meilleures seront la tolérance et l'efficacité des médicaments ainsi que l'adhésion des familles au traitement. Après l'accouchement et passé l'allaitement, le traitement des femmes

infectées peut être envisagé afin de tenter de protéger les enfants des grossesses futures en diminuant la charge parasitaire chez la mère et, ce faisant, de réduire également le risque de complications tardives de la maladie. De plus, le diagnostic de la maladie de Chagas chez tous les frères et sœurs des nourrissons nés de mères infectées devra être systématiquement entrepris [5].

Toutefois, il existe un besoin urgent d'études contrôlées concernant tant l'impact de la maladie sur le déroulement et le produit de la grossesse [22] que l'identification des facteurs de risque de transmission, notamment les facteurs impliqués dans la prédisposition génétique de la mère à transmettre et du nouveau-né à résister à l'infection. De même, il apparaît nécessaire de pouvoir disposer de nouveaux outils permettant à la fois le diagnostic précoce de l'infection et la confirmation rapide de la guérison (biologie moléculaire, protéomique).

L'apparition de la maladie de Chagas dans sa forme congénitale dans les pays industrialisés, là où les équipes scientifiques ont des moyens techniques et financiers importants, est certes un enjeu de santé publique mais aussi une opportunité sans précédent pour l'essor d'une recherche translationnelle en partenariat avec les pays d'Amérique latine.

Déclaration de conflit d'intérêt : Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt.

Références

1. Affranchino JL, Ibanez CF, Luquetti AO, et al (1989) Identification of a *Trypanosoma cruzi* antigen that is shed during the acute phase of Chagas' disease. *Mol Biochem Parasitol* 34:221-8
2. Altcheh J, Biancardi M, Lapena A, et al (2005) Congenital Chagas' disease: experience in the hospital de Niños, Ricardo Gutierrez, Buenos Aires, Argentina. *Rev Soc Bras Med Trop* 38(Suppl 2):41-5
3. Altcheh J, Corral R, Biancardi MA, Freilij H (2003) Anti-F2/3 antibodies as cure marker in children with congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Medicina (B Aires)* 63:37-40
4. Amato Neto V, Matsubara L, Campos R, et al (1992) *Trypanosoma cruzi* in the milk of women with chronic Chagas' disease. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 47:10-1
5. Anonyme (2003) Congenital infection with *Trypanosoma cruzi*: from mechanisms of transmission to strategies for diagnosis and control. *Rev Soc Bras Med Trop* 36:767-71
6. Arcavi M, Orfus G, Griemberg G (1993) Incidence of Chagas infection in pregnant women and newborn infants in a non-endemic area. *Medicina (B Aires)* 53:217-22
7. Atias A (1994) A case of congenital chagasic megaesophagus: evolution until death caused by esophageal neoplasm, at 27 years of age. *Rev Med Chil* 122:319-22
8. Azogue E (1993) Women and congenital Chagas' disease in Santa Cruz, Bolivia: epidemiological and sociocultural aspects. *Soc Sci Med* 37:503-11
9. Azogue E, Darras C (1991) Prospective study of Chagas' disease in newborn children with placental infection caused by *Trypanosoma cruzi* (Santa Cruz-Bolivia). *Rev Soc Bras Med Trop* 24:105-9
10. Azogue E, La Fuente C, Darras C (1985) Congenital Chagas' disease in Bolivia: epidemiological aspects and pathological findings. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 79:176-80
11. Bennett G (1962) The haematocrit centrifuge for the laboratory diagnosis of haematozoa. *Can J Zool* 40:124-5
12. Bern C, Montgomery SP (2009) An estimate of the burden of Chagas' disease in the United States. *Clin Infect Dis* 49(5): e52-e4
13. Bittencourt AL (1975) Anatomico-pathological aspects of the skin in congenital Chagas' disease. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 17:135-9
14. Bittencourt AL (1976) Congenital Chagas' disease. *Am J Dis Child* 130:97-103
15. Bittencourt AL (1992) Possible risk factors for vertical transmission of Chagas' disease. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 34:403-8
16. Bittencourt AL, Barbosa HS (1972) Incidence of congenital transmission of Chagas' disease in abortion. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 14:257-9
17. Bittencourt AL, Barbosa HS, Rocha T, et al (1972) Incidence of congenital transmission of Chagas' disease in premature births in the Maternidade Tsylla Balbino (Salvador, Bahia). *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 14:131-4
18. Bittencourt AL, Mota E, Ribeiro Filho R, et al (1985) Incidence of congenital Chagas' disease in Bahia, Brazil. *J Trop Pediatr* 31:242-8
19. Bittencourt AL, Sadigursky M, Da Silva AA, et al (1988) Evaluation of Chagas' disease transmission through breast-feeding. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 83:37-9
20. Bittencourt AL, Vieira GO, Tavares HC, et al (1984) Esophageal involvement in congenital Chagas' disease. Report of a case with megaesophagus. *Am J Trop Med Hyg* 33:30-3
21. Blanco SB, Segura EL, Cura EN, et al (2000) 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
22. Brabin L (1992) The epidemiological significance of Chagas' disease in women. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 87:73-9
23. Breniere F, Bailly M, Carrasco R, Carlier Y (1983) Transmission of antibodies to *Trypanosoma cruzi* across human placenta. *Cah Orstom ser Ent Med Parasitol* 21:139-40
24. Breniere SF, Yaksic N, Telleria J, et al (1997) Immune response to *Trypanosoma cruzi* shed acute phase antigen in children from an endemic area for Chagas' disease in Bolivia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 92:503-7
25. Brumpt E (1914) The xenodiagnosis. Application to the diagnosis of parasitic infections and particularly to Chagas trypanosomiasis. *Bull Soc Pathol Exot* 7:706-10
26. Brutus L, Schneider D, Postigo J, et al (2008) Congenital Chagas' disease: diagnostic and clinical aspects in an area without vectorial transmission, Bermejo, Bolivia. *Acta Trop* 106:195-9
27. Buekens P, Almendares O, Carlier Y, et al (2008) Mother-to-child transmission of Chagas' disease in North America: why don't we do more? *Matern Child Health J* 12:283-6
28. Burgos JM, Altcheh J, Bisio M, et al (2007) Direct molecular profiling of minicircle signatures and lineages of *Trypanosoma cruzi* bloodstream populations causing congenital Chagas' disease. *Int J Parasitol* 37:1319-27
29. Carlier Y (2007) Congenital Chagas' disease: from the laboratory to public health. *Bull Mem Acad R Med Belg* 162:409-16 (discussion 416-7)
30. Carrilero B, Quesada JJ, Alfayate S, Segovia M (2009) Congenital Chagas' disease in a newborn of a Bolivian mother. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 27(8):486-7
31. Castro JA, De Mecca MM, Bartel LC (2006) Toxic side effects of drugs used to treat Chagas' disease (American trypanosomiasis). *Hum Exp Toxicol* 25:471-9

32. Chippaux JP, Santalla J, Postigo J, et al (2009) Sensitivity and specificity of Chagas Stat-Pak test in Bolivia. *Trop Med Int Health* 14:1–4
33. Contreras S, Fernandez MR, Aguero F, et al (1999) Congenital Chagas-Mazza disease in Salta, Argentina. *Rev Soc Bras Med Trop* 32:633–6
34. Da Silveira JF, Umezawa ES, Luquetti AO (2001) Chagas' disease: recombinant *Trypanosoma cruzi* antigens for serological diagnosis. *Trends Parasitol* 17:286–91
35. De Almeida MA, Barbosa HS (1986) Congenital Chagas megacolon. Report of a case. *Rev Soc Bras Med Trop* 19:167–9
36. Del Pino M, Coll O (2006) Chagas' disease, materno-fetal transmission and experience from our center. *Enf Emerg* 8:37–9
37. Di Pentima MC, Hwang LY, Skeeter CM, Edwards MS (1999) Prevalence of antibody to *Trypanosoma cruzi* in pregnant Hispanic women in Houston. *Clin Infect Dis* 28:1281–5
38. Diez CN, Manattini S, Zanuttini JC, et al (2008) The value of molecular studies for the diagnosis of congenital Chagas' disease in northeastern Argentina. *Am J Trop Med Hyg* 78:624–7
39. Dos Santos JI, Lopes MA, Deliege-Vasconcelos E, et al (1995) Seroprevalence of HIV, HTLV-I/II and other perinatally-transmitted pathogens in Salvador, Bahia. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 37:343–8
40. Duffy T, Bisio M, Altcheh J, et al (2009) Accurate real-time PCR strategy for monitoring bloodstream parasitic loads in Chagas' disease patients. *PLoS Negl Trop Dis* 3: e419
41. Fernandez-Aguilar S, Lambot MA, Torrico F, et al (2005) Placental lesions in human *Trypanosoma cruzi* infection. *Rev Soc Bras Med Trop* 38(Suppl 2):84–6
42. Flores-Chavez M, Faez Y, Olalla JM, et al (2008) Fatal congenital Chagas' disease in a non-endemic area: a case report. *Cases J* 1:302
43. Freilij H, Altcheh J (1995) Congenital Chagas' disease: diagnostic and clinical aspects. *Clin Infect Dis* 21:551–5
44. Freilij H, Altcheh J, Muchnik G (1995) Perinatal human immunodeficiency virus infection and congenital Chagas' disease. *Pediatr Infect Dis J* 14:161–2
45. Freilij H, Muller L, Gonzalez Cappa SM (1983) Direct micromethod for diagnosis of acute and congenital Chagas' disease. *J Clin Microbiol* 18:327–30
46. Garcia A, Bahamonde M, Verdugo S, et al (2001) *Trypanosoma cruzi* transplacental infection: situation in Chile. *Rev Med Chil* 129:330–2
47. Garraud O, Pelletier B, Aznar C (2008) Why defer blood donor candidates because of an exposure risk to Chagas' disease? *Transfus Clin Biol* 15:123–8
48. Gonzalez-Granado L, Conejo P, Gonzalez-Tome M, et al (2009) Systematic screening of Chagas' disease among bolivian pregnant women and newborn follow-up. Experience of one year. *Enf Emerg* 11:16–9
49. Hermann E, Truyens C, Alonso-Vega C, et al (2004) Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* is associated with maternal enhanced parasitemia and decreased production of interferon-gamma in response to parasite antigens. *J Infect Dis* 189:1274–81
50. Jackson Y, Myers C, Diana A, et al (2009) Congenital transmission of Chagas' disease in Latin American immigrants in Switzerland. *Emerg Infect Dis* 15:601–3
51. Leib DA, Fucci MH, Stumpf RJ (1999) *Trypanosoma cruzi* in a low- to moderate-risk blood donor population: seroprevalence and possible congenital transmission. *Transfusion* 39:310–5
52. Lescure FX, Canestri A, Melliez H, et al (2008) Chagas' disease, France. *Emerg Infect Dis* 14:644–6
53. Levine RA, Wardlaw SC, Patton CL (1989) Detection of haemato-parasites using quantitative buffy coat analysis tubes. *Parasitol Today* 5:132–4
54. Lorca M, Veloso C, Munoz P, et al (1995) Diagnostic value of detecting specific IgA and IgM with recombinant *Trypanosoma cruzi* antigens in congenital Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg* 52:512–5
55. Luquetti AO, Ferreira AW, Oliveira RA, et al (2005) Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in Brazil: estimation of prevalence based on preliminary data of national serological surveys in children under 5 years old and other sources. *Rev Soc Bras Med Trop* 38(Suppl 2):24–6
56. Luquetti AO, Ponce C, Ponce E, et al (2003) Chagas' disease diagnosis: a multicentric evaluation of Chagas Stat-Pak, a rapid immunochromatographic assay with recombinant proteins of *Trypanosoma cruzi*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 46:265–71
57. Medina-Lopes M (1988) A case of *Trypanosoma cruzi* transmission by breast-feeding in a non-endemic area. *Rev Soc Bras Med Trop* 21:151–3
58. Mendoza Ticona CA, Cordova Benzaquen E, Ancca Juarez J, et al (2005) The prevalence of Chagas' disease in puerperal women and congenital transmission in an endemic area of Peru. *Rev Panam Salud Publica* 17:147–53
59. Mora MC, Sanchez Negrette O, Marco D, et al (2005) Early diagnosis of congenital *Trypanosoma cruzi* infection using PCR, hemoculture, and capillary concentration, as compared with delayed serology. *J Parasitol* 91:1468–73
60. Moretti E, Basso B, Castro I, et al (2005) Chagas' disease: study of congenital transmission in cases of acute maternal infection. *Rev Soc Bras Med Trop* 38:53–5
61. Moya P, Moretti E, Paolasso R, et al (1989) Neonatal Chagas' disease: laboratory diagnosis during the first year of life. *Medicina (B Aires)* 49:595–9
62. Moya PR, Paolasso RD, Blanco S, et al (1985) Treatment of Chagas' disease with nifurtimox during the first months of life. *Medicina (B Aires)* 45:553–8
63. Munoz J, Coll O, Juncosa T, et al (2009) Prevalence and vertical transmission of *Trypanosoma cruzi* infection among pregnant Latin American women attending 2 maternity clinics in Barcelona, Spain. *Clin Infect Dis* 48:1736–40
64. Munoz J, Portus M, Corachan M, et al (2007) Congenital *Trypanosoma cruzi* infection in a non-endemic area. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 101:1161–2
65. Nisida IV, Amato Neto V, Braz LM, et al (1999) A survey of congenital Chagas' disease, carried out at three health institutions in Sao Paulo City, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 41:305–11
66. O'Brien SF, Chiavetta JA, Fan W, et al (2008) Assessment of a travel question to identify donors with risk of *Trypanosoma cruzi*: operational validity and field testing. *Transfusion* 48:755–61
67. Olivera Mar A, Guillen Ortega F, Cruz Vidal S, et al (2006) Serological and parasitological screening of *Trypanosoma cruzi* infection in mothers and newborns living in two Chagasic areas of Mexico. *Arch Med Res*, 37:774–7
68. OMS (1991) Control of Chagas' disease. Report of a WHO Expert Committee. *World Health Organ Tech Rep Ser* 811:1–95
69. OMS (2002) Control of Chagas' disease. *World Health Organ Tech Rep Ser* 905: i–vi, 1–109, back cover
70. Paricio-Talayero JM, Benlloch-Muncharaz MJ, Collar-Del-Castillo JI, et al (2008) Epidemiological surveillance of vertically-transmitted Chagas' disease at three maternity hospitals in the Valencian Community. *Enferm Infect Microbiol Clin* 26:609–13
71. Ponce C, Ponce E, Vinelli E, et al (2005) 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* 43:5065–8
72. Ramos JM, Milla A, Sanchez V, et al (2009) Prenatal screening for *Trypanosoma cruzi* and human T lymphotropic virus types 1 and 2 in pregnant Latin American women. *Enferm Infect Microbiol Clin* 27:165–7

73. Rassi A, Amato Neto V, Rassi GG, et al (2004) A retrospective search for maternal transmission of Chagas' infection from patients in the chronic phase. *Rev Soc Bras Med Trop* 37:485-9
74. Rassi A Jr, Dias JC, Marin-Neto JA, Rassi A (2009) Challenges and opportunities for primary, secondary, and tertiary prevention of Chagas' disease. *Heart* 95:524-34
75. Reiche EM, Morimoto HK, Farias GN, et al (2000) Prevalence of American trypanosomiasis, syphilis, toxoplasmosis, rubella, hepatitis B, hepatitis C, human immunodeficiency virus infection, assayed through serological tests among pregnant patients, from 1996 to 1998, at the Regional University Hospital Norte do Parana. *Rev Soc Bras Med Trop* 33:519-27
76. Riera C, Guarro A, Kassab HE, et al (2006) Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in Europe (Spain): a case report. *Am J Trop Med Hyg* 75:1078-81
77. Rodriguez P, Truyens C, Alonso-Vega C, et al (2005) Serum levels for IgM and IgA antibodies to anti-*Trypanosoma cruzi* in samples of blood from newborns from mothers with positive serology for Chagas' disease. *Rev Soc Bras Med Trop* 38(Suppl 2):62-4
78. Russomando G, Almiron M, Candia N, et al (2005) Implementation and evaluation of a locally sustainable system of prenatal diagnosis to detect cases of congenital Chagas' disease in endemic areas of Paraguay. *Rev Soc Bras Med Trop* 38(Suppl 2):49-54
79. Russomando G, De Tomassone MM, De Guillen I, et al (1998) Treatment of congenital Chagas' disease diagnosed and followed up by the polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg* 59:487-91
80. Salas NA, Cot M, Schneider D, et al (2007) Risk factors and consequences of congenital Chagas' disease in Yacuiba, south Bolivia. *Trop Med Int Health* 12:1498-505
81. Sanchez Negrette O, Mora MC, Basombrio MA (2005) High prevalence of congenital *Trypanosoma cruzi* infection and family clustering in Salta, Argentina. *Pediatrics* 115:e668-e72
82. Sarasua W, Sanchez M, Calegari A, Andrade E (1986) Congenital Chagas' disease. Chagasic placenta. *Rev Med Uruguay* 2:149-54
83. Scapellato PG, Bottaro EG, Rodriguez-Brieschke MT (2009) Mother-child transmission of Chagas' disease: could coinfection with human immunodeficiency virus increase the risk? *Rev Soc Bras Med Trop* 42:107-9
84. Schenone H, Gaggero M, Sapunar J, et al (2001) Congenital Chagas' disease of second generation in Santiago, Chile. Report of two cases. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 43:231-2
85. Schijman AG, Altchek J, Burgos JM, et al (2003) Aetiological treatment of congenital Chagas' disease diagnosed and monitored by the polymerase chain reaction. *J Antimicrob Chemother* 52:441-9
86. Soriano A, Munoz J, Verges M, et al (2009) Prevalence of Chagas' disease in the Latin American immigrant population in a primary health centre in Barcelona (Spain). *Acta Trop* 112(2):228-30
87. Sosa-Estani S, Gamboa-Leon MR, Del Cid-Lemus J, et al (2008) Use of a rapid test on umbilical cord blood to screen for *Trypanosoma cruzi* infection in pregnant women in Argentina, Bolivia, Honduras, and Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 79:755-9
88. Streiger M, Fabbro D, Del Barco M, et al (1995) Congenital Chagas' disease in the city of Santa Fe. Diagnosis and treatment. *Medicina (B Aires)* 55:125-32
89. Strout R (1962) A method for concentrating hemoflagellates. *J Parasitol* 48:100
90. Torrico F, Alonso-Vega C, Suarez E, et al (2004) Maternal *Trypanosoma cruzi* infection, pregnancy outcome, morbidity, and mortality of congenitally infected and non-infected newborns in Bolivia. *Am J Trop Med Hyg* 70:201-9
91. Torrico F, Vega CA, Suarez E, et al (2006) Are maternal re-infections with *Trypanosoma cruzi* associated with higher morbidity and mortality of congenital Chagas' disease? *Trop Med Int Health* 11:628-35
92. Virreira M, Alonso-Vega C, Solano M, et al (2006) Congenital Chagas' disease in Bolivia is not associated with DNA polymorphism of *Trypanosoma cruzi*. *Am J Trop Med Hyg* 75:871-9
93. Virreira M, Martinez S, Alonso-Vega C, et al (2006) Amniotic fluid is not useful for diagnosis of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg* 75:1082-4
94. Virreira M, Torrico F, Truyens C, et al (2003) Comparison of polymerase chain reaction methods for reliable and easy detection of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg* 68:574-82
95. Virreira M, Truyens C, Alonso-Vega C, et al (2007) Comparison of *Trypanosoma cruzi* lineages and levels of parasitic DNA in infected mothers and their newborns. *Am J Trop Med Hyg* 77:102-6
96. Wilson LS, Ramsey JM, Koplowicz YB, et al (2008) Cost-effectiveness of implementation methods for Elisa serology testing of *Trypanosoma cruzi* in California blood banks. *Am J Trop Med Hyg* 79:53-68
97. Woo P (1969) The haematocrit centrifuge for the detection of trypanosomes in blood. *Can J Zool* 47:921-3
98. Zaidenberg M (1999) Congenital Chagas' disease in the province of Salta, Argentina, from 1980 to 1997. *Rev Soc Bras Med Trop* 32:689-95