

Programa de Diagnóstico de Toxoplasmosis Materna en Armenia

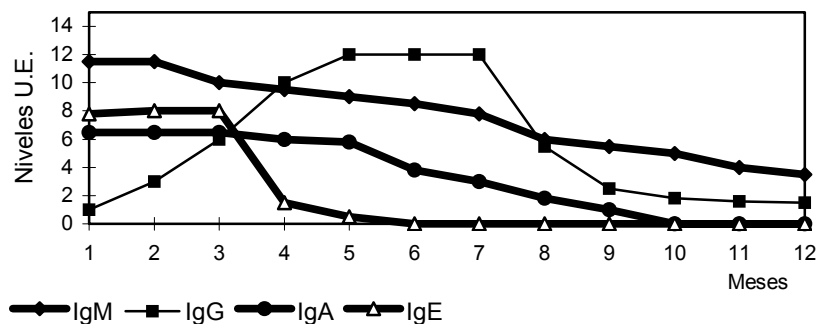
Maria Teresa Montoya, Bacterióloga.
Parasitóloga, Laboratorio Solidaridad, Armenia, Quindío

Durante una infección por *Toxoplasma* no existen síntomas específicos de esta infección por lo tanto la sospecha clínica requiere siempre la confirmación por el laboratorio. El laboratorio juega, entonces, un papel crucial para determinar la etiología en esta infección parasitaria. La estrategia diagnóstica puede basarse en técnicas serológicas que midan anticuerpos específicos o técnicas cualitativas y semicuantitativas que establezcan perfiles inmunológicos comparados. Estos perfiles inmunológicos comparados permiten distinguir entre anticuerpos maternos y fetales o una neoproducción. Cuando se sospecha un déficit inmunitario o una producción débil de anticuerpos, como en los casos de inmunosupresión o infección fetal se puede emprender la detección directa del parásito tanto en ratón como en cultivo celular o evidenciar su presencia por la amplificación de un segmento del ADN del parásito.

El diagnóstico se puede basar en pruebas serológicas que evidencian la presencia de inmunoglobulinas específicas IgG, IgM, IgA o IgE. Es importante conocer la cinética de aparición de los anticuerpos y el tiempo de duración de cada isotipo de inmunoglobulinas para realizar la interpretación de las pruebas serológicas y datar el inicio de la infección. Las infecciones clínicamente importantes pertenecen (salvo en el caso de los inmunosuprimidos) a infecciones recientes. La cinética va a depender de la técnica de detección de anticuerpos que se utilice y los métodos de fabricación del antígeno. El patrón que se menciona a continuación se refiere a lo que se halla por Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) o las técnicas inmunoenzimáticas (ELISA) o en la Aglutinación de Alta Sensibilidad (ADHS) en el caso de la IgG y a las técnicas de inmunocaptura (IC) en los otros casos. La IgG aparece 1 a 3 semanas después de adquirida la infección y alcanza su máximo nivel 3 a 6 meses después para luego descender y quedar a bajos niveles por el resto de la vida. La elevación de IgG específicas para *Toxoplasma* en muestras tomadas con

un intervalo de cuatro semanas puede ser utilizada como criterio diagnóstico pero tiene el inconveniente de que retarda el diagnóstico. La detección de IgM fue propuesta como marcador de infección activa. Inicialmente fue detectada a través de la Inmunofluorescencia Indirecta (IFI-IgM o test de Remington) pero esta prueba no tiene una buena sensibilidad ya que la detección puede ser bloqueada por la presencia de IgG en altos niveles o factor reumatoideo, sólo entre 10-25 % de las toxoplasmosis agudas son positivas por esta técnica. Más adelante se propuso la estrategia de inmunocaptura la cual detecta la IgM a partir de la primera o segunda semana de infección y mejoró notablemente la sensibilidad. Sin embargo la IgM permanece detectable entre 6 a 18 meses e incluso, dependiendo de variaciones individuales, hasta uno a dos años después de la primoinfección. En Colombia por datos de modelos matemáticos de prevalencia por edad su duración promedio es dos años. Adicionalmente pueden existir « IgM naturales » (inmunoglobulinas circulantes del isotipo IgM que reconocen al *Toxoplasma* aún sin haber ocurrido una infección). Buscando otros marcadores serológicos que posibiliten el diagnóstico de una infección aguda desde la primera muestra se propuso la determinación de IgA e IgE las cuales tienen una duración más corta en circulación y permiten ser utilizadas en el diagnóstico de infección reciente. Los anticuerpos IgA aparecen 2 semanas después de la IgM y persisten de 6 a 8 meses luego de la primoinfección, la tasa más alta se alcanza al mes. Los IgE son más precoces y alcanzan un nivel máximo 15 días a tres semanas.

Figura 1. Evolución de los títulos de anticuerpos antitoxoplasma para IgG, IgM, IgA, Ige en 52 casos de seroconversión (Laboratoire de Parasitologie CHU Reims-France)



La mayor utilidad del test específico para IgM es para determinar si una mujer embarazada no se ha infectado recientemente. Una prueba negativa para IgM en una mujer embarazada descarta virtualmente una infección reciente. Buscando otros marcadores serológicos de infección reciente se estudiaron los isotipos IgA. Las pruebas para los anticuerpos IgA anti-*Toxoplasma* han demostrado ser de una gran utilidad para el diagnóstico precoz en recién nacidos con la forma congénita de la infección. De otro lado la presencia de IgA contra *T. gondii* también se ha reportado en pacientes adultos con infección adquirida reciente. En algunos estudios previos por otros autores fue detectada durante la fase aguda de la toxoplasmosis hasta en el 80-95 % de los casos y fue detectada de manera menos frecuente en los sueros de pacientes con infección crónica que los IgM. Los métodos más utilizados para la determinación de IgA anti-*Toxoplasma* son las técnicas ELISA e ISAgA. En la técnica ELISA se utiliza como anticuerpo secundario un anticuerpo monoclonal anti-P30 conjugado a la peroxidasa. La proteína P30 es expresada por los taquizoítos (forma de replicación rápida) y provoca una respuesta inmune en estados tempranos de infección por *T. gondii*. La técnica ISAgA es la otra técnica utilizada para detección de IgA anti-*Toxoplasma* y esta se basa en el método de inmunocaptura empleando una suspensión de taquizoítos enteros de *T. gondii* en formol como antígeno.

La utilización del PCR en el diagnóstico de la toxoplasmosis aporta un progreso indiscutible en aquellos casos donde los exámenes clínicos y serológicos son inoperantes, así como una mayor rapidez para realizar el diagnóstico, dando resultados disponibles en 24 horas. En un estudio en París, en 2 632 mujeres con infección adquirida en el embarazo, se encontró una sensibilidad de 97,4 % para el diagnóstico de infección fetal con la realización del PCR en muestras de líquido amniótico lo cual la coloca en un rango muy superior frente a otros métodos convencionales (inoculación de líquido amniótico y sangre fetal en ratón, cultivo celular de líquido amniótico e identificación de IgM específica en sangre fetal) cuya sensibilidad no llegó sino hasta un 89,5 %. En algunos estudios se tuvieron resultados limitados con la detección de PCR positivo en muestras de placenta y sangre de cordón umbilical en niños no infectados debido a la contaminación de esos especímenes con sangre materna. Esto logró ser superado a través de la utilización de un sistema selectivo de tampón de lisis que permitía la detección de las muestras contaminadas con sangre materna, esto explica la sensibilidad de 97,4 % y el valor pre-

dictivo negativo para ese grupo de pacientes de 99,7 %. Así el protocolo propuesto por este grupo permite una mejoría significativa del método y una disminución de los riesgos debidos a la cordocentesis, pues estos resultados se logran con la sola muestra de amniocentesis. Sin embargo se debe complementar con el cultivo en ratón pues el único caso no detectado en la serie francesa por el PCR si lo fue por la inoculación en ratón. También puede ocurrir lo contrario que una muestra de líquido amniótico si sea positiva por PCR pero no por la inoculación en ratón, en conclusión son pruebas complementarias y ambas deben realizarse. Estudios recientes han aclarado el valor diagnóstico del PCR y de la inoculación en ratón en el líquido amniótico (Tabla 1).

Tabla 1. Evaluación de las técnicas de PCR e inoculación en ratón para el diagnóstico de la toxoplasmosis congénita en líquido amniótico

		Roberth Gangneux 1999 N = 110	Multicéntrico europeo 1999 N = 112
P C R	Sensibilidad	76 % (16/21)	81% (13/16)
	Especificidad	100% (73/73)	96% (47/49)
CULTIVO RATON	Sensibilidad	52% 9/17	58% 14/24
	Especificidad	100% (73/73)	98% (65/66)

En el programa de control prenatal de la toxoplasmosis en Armenia se han seleccionado las siguientes pruebas para las gestantes del régimen vinculado que asistan a control de embarazo en las diferentes IPS y se encuentren en el 1^{er} trimestre de gestación:

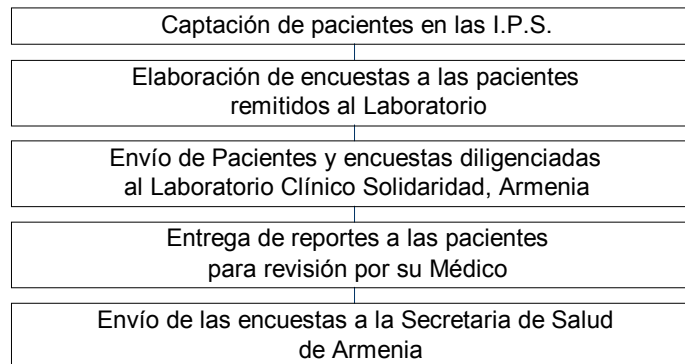
ELISA IgG
ELISA IgM de captura
ELISA IgA de captura

La interpretación de los resultados se hace según los criterios mostrados en la tabla 2.

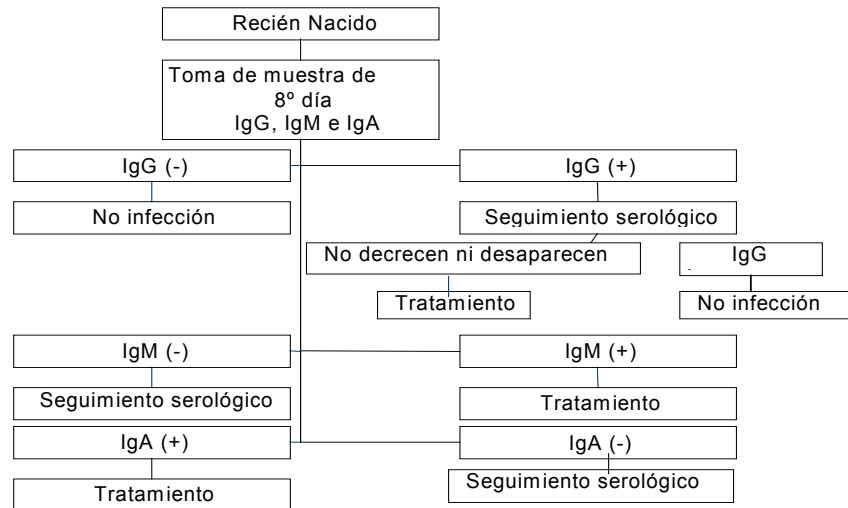
Tabla 2. Interpretación de los resultados por ELISA IgG

Toxo (Ig G) (UI/ml)	Resultados	Interpretación	Control de nueva Prueba IgG
<50	Negativo	Anticuerpos para T. Gondii No detectables	Cada Trimestre
50 – 200	Positivo	Estados tempranos de la enfermedad o indicativos de exposición pasada	3 semanas (20 días)
200-300	Positivo	Indicativo de una reciente exposición	3 semanas (20 días)
> 300	Positivo	Indicativo de Toxoplasmosis	Determinación de Toxo-IgM Confirmación con Toxo- Ig A

El flujograma de captación de las muestras se muestra a continuación:



Se ha previsto un flujograma diagnostico para el recién nacido:



En un corte de datos de los datos recolectados entre el 6 de marzo y el 23 de junio del 2000 se encuentra lo siguiente:

- Total de pacientes remitidos = 147
- Reactivas IgG = 61%
- 2ª muestra = 50 todas pacientes reactivas
- Incremento de títulos en 1 caso; la prueba inicial: 65,5 UI/ml y a las 3 semanas: 197,1 UI/ml. En este caso tanto la IgM como la IgA fueron positivas

REFERENCIAS

1. Montoya MT, Gómez Marin JE, Castaño JC, Marx C, Aubert D, Bonhomme APinon JM. Avances diagnósticos en Toxoplasmosis. Acta Médica Colombiana 1996; 21:127-138
2. Montoya MT, Gómez Marín JE, Loango N, Castaño JC, Marx C, Foudrinier F, Aubert D, Bonhomme A, Pinon JM. Utilidad de dos pruebas serológicas para IgA humana anti-toxoplasma como pruebas de referencia para toxoplasmosis materna reciente. Acta Médica Colombiana 1998; 23:275-282