

**EVALUACIÓN DE UN REACTIVO COMERCIAL DE AGLUTINACIÓN DIRECTA PARA EL
DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN POR *Toxoplasma gondii* EN MUJERES
EMBARAZADAS DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA**

Guignard Susana, Cabrera Lorena, Moretto Hugo y Borletto Noemí

División Parasitología – Departamento Laboratorio Central de la Provincia de Córdoba

Contacto: Susana Guignard email: suguignard@yahoo.com.ar cel: 0351-156340263

RESUMEN

La detección de infección aguda es el objetivo del control prenatal de Toxoplasmosis. En este trabajo se evaluó un reactivo comercial de Aglutinación Directa (Toxo-Screen DA-Biomerieux) para la detección de Anticuerpos (Ac) anti *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*). Se utilizó un panel constituido por 91 muestras de suero acumuladas de gestantes anónimas derivadas de distintos hospitales de capital e interior provincial, para investigación de Ac anti *T.gondii*, constituido de la siguiente manera: 44 muestras fueron positivas para IgG e IgM con distintos valores de avidéz y 47 muestras negativas. La totalidad de las muestras se procesaron con el reactivo a evaluar. El análisis estadístico se realizó con el programa Epidat 3.1 y arrojó Sensibilidad de 100 % (98.86 – 100.00 IC 95%), Especificidad de 95.74% (88.91 – 100.00 IC 95%). El reactivo Toxo-Screen DA presentó una sensibilidad óptima para el tamizaje de infección por *T.gondii* en mujeres embarazadas.

Palabras claves: Toxoplasmosis congénita, embarazadas, tamizaje.

INTRODUCCIÓN

La Toxoplasmosis es una zoonosis parasitaria producida por el protozoo coccidio *T. gondii* que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza. El parásito tiene un ciclo de reproducción sexuada en el intestino de los felinos y un ciclo asexuado extraintestinal en aves y mamíferos, entre ellos el hombre (1).

La infección por toxoplasma se adquiere por la ingestión de carne cruda o poco cocida que contenga quistes tisulares, o por la ingestión de ooquistes excretados con las heces de gatos parasitados. Cabe aclarar, que los ooquistes al momento de ser eliminados no son infectivos, los mismos necesitan madurar en el ambiente en condiciones adecuadas de humedad y temperatura. La contaminación de aguas u hortalizas por ooquistes maduros, o la manipulación de tierra o plantas que estén en contacto con excrementos de gato, pueden acarrear la contaminación de los alimentos crudos o la transmisión por vía oral, a través de las manos.

Una vez ingeridos, la pared externa de quistes y ooquistes se rompe por digestión enzimática y las formas infecciosas del parásito denominadas esporozoítos, son liberadas a la luz del intestino. A partir de aquí invaden rápidamente las células colindantes, donde se transforman en taquizoítos (trofozoítos de reproducción rápida), que se multiplican hasta romper las células. Los taquizoítos liberados se diseminan por vía hematogena o linfática y así invaden otras células del organismo. Cuando se desarrolla la respuesta inmunitaria, los taquizoítos libres disminuyen y se enlentece su multiplicación intracelular, pasando en el transcurso de unas semanas de la fase proliferativa o aguda a la fase crónica, en la que algunos parásitos continuarán multiplicándose lentamente (bradizoítos) dando lugar a la formación de quistes tisulares. *T. gondii* puede infectar prácticamente todos los tejidos del organismo, con posibilidad de diseminación generalizada (1).

Otras vías de transmisión son la vertical, la transfusional y a través de transplantes de órganos.

La toxoplasmosis es la zoonosis más frecuente en los humanos, presenta riesgo de transmisión vertical al feto en una primoinfección durante la gestación, la cual puede

producir morbimortalidad significativa en el feto y recién nacido, con posibles secuelas a largo plazo en niños y adultos (2,3).

En la mayoría de los casos la infección aguda en la embarazada es asintomática, (80 a 90%), en esta etapa se produce una parasitemia transitoria durante la cual los parásitos pueden atravesar la barrera placentaria e infectar al feto (4,5).

El riesgo de contagio del feto se incrementa a medida que avanza la gestación, siendo mayor durante el tercer trimestre. Por el contrario, el grado de afectación fetal es mayor cuando la infección se produce en las primeras semanas del embarazo y va disminuyendo a medida que transcurre el mismo (2,3,5).

Aproximadamente el 70% de los recién nacidos infectados son asintomáticos, pero pueden desarrollar manifestaciones clínicas tardías como: coriorretinitis y alteraciones neurológicas, entre otras (4,6).

Para el diagnóstico de infección aguda en el embarazo, se deben realizar pruebas de tamizaje que detecten anticuerpos específicos anti *T gondii* de tipo IgG e IgM lo más cercano posible al momento de la concepción (3,4).

Las pruebas de tamizaje permiten agrupar a las mujeres embarazadas en 3 categorías (4):

- Embarazadas susceptibles de infección
- Embarazadas con sospecha de infección reciente
- Embarazadas con inmunidad previa

La detección de IgG en la primera muestra pone de manifiesto el estado inmune de la paciente. Si la IgG es positiva nos indica que la paciente estuvo en contacto con el parásito pero no nos brinda información del tiempo transcurrido desde la primoinfección. Para tener información sobre el momento en que ocurrió la misma se efectúa la determinación de IgM. Una IgM negativa descarta infección aguda, pero una IgM anti *T. gondii* positiva no la confirma, hay pacientes que tardan años en negativizar su IgM (7). A fin de lograr una mejor definición diagnóstica, a las muestras positivas para IgM se les debe investigar a profundidad

IgG. Una Aidez alta de IgG confirma una infección crónica de más de 12 semanas de evolución. Mientras que una aidez baja es indicativa de infección aguda (4,8,9).

Existen varias pruebas serológicas para la detección de IgG anti *T gondii*. Al momento de elegir una técnica uno de los parámetros a priorizar es la sensibilidad, es por ello que se recomienda para monitoreo y diagnóstico, utilizar técnicas que revelen inmunoglobulina G (IgG) dirigidas contra antígenos de superficie del parásito (4, 9,10).

El objetivo del presente trabajo es evaluar la performance de un reactivo comercial de Aglutinación Directa (Toxo-Screen DA), para la detección de Ac anti *T. gondii* en muestras de mujeres embarazadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras: se utilizó un panel constituido por 91 muestras de suero almacenadas en nuestra seroteca (11,12), remitidas por hospitales de capital e interior provincial pertenecientes a gestantes anónimas para investigación de Ac. anti *T. gondii*. Fueron procesadas por técnica de ELFA (Enzyme Linked Fluorescence Assay), en un autoanalizador VIDAS (Biomerieux) y los reactivos utilizados fueron Vidas Toxo IgG II, Vidas Toxo IgM y Vidas Toxo Avidity (4,8). Posterior a su procesamiento todas las muestras fueron conservadas a -20°C.

Se incluyeron:

- 44 muestras positivas para IgG e IgM. a todas se les determinó la Aidez de IgG específica (19 aidez débil, 3 intermedia y 22 fuerte).
- 47 muestra negativas para IgG.

Reactivos: se utilizó el reactivo comercial Toxo-Screen DA, prueba que permite la detección de las IgG anti-toxoplásmicas en suero humano por aglutinación directa de *Toxoplasmas* formolados. La totalidad de las muestras del panel se procesaron con el reactivo a evaluar, desarrollando el protocolo técnico de screening, según las instrucciones del fabricante, que contempla 2 diluciones: 1/40 y 1/4000.

El cálculo de los parámetros Sensibilidad, Especificidad, y Valor Global de la Prueba, se realizó con el programa Epidat 3.1 (13).

RESULTADOS

Del total de 44 muestras positivas, 35 resultaron Reactivas en las diluciones 1/40 Y 1/4000; 9 muestras fueron reactivas al 1/40 y no reactivas al 1/4000, estas últimas habían arrojado niveles bajos de IgG por técnica de ELFA.

De las 47 muestras negativas, 44 resultaron no reactivas en ambas diluciones, 1 fue reactiva al 1/40 y no reactiva al 1/4000 y 1 fue no reactiva al 1/40 y reactiva al 1/4000; en este último caso, una muestra posterior de la misma paciente nos permitió confirmar el resultado negativo y descartar un fenómeno de prozona.

El análisis estadístico de los datos arrojó Sensibilidad de 100 % (98.86 – 100.00 IC 95%), Especificidad de 95.74 % (88.91 – 100.00 IC 95%) y un Valor Global de la Prueba de 97.80%.

DISCUSION

El diagnóstico temprano de la primoinfección por *T. gondii* en la gestante, permite la intervención terapéutica adecuada que puede evitar el desarrollo de daños graves en el niño en gestación (14,15). Es por ello que al momento de elegir un reactivo para el tamizaje inicial de las muestras uno de los parámetros que debe priorizarse es la sensibilidad del mismo (4,16).

En el presente trabajo se evaluó el desempeño de un reactivo comercial de Aglutinación Directa para detección de Ac anti *T. gondii*, mediante el procesamiento de un panel de muestras previamente clasificadas.

Los parámetros considerados fueron: sensibilidad, especificidad y valor global de la prueba. El reactivo presentó una sensibilidad del 100%, una especificidad de 95.74% y el valor global de la prueba fue de 97.80%, estos resultados son similares a los reportados por otros autores (17). La óptima sensibilidad del reactivo evaluado, nos permite considerarlo como un reactivo adecuado para el tamizaje inicial de infección por *T. gondii* en mujeres embarazadas.

Respecto a la especificidad, se observaron 2 muestras con resultados falsos positivos. Otros autores también han reportado falsos positivos asociados a diversas patologías interferentes (18). Es importante tener en cuenta que ante un resultado inicial reactivo se debe efectuar la investigación de otros marcadores, a fin de lograr la definición diagnóstica.

En el presente trabajo, observamos que la totalidad de las muestras del panel fueron correctamente identificadas por el reactivo a evaluar, arrojando un buen Valor Global de la Prueba, el cual constituye un índice adecuado para determinar la performance de un reactivo a utilizar. Por lo tanto consideramos que el reactivo Toxo-Screen DA permite la detección de Ac IgG anti *T gondii* de manera oportuna y sencilla, siendo además factible su implementación en laboratorios de baja complejidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Atias A y Thiermann, E. Toxoplasmosis. En: Ed Mediterraneo. Parasitología Médica. Santiago, Chile 2006: 265-69.
2. Díaz L, Zambrano B, Chacón G, Rocha A, Díaz S. Toxoplasmosis y embarazo Rev Obstet Ginecol Venez 2010;70:190-205.
3. Carral, L, Kaufer F, Olejnik P, Freuler C; Durlach; R. Prevención de la Toxoplasmosis congénita en un hospital de Buenos Aires. Medicina. MEDICINA (Buenos Aires) 2013; 73: 238-42.
4. Consenso Argentino de Toxoplasmosis Congénita. MEDICINA (Buenos Aires) 2008; 68: 75-87.
5. Robert-Gangneux F and Dardé M Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis Clin. Microbiol. Rev. 2012, 25:264. DOI: 10.1128/CMR.05013-11.
6. Rodrigues I, Castro A, Gomes M, Amaral W, Avelino M. Congenital toxoplasmosis: evaluation of serological methods for the detection of anti-Toxoplasma gondii IgM and IgA antibodies. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009;104: 434-40.
7. McLeod R. Utility and limitations of T. gondii-specific IgM serum antibodies in the diagnosis of congenital, I toxoplasmosis in Porto Alegre. J Pediatr (Rio J). 2014;90: 329-31.
8. Canales RM, Navia GF, Torres HM, Concha CM, Guzmán DA, Pérez CC, García CP. Evaluación de un test comercial de avidéz de IgG: Aporte al diagnóstico de Primoinfección por Toxoplasma gondii. Rev Chil Infect 2010; 27: 499:504.
9. Leite M, Siciliano S, Rocha L, Justa M, César K y Granato C. Correlation between specific IgM levels and pregnancy IgG class antibody to Toxoplasma gondii. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo 2008;50:237-42.
10. Burgos M, Manterota C. Cómo interpretar un artículo sobre pruebas diagnósticas Rev. Chilena de Cirugía. 2010;62:301-8.

11. Dannemann B, Vaughan W, Thulliez P, Remington J. Differential Agglutination Test for Diagnosis of Recently Acquired Infection with *Toxoplasma gondii*. Rev. Journal of Clinical Microbiology, 1990;28: 1928-33.
12. Johnson J, Duffy K, New L, Hollima R, Chessum B, Fleck D. Direct agglutination test and other assays for measuring antibodies to *Toxoplasma gondii*. Journal of Clinical Pathol 1989;42:536-41.
13. Organización Panamericana de Salud (OPS/OMS). Dirección Xeral de Saúde Pública – Consellería de Sanidade – Xunta de Galicia. Área de Análisis de Salud y Sistemas de Información Sanitaria – EPIDAT. Programa para Análisis Epidemiológico de los datos tabulados versión 3.1. Enero 2006.
14. Ocampo L, Duarte-Gandica I. Modelo para la dinámica de transmisión de la toxoplasmosis congénita. Rev. Salud Pública. 2010;12: 317-26.
15. Baquero-Artigao F, del Castillo Martín F, Fuentes Corripio I, Goncé Mellgren A, Fortuny Guasch C, de la Calle Fernández-Miranda M, González-Tomé M, Couceiro Gianzo J, Neth O, Ramos Amador J y Grupo de Trabajo de Infección Congénita y Perinatal de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica (SEIP) Guía de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica para el diagnóstico y tratamiento de la toxoplasmosis congénita. An Pediatr (Barc).2013; 79:116.e1-116.e16.
16. Meroni V, Genco F. Screening for toxoplasmosis during pregnancy: One-year experience in an Italian reference laboratory Scientia Medica (Porto Alegre); 2010; 20:35-9.
17. Sukthana Y, Chintana T, Supatanapong W, Siripan Ch, Lekkla A, Cheabchalrad R. Predictive value of latex Agglutination Test in serological scening for *Toxoplasma gondii*. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2001; 32: 314-8.
18. Vilard O, Cimon B, Franck J, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, Paris L, Pellou H, Villena I, Candolfi E, and The network from the French National Reference Center for Toxoplasmosis. Evaluation of the usefulness of six commercial

agglutination for serologic diagnosis of toxoplasmosis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012, doi:10.1016/j.diagmicrobio.2012.03.014,2-5.