

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
 FACULTAD DE MEDICINA
 ESCUELA DE TECNOLOGIA MEDICA
 DIRECCION DE LABORATORIO CLINICO



**“Estudio de Anticuerpos a Toxoplasma en Pacientes
 Obstétricas y sus Neonatos utilizando la técnica de
 Hemaglutinación Indirecta TOXO IHA-TEST con
 tratamiento de 2 Mercaptoetanol”**

PRESENTADO AL ASESOR
LIC. MARIA GUADALUPE HIDALGO DE BARAHONA

REALIZADO POR:

**Elsy Reinosá Henríquez
 Marta Elena Girón López
 Mirna del Carmen Orellana Alvarado**



MARZO 1989

T
616.07561
R 373 e

Ej^o

DES BIBLIOTECA CENTRAL



INVENTARIO: 10105328

AGRADECIMIENTO

A LIC. GUADALUPE HIDALGO DE BARAHONA:

QUIEN FUE NUESTRA GUÍA, SIN CUYA DIRECCIÓN Y ACERTADA ASESORÍA, NO HUBIERA SIDO POSIBLE LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO.

A LOS SEÑORES MIEMBROS DEL JURADO:

DRA. YASMARA LÓPEZ MEARDI, LIC. ALBERTO ARGUETA Y LIC. YOLANDA RAMOS; QUIENES CON SUS VALIOSOS CONOCIMIENTOS, ACEPTARON DESINTERESADAMENTE LA REVISIÓN Y CORRECCIÓN DE ESTE SEMINARIO.

AL DR. ROMULO SOSA:

QUIEN NOS BRINDÓ LA OPORTUNIDAD DE REALIZAR ESTE TRABAJO Y A SU VEZ LA ORIENTACIÓN ADECUADA QUE NOS PROPORCIONÓ GRACIAS A SUS ALTOS CONOCIMIENTOS Y EXPERIENCIA.

AL DR. RAFAEL LARIOS MANZANO:

POR SU VALIOSA COLABORACIÓN Y CONOCIMIENTOS HACIÉNDONOS LA TAREA MÁS FÁCIL.

RESUMEN

Se presenta una investigación elaborada en el Hospital 1° de Mayo del Instituto Salvadoreño del Seguro Social sobre la frecuencia de anticuerpos a toxoplasma en la población de embarazadas que acude a la institución, haciendo una correlación Clínico-Patológica a través del estudio de 100 binomios (madre-neonato) escogidos y se analizan los resultados positivos obtenidos con la técnica de Hemaglutinación Indirecta con tratamiento del suero con 2-Mercaptoetanol (TOXO IHA-TEST).

En el grupo de embarazadas se obtuvo 52% de reacciones positivas y en el grupo de recién nacidos el porcentaje de reactividad fue de 52%.

En los niños se trató de determinar si la presencia de anticuerpos obedecía a una infección activa in útero o a la transferencia pasiva de anticuerpos de madre a hijo, habiéndose comprobado gracias a la diferenciación del tipo de anticuerpos, que en 84.62% de niños, los anticuerpos eran de origen materno y en 15.38% sugiere que el niño tuvo una infección por Toxoplasma gondii durante su gestación.

Globalmente estos porcentajes nos llevan a reafirmar los resultados de estudios precedentes efectuados en El Salvador, desde el trabajo de investigación de Remington y Col. en 1962, que señala personas con anticuerpo para Toxoplasma gondii entre la población salvadoreña.

Destaca por su importancia la toxoplasmosis adquirida por la mujer durante la gestación y que puede transmitir al producto, ocasionando la forma congénita de la enfermedad, cuyas alteraciones limitan la actividad del médico en beneficio del producto.

La toxoplasmosis humana tiene características particulares desde el punto de vista clínico, así como aspectos nosológicos poco conocidos. En nuestro medio -particularmente- aún no se le ha revestido de la importancia médica y social que le es implícita, a pesar de que en la última década se ha venido investigando y tratando de establecer su propio perfil epidemiológico.

Como dijera Herrera y colaboradores en su reporte patológico en 1974:^{1/} "El hallazgo del primer caso es el más difícil, de allí para adelante, se tiene presente la lección aprendida."

^{1/} Herrera, C.H., Vásquez, L.E., Hasfura, M. "Toxoplasmosis en El Salvador".

INTRODUCCION

El Toxoplasma gondii fue descubierto por Nicolle y Manceaux en roedores en 1908. Catorce años después, el oftalmólogo Josep Junkú descubrió esta enfermedad en el hombre al encontrar quistes del parásito en la retina de un niño con hidrocefalia y macrocefalia congénitas (8,9,16,18,43).

En la naturaleza el parásito se encuentra en tres formas: trofozoíto, quiste tisular y ooquiste. El primero es la forma invasiva del protozoario y es responsable de la etapa aguda de la enfermedad; el quiste es la forma persistente o latente y se forma dentro de los tejidos del huésped; el ooquiste sólo se encuentra en el intestino del gato, que lo expulsa en sus heces y necesita de un período de maduración en el medio ambiente que va de 1 a 21 días. El gato es el hospedero definitivo del parásito.

La infección del hombre y animales domésticos ocurre después de la ingestión de quistes u ooquistes maduros, que son rotos por las enzimas digestivas. Los trofozoítos y esporozoítos invaden el epitelio intestinal de donde se diseminan por vía hematógena a cualquier órgano en donde se multiplican intracelularmente (6,16,28,41,44,52).

Muchos investigadores han reportado la presencia de anticuerpos en mujeres embarazadas (46). El peligro de que éstas desarrollen una toxoplasmosis evolutiva varía considerablemente en función del período gestacional en que ocurre

la fecha de infección; la transmisión materno-fetal es más frecuente cuando la infección materna es más tardía, pero la gravedad de la infección fetal es tanto más severa cuanto más precoz es la infección. Si la enfermedad se establece durante el embarazo podrá ser responsable de cuadros que van desde aborto, óbito fetal, parto prematuro o un neonato con marcadas anomalías tales como hidrocefalia, coriorretinitis, calcificaciones intracraneanas, manifestaciones neurológicas diversas que incidirán considerablemente en su desarrollo psicomotor. O bien puede darse el parto de un niño aparentemente sano sin manifestaciones clínicas visibles (6,12,13,23,32,38,44,49,50). Esto sugiere la conveniencia de establecer pruebas de laboratorio para detectar Toxoplasmosis en mujeres durante el primer trimestre del embarazo (28,31,32,34,41,52).

La prevalencia de reactores a Toxoplasma gondii aumenta con la edad, aproximándose a un 25-50% en la población adulta de los Estados Unidos (19,48); 60-70% en la población adulta de Italia (2,11); 64% en la hondureña (26,51); en Guatemala y Costa Rica el porcentaje de reactores en individuos mayores de 25 años es de 94% y 88.5% respectivamente.

La comprobación de la patogenicidad del Toxoplasma gondii en el hombre ha sido motivo de gran número de trabajos e investigaciones realizadas en poblaciones diversas que han reportado un alto índice de infección dentro y fuera

del país (1, 46).

En nuestro país ya se han realizado trabajos con el propósito de investigar la presencia de anticuerpos a Toxoplasma gondii en grupos de población adulta entre 18 y 65 años, habiéndose obtenido resultados con una reactividad de 59% de pacientes en un estudio realizado en 1979 en diferentes poblaciones de El Salvador (44). En 1984 se hizo otra investigación en el Instituto Salvadoreño del Seguro Social (37) y se observó un 65.04% de reactividad, con un aumento de ésta relacionada con la edad del individuo. Con respecto a su relación con el embarazo, en un estudio realizado en el Hospital de Maternidad en 1970 se señaló el hallazgo de anticuerpos a Toxoplasma gondii en 75% en mujeres gestantes; y en el Hospital General del Seguro Social en 1981 se detectó la presencia de anticuerpos en 86.4% de mujeres embarazadas y 89% de embarazadas en control prenatal (1). En 1986 en el Hospital San Juan de Dios de San Miguel se demostró un índice de reactividad del 57.6% (24).

El diagnóstico de la Toxoplasmosis puede hacerse mediante 2 métodos: Directos e Indirectos. a) Directos: son los que identifican al parásito intracelularmente en líquidos corporales o por frotis de cortes histológicos teñidos con Whright o Giemsa. Estos últimos son procedimientos que aportan poco al hallazgo del parásito; por lo tanto, no siempre tienen éxito como lo demuestra un estudio realizado en Costa Rica donde se investigó la presencia de anticuerpos a To

xoplasma en suero de mujeres post-parto y en sangre del cordón de sus recién nacidos y se intentó observar al parásito en el tejido placentario sin ningún éxito; sin embargo, encontraron un 60% de reactividad en los sueros de las madres al utilizar métodos de Serodiagnóstico. b) Indirectos: son los que detectan la respuesta humoral frente al Toxoplasma. En la rutina de laboratorio los métodos que se utilizan son los fundamentados en la inmunidad humoral del paciente frente al parásito: Serodiagnóstico (46,51).

En los métodos serodiagnósticos se pueden utilizar como antígeno toxoplasmas vivos (Dye-Test) o toxoplasmas muertos en forma de antígeno particulado (Inmunofluorescencia Indirecta PIAF, Aglutinación Directa AD) o en forma de antígenos soluble (Fijación de Complemento, Hemaglutinación Indirecta Pasiva: IHA, ELISA) (51).

Actualmente se cuenta con técnicas inmunoenzimáticas de fase sólida como IgM-Isaga, Elisa Reversa y Elifa, que son aplicadas a la serología (13,51).

En nuestro país sólo se realizan 2 pruebas serodiagnósticas: PIAF e IHA-test. El PIAF o Inmunofluorescencia Indirecta es una reacción clásica y la más conocida en nuestro medio. El IHA-test es una prueba para la detección cualitativa y cuantitativa de anticuerpos a Toxoplasma gondii.

Esta última se efectúa fácilmente y es sensible, reproducible y específica, a diferencia de la mayoría de las mencionadas que necesitan de aparatos sofisticados y de técnicas

cas engorrosas para su realización (39,51).

Los anteriores estudios mencionados reflejan un alto índice de reactores tanto entre la población general como entre la población de mujeres gestantes (1,37,24). Este hecho ha provocado inquietud entre algunos médicos del Departamento de Gineco Obstetricia del Instituto Salvadoreño del Seguro Social, así como también nos ha motivado a realizar un trabajo en que se investigue y determine la prevalencia de anticuerpos a Toxoplasma gondii en mujeres embarazadas en un período próximo al parto y en sus recién nacidos, y si los anticuerpos presentes en la muestra del cordón umbilical de los recién nacidos son resultado de la transferencia pasiva de la madre (IgG) o de una infección in-útero (IgM), lo cual se comprobaría al comparar los títulos de anticuerpos con los resultados obtenidos en una segunda muestra verificada a los 6 meses de edad (46).

En este estudio utilizaremos la técnica de Hemaglutinación Indirecta Pasiva para establecer la prevalencia de anticuerpos a Toxoplasma gondii en mujeres embarazadas y sus recién nacidos, tratando el suero con 2-mercaptoetanol para diferenciar el tipo de anticuerpos presentes (40). No evaluaremos la técnica de Hemaglutinación Indirecta Toxo-IHA Test, ya que es una reacción muy conocida; como también sensible y específica en el campo científico y de diagnóstico.

OBJETIVOS

1. Encontrar la prevalencia de anticuerpos a Toxoplasma gondii en mujeres embarazadas antes del parto y en sangre del cordón umbilical de sus recién nacidos.
2. Determinar si los anticuerpos presentes en la muestra del cordón umbilical de los recién nacidos resulta de la transferencia pasiva de la madre (IgG) o de una infección in-útero (IgM), a través de los resultados de anticuerpos presentes de la muestra verificada al cumplir éstos, 6 meses de edad.
3. Utilizar la técnica de Hemaglutinación Indirecta TOXO-IHA-TEST con tratamiento de 2-Mercaptoetanol en la detección y diferenciación de anticuerpos contra el Toxoplasma gondii; por ser altamente confiable.

MATERIALES Y METODOS

Se procesaron 200 muestras de suero: 100 muestras obtenidas de mujeres embarazadas y 100 muestras del cordón umbilical de sus recién nacidos. A los recién nacidos con resultados positivos se les tomó una segunda muestra al cumplir 6 meses de edad para determinar si los anticuerpos encontrados correspondían a una transferencia pasiva de la madre o a una infección in-útero.

Las mujeres sometidas a estudio se les pidió lo siguiente: que su parto y control post-natal fuera realizado en el Hospital 1° de Mayo del Instituto Salvadoreño del Seguro Social, procedentes del área Metropolitana, clasificadas como pacientes sanas con embarazo normal y que no les hubieran verificado anteriormente pruebas para la detección de la toxoplasmosis. Se entrevistaron mediante una Hoja de Recolección de Datos que contiene aspectos clínicos y aspectos generales como son: dirección familiar, contacto con animales domésticos en el lugar de trabajo o en el domicilio y ocupación (se adjunta modelo en pág. 20). Esta Hoja de Recolección de Datos nos sirvió para clasificar a las mujeres embarazadas que no adolecieran de ninguna enfermedad, ya que si tenían algún síntoma eran descartadas del estudio.

COLECCION DE LAS MUESTRAS

Se tomaron 2 muestras de sangre: una muestra de sangre venosa a la paciente antes del parto y otra del cordón umbilical del recién nacido, recolectándose de cada uno aproximadamente 5 ml de sangre en tubos al vacío sin anticoagulante, teniendo la precaución de hacer una buena asepsia en el sitio de venopunción. El suero a utilizarse fue separado lo más pronto posible de los elementos celulares guardándose en refrigeración para ser procesado siguiendo una calendarización especial. Al momento de ser utilizados, tanto el suero como los reactivos estaban a temperatura ambiente para poder desarrollar la prueba, según indicaciones de la técnica.

MATERIALES

- a) Suero de persona en estudio
- b) Material para extracción de sangre (agujas descartables para recolectar sangre al vacío 21 x 1 1/2, jeringas, tubos al vacío de 10 ml, algodón, alcohol)
- c) Centrífuga
- d) Gradilla metálica
- e) Tubos de ensayo 12 x 75 mm
- f) Lápiz graso
- g) Pipetas serológicas de 1 y de 5 ml
- h) Baño de María
- i) Mesas de lecturas

- j) Bandejas de ensayo para procesamiento de muestras
- k) Micropipetas de 25 microlitros
- l) Puntas descartables para micropipetas de 0 a 100 microlitros
- m) Papel parafilm
- n) Set completo de TOXO-IHA TEST
- o) Frasco de reactivo de 2-Mercaptoetanol

METODO:

Las muestras fueron procesadas por la técnica de Hemaglutinación Indirecta (TOXO-IHA TEST) con tratamiento de 2-Mercaptoetanol), que se basa en el método de Hemaglutinación Indirecta para detectar anticuerpos contra el Toxoplasma gondii, tratándose posteriormente el suero con 2-Mercaptoetanol para diferenciar el tipo de anticuerpo.

PRINCIPIO DEL METODO

El método TOXO-IHA TEST con tratamiento de 2-Mercaptoetanol se basa en una reacción de aglutinación entre el anticuerpo presente en el suero y el antígeno fijado en la superficie de hematíes de cordero; los hematíes no intervienen en la reacción y sirven únicamente para visualizarla. Al desarrollarse la reacción de aglutinación, el anticuerpo se adhiere a los hematíes y se forma un aglutinado bien visible que tapiza el fondo de la placa de microtitu-

lación. El antígeno que se utiliza para sensibilizar los glóbulos rojos es de tipo total mixto y está constituido por componentes citoplasmáticos solubles y por componentes insolubles de la membrana celular del toxoplasma, lo que hace posible detectar anticuerpos precoces relacionados directamente con la membrana celular del protozooario, que son del tipo IgM y que aparecen en la etapa aguda de la infección; así como también, anticuerpos tardíos relacionados directamente con los componentes citoplasmáticos del parásito, que son de tipo IgG y que aparecen en la etapa crónica de la infección (5,29,51,54).

REACTIVOS

Reactivo A = Células sensibilizadas: eritrocitos de ovejas estabilizados y sensibilizados con un extracto antigénico de Toxoplasma gondii.
Concentración celular 0.5%.

Reactivo B = Células no sensibilizadas: eritrocitos de oveja estabilizados, no sensibilizados. Concentración celular 0.5%.

Reactivo C = Diluyente: solución salina tamponada con preservativo y suero normal de conejo al 1%.

Reactivo D = Absorbente: eritrocitos estabilizados de ovejas, no sensibilizados. Concentración celular 10%.

Reactivo E = Suero control positivo humano: título normalizado de 1:512; contiene preservativo.

Reactivo F = Suero control negativo humano: contiene preservativo.

Reactivo = Frasco de 2-mercaptoetanol.

PROCEDIMIENTO

Las muestras a analizarse se dejaban coagular a temperatura ambiente durante 10 minutos, centrifugándose a continuación a 3,500 revoluciones por minuto durante 10 minutos. El suero era transferido por simple decantación a un tubo de ensayo limpio debidamente identificado. Las muestras eran procesadas el mismo día verificando las pruebas cualitativas, cuantitativas y el tratamiento con 2-mercaptoetanol.

PROCEDIMIENTO CUALITATIVO

Una vez identificada debidamente la bandeja de ensayo, las muestras y los controles (positivo y negativo), se pro

cede a efectuar una dilución 1:64 tanto de las muestras como de los controles de la siguiente manera:

- A) En tubos de ensayo debidamente identificados se deposita 1.575 ml del diluyente (Reactivo C).
- B) Se agrega 0.025 ml de la muestra y de los controles a cada uno de los tubos respectivos.
- C) Transferir 0.025 ml de la dilución 1:64 de la muestra y de los controles a cada uno de los pozos identificados 1 y 2 de la bandeja de ensayos.

Luego se agitan suavemente los reactivos A y B de la prueba TOXO-IHA TEST hasta restablecer completamente la suspensión celular. Se toma cuidadosamente el frasco gotero calibrado y se transfiere una gota (0.05 ml) de Reactivo A de la prueba TOXO-IHA TEST al pozo 2 y una gota (0.05 ml) de Reactivo B al pozo 1. A continuación se mezcla el contenido de los pozos de las muestras y de los controles golpeando ligeramente con la palma de la mano uno de los lados de la bandeja, cubriéndola posteriormente con papel parafilm y dejándola reposar a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) de 2 a 3 horas hasta que las células se sedimenten, teniendo sumo cuidado de no mover la bandeja durante el período de incubación. Al final de este período los resultados son leídos por aglutinación.

PROCEDIMIENTO CUANTITATIVO

Se identifican debidamente las bandejas de ensayo con los tubos (12 x 75 mm) que contienen las diluciones 1:64 de las muestras y de los controles. La dilución 1:64 se verificará de la misma manera que para el método de la prueba cualitativa.

Se destinan 6 pozos de la bandeja para cada muestra y control positivo que serán titulados preparando diluciones seriados al doble, de la siguiente manera:

- A) Agregar 0.025 ml del diluyente (Reactivo C) a cada uno de los pozos, del 2 al 6;
- B) Añadir 0.025 ml de la dilución de 1:64 del control positivo y de las muestras, respectivamente, al pozo 1 y al 2;
- C) Se continuará transfiriendo sucesivamente 0.025 ml de cada pozo; del pozo 2 al 6, descartándose 0.025 ml de este último de manera que al final se obtendrán las siguientes diluciones:

Pozo 1-1:64 (para control de células)

Pozo 2-1:128

Pozo 3-1:256

Pozo 4-1:512

Pozo 5-1:1024

Pozo 6-1:2048

Luego se agitan suavemente los reactivos A y B de la prueba TOXO-IHA TEST, hasta que las células se encuentran completamente suspendidas y no se observa sedimento en el fondo de los frascos. Transferir apretando cuidadosamente el frasco gotero calibrado, una gota (0.05 ml) del reactivo A, comenzando con el pozo 2 hasta el pozo 6 y luego una gota (0.05 ml) del reactivo B al pozo 1. El control negativo será procesado de la misma manera que el método cualitativo.

El contenido de los pozos de la muestra y de los controles se mezclan bien golpeando ligeramente con la palma de la mano uno de los lados de la bandeja luego se cubre ésta con papel parafilm y se incuba a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) de 2 a 3 horas hasta que las células se sedimenten, procurando no mover la bandeja durante el período de incubación, al final del cual los resultados son leídos.

LECTURA DE LA REACCION

Como ejemplo tenemos:

Si en el pozo con la dilución 1:2048 se obtiene un resultado positivo, se continúa haciendo diluciones hasta obtener un resultado negativo, tomándose como título final la última dilución que presente una reacción positiva (29, 54).

CONTROLES

El TOXO-IHA TEST incluye entre sus reactivos, sueros de control positivo y negativos para comprobar la sensibilidad y reproducibilidad del método. Estos sueros controles se preparan diluyéndolos y procesándolos de la misma manera que el suero de los pacientes.

El suero control negativo (Reactivo F) solamente se procesa en la dilución 1:64. Esta dilución se prepara siguiendo los pasos descritos en la prueba cualitativa.

El suero control positivo (Reactivo E) es titulado comenzando por los pasos de la reacción descritos en la prueba cualitativa y continuando con el procedimiento habitual de la titulación. Este control sirve para verificar la estabilidad de los reactivos, llamar la atención sobre los posibles errores de técnica y también para normalizar los resultados obtenidos con un determinado set de TOXO-IHA-TEST.

Los controles positivos y negativos fueron verificados cada vez que se verificaba la prueba, puesto que estos controles nos servían para identificar falsos-positivos y falsos negativos.

TRATAMIENTO CON 2-MERCAPTOETANOL

A los sueros con resultados positivos se les practicó una serie de reacciones de aglutinación para determinar el título definitivo (prueba cuantitativa), verificándose al

mismo tiempo otra serie de reacciones de aglutinación, tratando el suero con 2-Mercaptoetanol para diferenciar el tipo de Anticuerpo presente en la muestra. El 2-Mercaptoetanol es un alcohol con un grupo sulfidrílico ($\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$) que tiene la propiedad de inhibir el poder aglutinante de la IgM, las cuales son indicadoras de infección aguda; mientras que los anticuerpos IgG resisten al tratamiento con este tipo de compuestos, permitiendo de esta manera determinar únicamente el título de anticuerpo de tipo IgG. Es decir que la disminución del título en dos o más diluciones después del tratamiento con 2-Mercaptoetanol indica la presencia de IgM específica y constituye un argumento importante en favor de la presencia de Toxoplasmosis aguda.

PREPARACION DE LA SOLUCION DEL 2 MERCAPTOETANOL AL 0.2 M

Trasladar con una pipeta 1.4 ml de 2-Mercaptoetanol a un frasco volumétrico de 100 ml y aforar a la marca con el diluyente reactivo "C" del TOXO-IHA TEST (Buffer a un pH = 7.2). Esta dilución es estable por un mes si se conserva de 2° a 8°C en un frasco ámbar.

TRATAMIENTO DEL SUERO

- A) Con pipeta, colocar en un tubo 0.2 ml del suero problema y agregar 0.2 ml de solución de 2-Mercaptoetanol al 0.2 M, obteniéndose al final una dilución del suero de 1:2.

- B) Mezclar e incubar a 37°C por una hora.
- C) En un tubo de ensayo debidamente identificado depositar 1.550 ml de diluyente (Reactivo C).
- D) Agregar 0.050 ml de la solución 1:2 y mezclar. Al final se obtiene una dilución de 1:64.
- E) A partir de esta dilución se continuará normalmente con el procedimiento descrito para la prueba cuantitativa.

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

NUMERO DE EXPEDIENTE: _____
 NOMBRE DEL PACIENTE: _____
 EDAD: _____ ASEGURADA: _____ BENEFICIARIA: _____
 DIRECCION FAMILIAR: _____
 DIRECCION DE LUGAR DE TRABAJO: _____
 OCUPACION: _____
 CONTACTO CON ANIMALES DOMESTICOS: SI _____ NO _____
 EN EL TRABAJO: _____ EN EL DOMICILIO: _____
 QUE CLASE DE ANIMAL: _____

DATOS CLINICOS

NUMERO DE EMBARAZOS: _____
 A TERMINO: _____ VIVOS: _____
 OBITOS: _____ ABORTOS: _____
 PRODUCTOS NORMALES AL MOMENTO: _____
 INCIDENCIA FAMILIAR DE ANOMALIAS CONGENITAS _____
 HA SIDO TRANSFUNDIDA SI _____ NO _____
 HA PRESENTADO LOS SIGUIENTES SINTOMAS:
 GANGLIOS INFLAMADOS SI _____ NO _____
 RASH EN LA PIEL SI _____ NO _____
 DOLORES ARTICULARES SI _____ NO _____
 CEFALEAS SI _____ NO _____
 DEFECTOS VISUALES SI _____ NO _____
 HA ADOLECIDO DE ALGUNA ENFERMEDAD SI _____ NO _____ CUAL? _____

TRATAMIENTO _____

¿LE HAN VERIFICADO EL EXAMEN PARA LA DETECCION DEL TOXOPLASMA?

RESULTADOS

El estudio de anticuerpos a *Toxoplasma* en embarazadas y sus neonatos atendidos en el Hospital 1° de Mayo del ISSS, se hizo en base a muestras tomadas a pacientes gestantes previamente seleccionadas y muestras pareadas de los hijos de aquellas, tomadas al nacimiento y al cumplir los 6 meses de edad.

En total sumaron 252 muestras distribuidas así: 100 muestras tomadas al momento de ingresar las pacientes a la Sala de Labor de Parto, 100 muestras tomadas del cordón umbilical de los niños al nacimiento y 52 muestras tomadas a los 6 meses de edad en aquellos lactantes que hubieran presentado títulos positivo a toxoplasma al nacer.

La respuesta serológica se midió en forma cuali-cuantitativa y la técnica utilizada fue la de Hemaglutinación Indirecta con tratamiento del suero con 2-Mercaptoetanol (TOXO IHA TEST).

Para determinar la frecuencia de personas rectoras, se calcularon primeramente los porcentajes de casos positivos y negativos en madres y neonatos, con respecto a la muestra total.

CUADRO N° 1

En este cuadro se observa el total de casos analizados: 100 embarazadas de las cuales 52 fueron rectoras a Toxoplasma gondii (52%); y 100 neonatos de los cuales, 52 presentaban

anticuerpos a Toxoplasma gondii (52%). El 48% de casos en ambos grupos fueron negativos.

CUADRO N° 2

Se presentan los resultados globales de la prueba cuantitativa de Hemaglutinación Indirecta Toxo-IHA-test en el suero de madres y sus neonatos. Los títulos observados son 1:64 a 1:4096, siendo el título 1:128 en el que se encontró el mayor número de casos en el suero materno y 1:256 para los casos de neonato.

CUADRO N° 3

Se puede observar 52 casos positivos obtenidos en el grupo de las embarazadas y los títulos que se obtuvieron antes y después de tratar el suero con 2-Mercaptoetanol, incluyendo en este último caso tanto el título de inmunoglobulina detectada como su diferenciación de anticuerpos.

Puede observarse que 42 pacientes presentaron IgG neutralizante que son los que predominan cuando un proceso patológico está en vías de curación o ha pasado a la fase inicial de cronicidad (5). Siete pacientes tenían IgG Residual que son los que persisten circulantes mucho tiempo después de haberse logrado la curación del proceso infeccioso (5). Sólo 3 pacientes tenían IgM, que es significativo de

enfermedad activa; todos ellos presentaban en títulos altos. Después de tratar el suero con 2-Mercaptoetanol se observó disminución del título en dos diluciones.

CUADRO N° 4

En este cuadro se presentan los 52 casos positivos obtenidos en el grupo de los neonatos y los títulos que se presentaban antes y después de tratar el suero con 2-Mercaptoetanol, incluyéndose en este último caso el título de inmunoglobulina presente y su diferenciación de anticuerpos.

De los 52 casos positivos, 6 corresponden a inmunoglobulina G Residual, 42 casos a inmunoglobulina G neutralizante, y 4 casos a inmunoglobulina M, estos últimos estaban comprendidos entre los títulos más elevados, al igual que en el caso de las madres; y después de tratar el suero con 2-Mercaptoetanol se observó disminución del título en 2 diluciones para todos los casos.

CUADRO N° 5

En este cuadro se presentan los resultados de la correlación hecha entre los títulos de anticuerpos a Toxoplasma gondii en madres y sus neonatos después de haber tratado los sueros con 2-Mercaptoetanol. Como resultado del grado de reactividad resalta el hecho de que el mayor porcentaje

de casos correspondió a la igualdad del binomio, lo que podría interpretarse como manifestación de la transmisión de anticuerpos de madre a hijo.

CUADRO N° 6A

Al comparar los resultados obtenidos en los niños al nacimiento y seis meses después, se observa que de los 44 niños que resultaron negativos a los 6 meses, al nacimiento habían presentado títulos entre 1:64 hasta 1:2048. Siendo el título 1:256 en el que se encontró el mayor número de casos observándose en este cuadro predominio de inmunoglobulina G neutralizante.

CUADRO N° 6B

Los 8 casos restantes volvieron a presentar positiva la prueba, pero todos ellos con la dilución 1:64 y el mismo tipo de anticuerpo (IgG Residual), incluso en los cuatro casos que al nacer tenían IgM presentes. Estos 8 casos estaban comprendidos entre 1:1024 y 1:4096. Encontrándose el mayor número de casos con títulos de 1:4096.

CUADRO N° 7

De las 52 personas que fueron reactivos para la prue-

ba de detección de anticuerpos a Toxoplasma gondii maternos con la técnica de Hemaglutinación Indirecta Toxo-IHA Test con tratamiento de 2-Mercaptoetanol sólo 8 casos aún tenían anticuerpos presentes a los 6 meses de edad (15.38%) y 44 casos fueron negativos (84.62%), lo que determina que los casos negativos fueron aquellos que habían adquirido pasivamente de la madre los anticuerpos, es decir, por vía transplacentaria.

CUADRO 1

RESULTADOS GLOBALES DE LA TECNICA CUALITATIVA PARA TOXOPLASMA
 GONDII, HEMAGLUTINACION INDIRECTA TOXO-IHA TEST EN SUERO DE
 MADRES Y SUS NEONATOS

TOTAL DE CASOS ESTUDIADOS	N° DE CASOS POSITIVOS	% DE CASOS POSITIVOS	N° DE CASOS NEGATIVOS	% DE CASOS NEGATIVOS
100 neonatos	52	52%	48	48%
100 madres	52	52%	48	48%

CUADRO 2

RESULTADOS GLOBALES DE LA TECNICA CUANTITATIVA DE HEMAGLUTINACION
INDIRECTA TOXO-IHA-TEST EN SUERO DE MADRES Y SUS NEONATOS

M A D R E S		N E O N A T O S	
N° CASOS	TITULO	N° CASOS	TITULO
	§		§
7	1:64	6	1:64
14	1:128	10	1:128
11	1:256	17	1:256
10	1:512	9	1:512
3	1:1024	2	1:1024
3	1:2048	3	1:2048
4	1:4096	5	1:4096
TOTAL 52	100.00	52	100.00
			11.54
			19.23
			32.69
			17.31
			3.85
			5.77
			9.61

CUADRO 3

RESULTADOS DE ANTICUERPOS A TOXOPLASMA GONDII, OBTENIDOS EN SUEROS DE MADRES UTILIZANDO LA TECNICA DE HEMAGLUTINACION INDIRECTA TOXO-IHA-TEST CON TRATAMIENTO DE 2-ME, INCLUYENDO EL TIPO DE INMUNOGLOBULINA

S N T		ST CON 2-ME	TIPO DE INMUNOGLOBULINA		
N° CASOS	TITULO	TITULO	IgG RESIDUAL	IgG NEUTRALIZANTE	IgM
7	1:64	1:64	7		
14	1:128	1:128		14	
11	1:256	1:256		11	
10	1:512	1:512		10	
3	1:1024	1:1024		3	
3	1:2048	1:512		-	3
4	1:4096	1:4096		4	
52			7	42	3

SNT : Suero no tratado.

ST con 2-ME: Suero tratado con 2-Mercaptoetanol.

CUADRO 4

RESULTADOS DE ANTICUERPOS A TOXOPLASMA GONDII OBTENIDOS EN SUEROS DE NEONATOS UTILIZANDO LA TECNICA DE HEMAGLUTINACION INDIRECTA TOXO-IHA-TEST CON TRATAMIENTO DE 2-ME - TIPO DE INMUNOGLOBULINA

N° CASOS	S N T		ST CON 2-ME	TIPO DE INMUNOGLOBULINA		
	TITULO			IgG RESIDUAL	IgG NEUTRALIZANTE	IgM
6	1:64		1:64	6		
10	1:128		1:128		10	
17	1:256		1:256		17	
9	1:512		1:512		9	
2	1:1024		1:1024 1:256		1	1
3	1:2048		1:2048 1:512		1	2
5	1:4096		1:4096 1:1024		4	1
52				6	42	4

SNT : Suero no tratado.
ST con 2 ME: Suero tratado con 2-Mercaptoetanol.

CUADRO 5

CORRELACION DE TITULOS PARA TOXOPLASMA GONDII MADRE NEONATO, OBTENIDOS USANDO LA TECNICA DE HEMAGLUTINACION INDIRECTA TOXO-IHA TEST CON TRATAMIENTO DE 2 ME

T I T U L O S	N° DE CASOS	%
Títulos iguales Madre - Neonato	38	73.07
Títulos mayores Madre - Neonato menores	4	7.69
Títulos menores Madre - Neonato mayores	10	19.23
T O T A L	52	100.00

CUADRO 6-A

COMPARACION DE RESULTADOS OBTENIDOS CON LA PRUEBA TOXO-IHA-TEST CON TRATAMIENTO DE 2-ME, INCLUYENDO EL TIPO DE INMUNOGLOBULINA EN NEONATOS Y AL CUMPLIR ESTOS 6 MESES DE EDAD (ANALISIS DE CASOS NEGATIVOS)

N° DE CASOS	N E O N A T O S			A L O S 6 M E S E S		
	TITULO SNT	TITULO ST CON 2-ME	TIPO DE INMUNOGLOBULINA	TITULO SNT	TITULO ST CON 2-ME	TIPO DE INMUNOGLOBULINA
6	1:64	1:64	IgG R	-	-	-
10	1:128	1:128	IgG N	-	-	-
17	1:256	1:256	IgG N	-	-	-
9	1:512	1:512	IgG N	-	-	-
1	1:1024	1:1024	IgG N	-	-	-
1	1:2048	1:2048	IgG N	-	-	-

SNT : Suero no tratado
 ST con 2-ME: Suero tratado con 2 Mercaptoetanol
 (-) : Negativo
 R : Residual
 N : Neutralizante

CUADRO 6-B

COMPARACION DE RESULTADOS OBTENIDOS CON LA PRUEBA TOXO-IHA-TEST
 CON TRATAMIENTO DE 2-ME INCLUYENDO EL TIPO DE INMUNOGLOBULINA
 EN NEONATOS Y AL CUMPLIR ESTOS 6 MESES DE EDAD
 (ANALISIS DE CASOS POSITIVOS)

N° DE CASOS	N E O N A T O S				A L O S 6		M E S E S
	TITULO SNT	TITULO ST CON 2-ME	TIPO DE INMUNOGLOBULINA	TITULO SNT	TITULO ST CON 2-ME	TIPO DE INMUNOGLOBULINA	
1	1:1024	1:256	Ig M	1:64	1:64	IgG R	
2	1:2048 1:2048	1:512 1:512	Ig M Ig M	1:64 1:64	1:64 1:64	IgG R IgG R	
5	1:4096 1:4096 1:4096 1:4096 1:4096	1:4096 1:4096 1:4096 1:4096 1:1024	IgG N IgG N IgG N IgG N Ig M	1:64 1:64 1:64 1:64 1:64	1:64 1:64 1:64 1:64 1:64	IgG R IgG R IgG R IgG R IgG R	

SNT : Suero no tratado
 ST con 2-ME: Suero tratado con 2 Mercaptoetanol
 R : Residual
 N : Neutralizante

CUADRO 7

COMPARACION GLOBAL ENTRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LOS NEONATOS Y AL CUMPLIR 6 MESES DE EDAD, UTILIZANDO LA TECNICA DE HEMOGLUTINACION INDIRECTA TOXO IHA-TEST CON TRATAMIENTO DE 2-ME

N E O N A T O S				6 M E S E S D E E D A D			
N° DE CA SOS NEGA TIVOS	%	N° DE CA SOS POSI TIVOS	%	N° DE CA SOS NEGA TIVOS	%	N° DE CA SOS POSI TIVOS	%
48	48	52	52	44	84.62	8	15.38

DISCUSION

En el presente estudio se observó que de los 52 neonatos que reaccionaron positivamente a la prueba, 6 de ellos presentaron títulos de 1:64 al nacer, y a los seis meses la prueba se negativizó. Mediante el tratamiento del suero con 2-Mercaptoetanol se comprobó que las inmunoglobulinas presentes eran IgG residuales o anticuerpos de memoria. Las madres de estos niños habían presentado iguales títulos y el mismo tipo de inmunoglobulinas.

Según las normas del Center for Disease Control (CDC), el umbral de especificidad (por debajo del cual la reacción no es específica) se sitúa en la dilución 1:64 para la prueba de Hemaglutinación Indirecta Toxo-IHA-Test (5).

En estos casos, los títulos y la presencia de anticuerpos IgG en los neonatos no sólo reflejan la transferencia pasiva de anticuerpos maternos al producto, sino también la existencia de células de memoria. Como se sabe, el paso de anticuerpos maternos al feto se produce después del primer trimestre de la gestación mediante el transporte pasivo; de esta manera, el feto recibe una amplia gama de anticuerpos previamente sintetizados por la madre, que se consideran parte de la respuesta inmune específica desarrollada por ella contra agentes infecciosos con los cuales ha tenido contacto en el pasado o durante el embarazo (5).

Desde el punto de vista fisiopatológico, las madres de

estos niños probablemente se encontraban en la fase crónica de la enfermedad (o de quiescencia inmunitaria) la cual puede durar varios años o toda la vida es decir, que la infección posiblemente la adquirieron antes de ese embarazo particular; y de acuerdo a los títulos y tipo de anticuerpos maternos, se considera que la respuesta serológica de la madre corresponde a un estado de inmunidad.

Los anticuerpos al primer contacto con un antígeno desarrollan la respuesta inmune primaria, en la que las células se diferencian en células formadoras de anticuerpos que producen I_{gM} , I_{gG} , así como también células de memoria en menor cantidad. La memoria inmunológica puede persistir muchos años, lo que significa una inmunidad de larga duración contra las infecciones. Se supone que esta inmunidad guarda relación con la estimulación continua de células de memoria de vida larga, ya sea a consecuencia de la persistencia del antígeno o por antígenos de introducción repetida (5). La primera posibilidad es la que se ajusta a la respuesta inmunológica presentada por estas pacientes.

Diez neonatos presentaron títulos de 1:128 al nacer; los anticuerpos eran del tipo I_{gG} neutralizantes y a los seis meses la prueba fue negativa. Los títulos de las madres eran menores, iguales o ligeramente mayores que los de sus hijos.

De 17 neonatos con título de 1:256, todos presentaron I_{gG} neutralizantes y a los seis meses la prueba también fue

negativa. Las madres de éstos habían presentado títulos iguales o mayores.

En ambos grupos de recién nacidos queda evidenciada la transferencia pasiva de anticuerpos maternos al producto, sin que su presencia en el segundo denote necesariamente enfermedad. Esto fue demostrado al encontrarse negativa la prueba a los seis meses de edad.

Debido a que la transferencia de I_gG es pasiva, las IgG que recibe el niño de la madre tienen una vida media bien determinada, de 20 a 30 días, por lo que la concentración sérica declina rápidamente en los primeros dos meses de vida y llega al mínimo entre el segundo y cuarto mes.

Estos anticuerpos tienen la característica de que, tanto fuera como dentro de los vasos sanguíneos, su concentración es alta (5). A diferencia de la IgM que se encuentra sólo dentro de los vasos sanguíneos.

En base a los resultados de la prueba materna se asume que estas mujeres podían haber sufrido la infección antes - de ese embarazo y que el niño nunca tuvo contacto con el parásito, ya que si la madre había tenido contacto antes con el parásito, no transmite la infección a su hijo (51).

Se supone que la inmunidad estéril (con supresión total del antígeno) no ocurre en ninguna enfermedad parasitaria. En general se ha visto que la respuesta inmune a parásitos no es lo suficientemente eficaz para lograr la eliminación del parásito (4).

Nueve neonatos presentaron títulos de 1:512 al nacimiento, los cuales se negativizaron a los seis meses. Los títulos de ocho de las madres fueron similares; y tanto en las madres como en sus hijos, los anticuerpos detectados fueron I_gG neutralizantes.

En un solo caso el título de la madre se encontró elevado (1:2048) y mediante el tratamiento del suero con 2-ME se demostró la presencia de I_gM .

En base al título y al tipo de anticuerpos detectados en la madre, en este último caso se podría asumir que ésta adquirió la infección al final del embarazo; sin embargo, la presencia de I_gG neutralizante en su hijo, así como la negatividad de la prueba a los 6 meses de edad, demuestran que no ocurrió transmisión transplacentaria de los trofozoítos; lo cual es sustentado por algunos autores quienes observan que cuando la infección ocurre durante el embarazo ésta es transmitida al feto en menos del 50% de casos (26). Otros señalan que aproximadamente un 10% de los casos (9, 35).

Dos niños presentaron títulos de 1:1024 al nacer. En uno de ellos se demostró la presencia de anticuerpos de tipo I_gM ; a los 6 meses el título había descendido hasta 1:64 y los anticuerpos eran I_gG residuales. Por su parte, la madre poseía un título similar, pero los anticuerpos eran I_gG neutralizantes.

En este caso lo más probable es que el niño tuvo con-

tacto intrauterino con el parásito y al nacer ya se había desarrollado la respuesta inmunitaria, que correspondería a la segunda fase de la infección. La demostración de anticuerpos I_gM en un recién nacido parece ser diagnóstico de una infección congénita por Toxoplasma gondii (35).

Es importante señalar que cuando un antígeno penetra al huésped por primera vez y pasa el período de latencia, se inicia casi simultáneamente la síntesis de I_gM e I_gG , pero las primeras alcanzan su máximo en pocos días para luego disminuir rápidamente; mientras que las I_gG permanecen, ya que tienen una vida media relativamente larga (5).

En el otro neonato se demostró que el elevado título obedecía a la presencia de I_gG neutralizantes; a los seis meses de edad se encontró seronegativo. La madre de este neonato tenía un título bajo (1:128) e I_gG neutralizante. De esta diferencia de títulos madre-hijo se deduce que hubo una transferencia masiva de I_gG de la madre al feto en los meses anteriores al parto, pero que al momento de éste, los anticuerpos habían disminuído en la madre. Todo ésto queda corroborado por la seronegatividad que mostró el niño a los 6 meses de edad.

De tres recién nacidos con títulos de 1:2048, en dos de ellos se determinaron anticuerpos I_gM ; y sus madres tenían un título semejante al de sus hijos y el mismo tipo de inmunoglobulinas.

Al igual que en el caso anterior, la madre adquirió la

enfermedad en el último trimestre del embarazo y la infección fue capaz de atravesar la barrera placentaria; y se demostró por la presencia de títulos positivos (1:64) y de anticuerpos de tipo I_gG residuales o de memoria, a los 6 meses de edad de los niños.

En el otro neonato, a pesar de tener un título elevado, sus anticuerpos eran I_gG neutralizantes y la prueba fue negativa a los 6 meses. La madre también presentó títulos elevados e I_gG neutralizantes. De todo esto se deduce una transferencia pasiva de anticuerpos.

De 5 niños con un título 1:4096, sólo en uno se demostraron anticuerpos tipo I_gM ; mientras que la madre tenía un título de 1:1024 e I_gG neutralizante.

En el resto, a pesar de lo elevado de sus títulos, estos obedecían al aumento de I_gG neutralizante pero a los 6 meses de edad aún persistían títulos bajos e I_gG residuales.

En dicha época de la vida se espera que los anticuerpos adquiridos por transferencia pasiva de la madre hayan desaparecido. Es conveniente mencionar que, si bien el tratamiento del suero con 2-Mercaptoetanol permite distinguir los I_gG de los I_gM , ello sólo es posible en una fase inicial del proceso. La respuesta inmune inicial en la cual predominan los anticuerpos I_gM , en poco tiempo es igualado y superado por la producción de anticuerpos I_gG , a tal grado que la prueba técnica ya no es capaz de detectar las pequeñas cantidades de I_gM pues quedan enmascaradas por la

abundancia de los I_gG (35) (Ver gráfica en página 50).

Consideramos que los títulos encontrados al nacimiento así como la presencia de I_gG neutralizante obedecían al estado de la respuesta inmune en la que se encontraban los pacientes en el momento de tomarles la muestra. Ello explica por qué a los 6 meses de edad aún era positiva la prueba y los anticuerpos demostrados eran I_gG residuales (55).

En resumen podemos asumir que de los 52 recién nacidos que presentaron positiva la prueba de Hemaglutinación Indirecta Toxo-IHA-Test con tratamiento de 2-Mercaptoetanol, sólo en 15.4% (8 casos) se determinó que los niños estaban infectados con Toxoplasma gondii tanto por la demostración de anticuerpos I_gM específico para Toxoplasma en el suero del recién nacido, como por la seropositividad persistente a los 6 meses de edad.

En el resto (84.6%), la disminución de los títulos en forma rápida (con seronegatividad a los 6 meses de edad) confirmó el fenómeno de inmunidad pasiva natural del feto gracias al paso de anticuerpos I_gG de la madre a través de la barrera placentaria y descartó la presencia de infección (por infección se entiende la invasión al feto por el parásito).

Durante mucho tiempo el establecer un diagnóstico de toxoplasmosis congénita ha sido difícil porque los anticuerpos presentes en el suero del niño al nacimiento y en los primeros meses de vida pueden obedecer al fenómeno de trans

ferencia pasiva de los anticuerpos maternos. En décadas pasadas, cuando había sospecha de Toxoplasmosis congénita se hacía necesario investigar si los títulos declinaban o no con el tiempo; ésto era válido para pruebas como IFA e IHA. Para evitar el retraso en el diagnóstico porque se necesitaba tomar muestras seriadas, Remington introdujo el estudio de la detección de anticuerpos de tipo I_gM (44).

Para diferenciar las I_gG de las I_gM , se practica simultáneamente en una misma placa, dos series de reacción de aglutinación, una con suero no tratado y otra con suero tratado con 2-Mercaptoetanol (2-M.E.), 0.2 M un tampón P.B.S. pH 7.2: con el suero no tratado se revelan todos los anticuerpos aglutinantes de tipo I_gG e I_gM ; y con el suero tratado, se determina únicamente el título de anticuerpos de tipo I_gG (35).

El 2-Mercaptoetanol es un alcohol incoloro, volátil, higroscópico, neutro, soluble en agua, cuyo punto de ebullición es + 58°C y se prepara por la reacción directa del ácido sulfídrico con el óxido de etileno.

Este alcohol posee un grupo sulfídrico que tiene la propiedad de romper las cadenas de aminoácidos de las I_gM . Es decir, rompe las uniones de los pentámeros a nivel de los puentes disulfuro, dejando intactas únicamente las cadenas de las I_gG , por lo que al final de la determinación se observa que si el título de anticuerpos baja 2 ó más diluciones, denota la existencia de I_gM específicas a Toxoplas

ma. Por otro lado, recordemos que la reacción de Hemaglutinación Indirecta se efectúa en un medio iónico (buffer salino) y ello disminuye el Potencial $Z, \frac{1}{2}$ produciéndose entonces un acercamiento entre las células sensibilizadas y estabilizadas con antígeno Mixto y los anticuerpos. Algunos autores han señalado que el Potencial Z es el más importante de los factores que afectan la capacidad de los anticuerpos $I_g G$ para aglutinar los glóbulos rojos. El potencial Z para la aglutinación de anticuerpos $I_g M$ es de 18 mV y para anticuerpos $I_g G$, 6.5 mV (33,36).

Se sabe que las $I_g M$ reaccionan óptimamente en un medio salino, aglutinando bien los glóbulos rojos; mientras que la interacción de anticuerpos tipo $I_g G$ se facilita si la fuerza iónica del medio se reduce. Esto se logra al adicionar ciertas sustancias como el 2-Mercaptoetanol, que tiene un efecto potenciador; al reducir el potencial Z pudiendo así la molécula de $I_g G$ establecer un puente de unión entre los I_g de dos células para formar aglutinados. De aquí la importancia de usar este alcohol para la diferenciación de dichos anticuerpos y determinar si se trata de un estado agudo o crónico de la infección (35).

1/ El Potencial Z es la carga eléctrica (negativa) sobre la superficie del eritrocito que se origina en la presencia del ácido siálico y es responsable de la repulsión electrostática entre una célula y otra (33).

A pesar de que no es frecuente la toxoplasmosis clínica sintomática, hay suficientes casos de la enfermedad clínica que la ha convertido en un importante problema médico y de diagnóstico.

El hecho de que en 52% de las madres se demostró el contacto (antes o durante ese embarazo) con el parásito, con los diferentes trabajos realizados a nivel mundial en los cuales se ha observado gran frecuencia de la infección, siendo una parasitosis mundialmente extendida. Según los diferentes trabajos epidemiológicos publicados se ha podido observar que Costa Rica posee un 75% de reactores a Toxoplasma gondii y París, un 87% (46). Como se ve, es una infección de alta prevalencia tanto para países desarrollados como sub-desarrollados y de hecho se constituye un problema de salud importante entre las mujeres embarazadas.

En nuestro país, desde 1970 se han venido efectuando estudios para determinar la frecuencia de la toxoplasmosis entre la población adulta (1,16,24,37), así como también entre el grupo de embarazadas específicamente (1). Dichos estudios señalan que la infección por Toxoplasma gondii tiene carácter endémico en nuestro medio (1,16,24,37).

Aun cuando escasas veces se hace el diagnóstico en el momento de la infección, por la escasez y poca manifestación de los síntomas, los estudios serológicos han demostrado que grandes segmentos de la población han sufrido la enfermedad en un momento u otro. En el caso específico de la

toxoplasmosis congénita es probable que el porcentaje de recién nacidos en los que se demostrara la infección por Toxoplasma gondii en el presente estudio, parezca despreciable, pero conociendo la gama de lesiones a las que se ve expuesto el producto in útero y que pueden concluir en un aborto o en óbito fetal, debería revalorarse la importancia que amerita la vigilancia del grupo sujeto a riesgo. Sin dejar de mencionar que un porcentaje de lactantes infectados pero aparentemente normales desde el punto de vista clínico pueden desarrollar manifestaciones -en especial retinocoroiditis- en la primera, segunda o tercera década de la vida.

Vale decir que ninguna institución del país dispone al momento de un programa integral de medicina preventiva al respecto; aún cuando en nuestro medio es muy importante ya que los estudios hechos en Costa Rica, Guatemala y México han demostrado una alta prevalencia de anticuerpos en poblaciones de tierras bajas -como la nuestra- en comparación con las poblaciones de tierras altas (1,46).

Debido a la prevalencia demostrada entre la población y a la gravedad o riesgo para la vida del producto que adquiere la infección in útero, sería oportuno establecer la detección sistemática de la mujer en edad reproductiva; específicamente desde antes de su primer embarazo, pues el hallazgo de inmunidad específica adquirida contra Toxoplasma gondii descarta todo problema futuro.

Por el contrario, la paciente seronegativa requiere un

seguimiento regular durante su gestación.

Así también, como parte del esquema de vigilancia de la embarazada, toda mujer debe conocer desde el principio de su embarazo su título de anticuerpo anti-Toxoplasma y sería conveniente que fuera anotado en una tarjeta, lo cual servirá como un valor de referencia en cualquier momento.

CONCLUSIONES

1. Epidemiológicamente, queda demostrada la frecuencia de reactivos a Toxoplasma gondii entre la población de mujeres gestantes en estudio, ya fuera por infección adquirida antes o durante ese embarazo particular.
2. Se demostró en la mayoría de casos el paso de anticuerpos anti-toxoplasma por el fenómeno de inmunidad pasiva natural (anticuerpo tipo I_gG); y en menor proporción, una seropositividad que sugiere la existencia de una parasitemia sufrida por el feto (anticuerpo I_gM) a través de la placenta.
3. La diferenciación del tipo de anticuerpos es determinante para establecer el diagnóstico de toxoplasmosis congénita.
4. La Técnica de Hemaglutinación Indirecta Toxo-IHA-test con tratamiento del suero con 2-Mercaptoetanol en la detección y diferenciación de anticuerpos contra Toxoplasma gondii, sigue siendo la más indicada para este tipo de investigación por ser una prueba diagnóstica rápida y sencilla.

5. La interpretación a nivel clínico de los resultados obtenidos con la técnica mencionada, requiere de un conocimiento apropiado de la respuesta inmunológica, tanto en el adulto como en el recién nacido.

RECOMENDACIONES

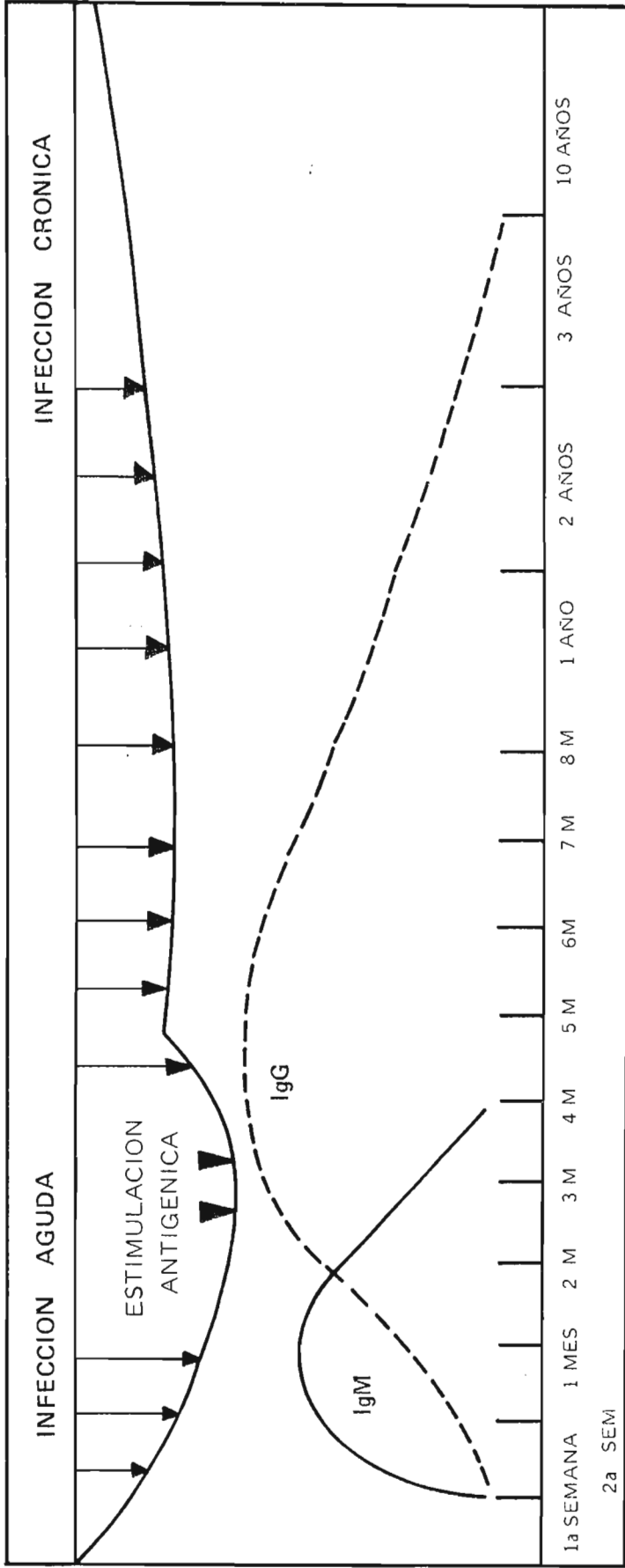
1. Establecer un programa de detección de la toxoplasmosis a nivel nacional, que involucre a la población de mujeres en edad reproductiva.
2. Que se introduzcan pruebas serológicas de detección de toxoplasmosis como parte del control regular que se hace a toda embarazada, en busca de anticuerpos a toxoplasma. Si la prueba de anticuerpos fuera positiva antes del embarazo, la paciente deberá evitar el riesgo de embarazarse antes del tratamiento; y a aquellas pacientes seronegativas, deberá hacerseles un seguimiento regular durante su embarazo.
3. Debido a la gran frecuencia de niños reactivos a Toxoplasma gondii y asintomáticos al nacimiento, todo recién nacido al que se le compruebe que ha sufrido in útero contacto con el parásito, amerita un seguimiento clínico y serológico debido al apareamiento tardío de lesiones, especialmente a nivel ocular.
4. Que se realicen estudios epidemiológicos para demostrar la reactividad a Toxoplasma gondii a gran escala o en sectores de población con mayor riesgo de contraer la enfermedad.

5. Desde el punto de vista técnico, recomendamos introducir a nivel nacional e institucional la prueba de Hemaglutinación Indirecta con tratamiento de 2-Mercaptoetanol, por su simplicidad y su costo; no obstante requiere de personal entrenado para su ejecución.

6. A nivel educacional debe hacerse mayor énfasis en el conocimiento de este parásito a la comunidad, dada su endemicidad y las consecuencias irreversibles de la enfermedad. Esto es válido tanto para los futuros Licenciados en Laboratorio Clínico, como para Médicos y Enfermeras.

7. Que se establezca un programa integral de medicina preventiva de la toxoplasmosis, que involucre a todo el personal relacionado con Salud.

PRODUCCION DE ANTICUERPOS EN UNA TOXOPLASMOSIS



AMBROISE—THOMAS P. La detection des anticorps IgG et IgM dans le diagnostic de la Toxoplasmose acquise et. la prevention de la Toxoplasmose Congenitale. Bull. Soc. Pathol. hum. et comp., 1972, 4, 211.

BIBLIOGRAFIA

1. Aguiluz, R.A.L. Toxoplasmosis y Embarazo; Trabajo de Investigación correspondiente al Primer Año de Residencia en Gineco-Obstetricia, Hospital General del Seguro Social, San Salvador, 1981; págs. 1-31.
2. Ambroise-Thomas P.; La Toxoplasmosis; Cahiers Medicaux Lyonnais, 1972.
3. Ambroise, T.P.: La detección de anticuerpos I_gG e I_gM dans le diagnostic de la Toxoplasmosis Congenité. Bull. Soc. Pathol. Hum. Etc. cop. 4:211, 1972.
4. Barret, J.: Inmunología, Introducción a la Inmunoquímica e Inmunobiología; Nueva Editorial Interamericana, México, 1970.
5. Bellanti, J.: Inmunología II; Nueva Editorial Interamericana, S.A., México, 1981.
6. Beverly, J.K.A.: Toxoplasmosis, British Med. J. 1973, Vol. 2, pág. 475.
7. Cáceres, P.A.; López, A.; Fletes, C.L.; Ortiz, S.: Co-rriorretinitis Toxoplásmica: algunos datos para su estudio; Rev. Lat. m. Microbial 21:219-224. 1979.

8. Cardozo, A.; Gumares, N.Y.; García, P.: "Congenital Toxo_uplasmosis" Human Toxoplasmosis. The VIII Internacional Congrec Paedriatic Copenhagen. Denmark proceeding of the Conferencie on clinical aspects and Diagnostic probleme of Toxoplasmosis in Paedriatics Revised and Edited 1959, Munscksgard. 1-17.
9. Charles, D. Infecciones en Obstetricia y Ginecología, Edit. Saunders, 1980.
10. Chordt, A.; Kenneth, W.; Kagan, I.: Studies on the specificity of the indirect hemagglutination test for Toxoplasmosis. Immunology 93:1024-1033; 1964.
11. Capron, A.; Wattre, P.; Vernes, A.; Delaynow, T.: Le Diagnostic Immunoligique de la Toxoplasnose. Lille Medical, 1974, 19, 2, 147-150.
12. Desmonts, G. Couvreur, J.: Congenital Toxoplasmosis. N. Eng. J. Med. 290:1110, 1979.
13. Desmonts, G.; Naot, Y; Remington, J.S. Inmunoglobulein M. Immunosorbent agglutination assags for diagnosis of infections diseases. Diagnosis of acute congenital and acquired Toxoplasma infections Clin microbiol, 1981; 14:486-491.

14. Dulbecco, D.: Tratado de Microbiología; III Edición; Salvat Editores, España, 1984.
15. Escapini, H.: Toxoplasmosis, un problema oftálmico en el adulto. Arch. Col. Med. El Salvador, Vol. 23, N° 4, 23(4): 181-193, 1970.
16. Escapini, H.: Toxoplasmosis. Arch. Col. Med. El Salv. Vol. 8, N° 3: 177-190, Sept. 1955.
17. Espinosa, V.; Machain, A.; Estrada, A.; Medrano, P.: Toxoplasmosis humana. Estudio serológico y clínico patológico en 329 binomios materno-fetales. Semana médica de C.A. y Panamá. Vol. 3, N° 32: 167-174, 1966.
18. Faust, F.C.; Russel, P.F.; Jung, R.C.: Parasitología Clínica, 8a. Ed., México, Salvat, 1974, pp. 229-235.
19. Frenkel, J.K.: Bioscience, 1973, Vol. 23, pág. 343.
20. Celesm and Coleman: Prevalence of Toxoplasma antibodies in Guatemala and Costa Rica. Tropical Med. and Hg. 1958, Vol. 7, pág. 734.
21. Gonzales, S.; Torrales, A.; Gómez, D.: Infectología Clínica, Edit. Trias, México, 1984.

22. Grignaschi, J.V.: Citoematología de Leishmaniasis, Chagas, Paludismo y Toxoplasmosis; Revista de la Asociación Bioquímica Argentina, 1971, Vol. 198, págs. 196, 298.
23. Guirgnard, J.P.; Torrado: A Interstitial Nephritis and Toxoplasmosis in a 10 year old child. J. Pediatrics, 85: 381, 1974.
24. Gutiérrez, G.M.M.; García, H.M. de J.: Investigación de Toxoplasmosis en el Hospital San Juan de Dios de San Miguel, 1986, pág. 28.
25. Harrison y Colaboradores. Texto de Medicina, 3a. Edición, 1969, pág. 1171-1173.
26. Harrison: Medicine Interne Text book; 9a. Ed.: 880-885. 1984.
27. Herrera, H.; Vásquez, L.; Hasfura, M.: Toxoplasmosis en El Salvador. Reporte de dos casos y revisión de literatura. Arch. Col. Med. El Salvador. Vol. 27, N° 2, 118-124, Junio 1977.
28. Hume, O.S.: Toxoplasmosis and pregnancy, Am. J. Obstet Gynecol. 114: 703, 1972.

29. International Diagnostic Technology, Fiax Text Kit for Toxoplasma gondii antibodies, Santa Clara, California: IDT 1981, págs. 1-19.
30. Jacobs, L.; Lunde, M.: A Hemagglutination test for Toxoplasmosis, Jour. Parasit. Vol. 43: 308-314. 1957.
31. Jones, M.H.; Sever, J.L; Baker, T.H.; Hallta, J.H.: Goldenberg, E.D.; Justus, K.M.; Cilkerson, M.R.: Toxoplasmosis and Abortion, Am. J. Obstet. Gynecol. 104:919; 1969.
32. Krik, S.A.; Remington, J.S.: Toxoplasmosis in the adult, an Overview, N. Eng. J. Med. 298: 550, 1978.
33. Linares, J.: Inmunohematología y transfusión, principios y procedimientos, Edit. Cromotip, C.A., Caracas, 1986.
34. Lolis, S.A.; T. Zogaunis; V. Michelas; S. Kaumentakau E.; Kaskarilis, A.: Toxoplasma Antibodies and Spontaneous Abortion, Int. S. Gynecol Obstet. 15:299, 1978.
35. Lunde, M.: Laboratory Methods in the Diagnosis of Toxoplasmosis Health Laboratory Science. Vol. 10, N° 4: 319-327. Octubre 1973.

36. Margini, R.: Inmunología e Inmunología; Edit. Médica Panamericana, S.A., Buenos Aires, 1982.

37. Méndez, A.M.; Varela, L.E.; Lazo, M.I.; Barahona, G.M.: Incidencia de Toxoplasmosis Asintomática en la población asegurada de la zona Metropolitana del Instituto Salvadoreño del Seguro Social, utilizando la Técnica de Hemaglutinación Indirecta TPM-Test; Seminario de Graduación previa opción al título de Licenciado en Laboratorio Clínico. San Salvador, 1984, págs. 1-64.

38. Nelson, W.E.; Vaughan, V.C.; McKay, R.J.: Tratado de Pediatría, México Salvat, 1971.

39. Niedman, G.; Thierman, E.; Amador, N.: Toxoplasmosis en Chile, Boletín Chileno Parasit. 18: 1-19, 1963.

40. Milford, N. Lunde, M.P. Th.; Laboratory Methods in the Diagnosis of Toxoplasmosis; Vol. 10:4 págs. 263-366, 1973.

41. Parson, L.; Sommers, S.C.: Gynecology, Philadelphia Saunders, Co., 1978, pp. 76, 391-478.

42 Reiman, H.P., Meyer, M.E. et al: Toxoplasmosis in an infant fed unpasteurized goat milk. J. Pediatrics, 1975, Vol. 87, Pág. 617.



43. Remington, T.S.: Toxoplasmosis in Charles, A.; Finland, M. Editors: Obstetric and Perinatal Infections. Lea and Febiger, Publishers, 1973, pág. 27.
44. Remington, J.S.; Efron, B.; Cavahaugh, E.; Simón, H.J.; Trejos, A.: Studies on Toxoplasmosis in El Salvador, prevalence and incidence of Toxoplasmosis as measured by the Sabin-Feldman Dye-Test. Trans. Roy Soc. Trop. Med. Hyg. Vol. 64, N° 2: 252-261, 1970.
45. Roch, V.E. Compendio de Toxoplasmosis, México, Patir, 1984.
46. Ruíz, A; Flores, M.; Kotcher, E.: The Prevalence of Toxoplasma antibodies in Costa Rica post partum women and their neonates, Am. J. Obst. and Gynecol. Vol. 95, N° 6: 817-819. Julio 1966.
47. Sánchez, M.; Laxon, R.; Gómez, J.M. y Cals. Aportación al Estudio e Infertilidad. Acta Gynecológica, XXII, N° 5, 1972.
48. Shafer, M. New York Journal Med. 1975, Vol. 75, pág. 1049.
49. Shashin, B.; Zoe, L.P.; Jenis, E.H.: Congenital Nephrotic Syndrome Associated with Congenital Toxoplasmosis, J. Pediatrics. 85: 366, 1974.

50. Sharf, M.; Eibschitz, I; Eyland, E.: Latent Toxoplasmosis and Pregnancy Obstet. Gynecol. 42: 351, 1973.
51. Symposium Toxoplasmosis Biomereux; "El Diagnóstico de la Toxoplasmosis en 1982", Fac. de Veterinaria de Lyon.
52. Stray-Pedersen; B. Lorentzen; Styr, A.: Uterine Toxoplasma Infection and repeat abortion, Am. J. Obstet Gynecol.
53. Torales, A.; Martínez, E.; Deveaux, J.: Infectología Clínica: 510-522. Edit. Trillas, México, 1984.
54. TPM-Test. Procedure and practice, Indirect Hemagglutination Test for the qualitative and quantitative determination of antibodies to Toxoplasma gondii in serum. Carter Wallace Inc., Dist. Half Acre Road, Cranbury, N.J. 08512, U.S.A.
55. Trave, P.; Bastide, M.: La Toxoplasmosis, Diagnóstico y Prevención; Análisis Clínicos, Barcelona, IX, 35 (93-104), 1984.
56. Urrutia Centeno, Luis E. Transmisión Placentaria de Anticuerpos de Toxoplasma gondii. Tesis recepcional, México, D.F., 1960, pág. 138.