

TOXOPLASMOSIS: DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO EN LAS GESTANTES

Lurdes Matas Andréu

Servicio de Microbiología. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona

Toxoplasma gondii es un protozoo de distribución universal responsable de una de las zoonosis más frecuentes en el hombre. Pertenece al grupo denominado *Apicomplexa*, que se caracteriza por su obligada parasitación intracelular. El gato es el hospedador definitivo, y la transmisión al hombre y a otros vertebrados se produce a partir de los ooquistes excretados en las heces e ingeridos con la fruta o las verduras contaminadas. También se transmite por la ingesta de carne cruda o insuficientemente cocida, y en la mujer gestante puede ser transmitido al feto por vía transplacentaria.

La toxoplasmosis tiene una importancia y unas manifestaciones clínicas diferentes en función del estado inmunitario del paciente infectado. La infección aguda en el paciente inmunocompetente es, generalmente, asintomática. En ocasiones, puede presentarse como un cuadro febril con mialgias y adenopatías, que cursa con linfocitosis. Los síntomas acostumbra a remitir en varias semanas, y como máximo requieren tratamiento sintomático con analgésicos. En el paciente inmunodeprimido las manifestaciones clínicas se relacionan con la reactivación de una infección latente, produciendo cuadros graves, especialmente por la afectación del sistema nervioso central (SNC).

En la mujer gestante la posible transmisión al feto condiciona una actitud diagnóstica y un tratamiento especiales. La toxoplasmosis congénita tiene una presentación clínica, así como un grado de transmisibilidad diferente, en función del periodo de la gestación en la que se produce. En conjunto, el riesgo de transmisión es de alrededor del 40%, siendo mucho más eficaz al final de la gestación (segundo y tercer trimestre) que al principio, pero con una afectación y gravedad de las secuelas inversamente proporcional al tiempo de embarazo. Así, si la infección se produce y transmite durante el primer trimestre, el recién nacido puede presentar la tríada clásica de hidrocefalia, calcificaciones intracraneales y coriorretinitis, pero también puede estar totalmente asintomático al nacer y, posteriormente, desarrollar alteraciones oculares y retraso psicomotor. Las infecciones fetales que ocurren en el último trimestre del embarazo se presentan, a menudo, como retinocoroiditis y pueden no manifestarse hasta la segunda década de la vida.

El diagnóstico de la infección aguda sintomática en el inmunocompetente no plantea problemas. Las técnicas serológicas actuales permiten detectar fácilmente anticuerpos IgG e IgM en concentraciones limitadas. Bien es verdad que, en la mayoría de las ocasiones, el curso asintomático de la enfermedad no determina ninguna consulta médica ni, obviamente, ninguna prueba diagnóstica específica. En el paciente inmunodeficiente, especialmente por infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), es muy importante poder determinar su estado inmunitario frente al protozoo lo más pronto posible, es decir, mientras el paciente esté lo más indemne posible. Ello va a permitir instaurar una profilaxis específica cuando su estado inmunitario (carga viral y recuento de CD4) esté alterado. El diagnóstico de la reactivación, especialmente de la afectación del SNC, se realiza actualmente por PCR en líquido cefalorraquídeo, con un rendimiento excelente si el paciente no ha recibido tratamiento específico.

El diagnóstico de la toxoplasmosis congénita debe retrotraerse a los estudios de estado inmunitario de la mujer en edad fértil o ya gestante. Éste es un tema aún no bien

resuelto con las técnicas diagnósticas actualmente disponibles y que preocupa a la mayoría de profesionales de la Microbiología y a los responsables del Programa de Control de Calidad de la SEIMC. Buena prueba de ello es el control de Serología S-3/04, cuyos resultados aparecen en un manuscrito adjunto a este número, en que se aborda por tercera vez el diagnóstico serológico de la toxoplasmosis.

PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN CONGENITA

El primer factor a tener en cuenta para el diseño de una estrategia de prevención es determinar la población de riesgo, tanto para el diseño de las estrategias de conjunto como para la realización de la prevención primaria que debe seguir la mujer gestante seronegativa para *Toxoplasma*. Básicamente, la prevención primaria consiste en unas normas dietéticas simples: no comer carne cruda o poco cocida, salvo que se haya congelado previamente, y lavado de las verduras y frutas que vayan a comerse crudas. También deberá evitarse el contacto con gatos y utilizar siempre guantes para la realización de trabajos de jardinería. Con estas medidas puede disminuir la incidencia de primoinfección hasta un 60%.

En nuestro medio hay pocos estudios que determinen la prevalencia de la infección en la mujer en edad fértil; se considera que debe ser inferior al 40% y que varía en función del área geográfica, con tasas mayores en áreas rurales que en áreas urbanas. En el estudio realizado en Cataluña por Muñoz *et al* en el año 1999, donde se estudiaron 16.362 gestantes de áreas predominantemente urbanas, se observó una seroprevalencia global del 28,6% con variaciones desde 20,5% al 33,1%. Estos mismos autores señalan la disminución de esta tasa en el tiempo, por comparación con otros trabajos publicados. Probablemente, los cambios de hábitos de la población condicionan esta tendencia a la disminución de la prevalencia.

Se denomina prevención secundaria a la estrategia basada en el diagnóstico precoz de la primoinfección para adoptar medidas que eviten o disminuyan la transmisión al feto. Independientemente de las consideraciones de coste-eficacia que son motivo de controversia general, esta estrategia viene condicionada por las limitaciones técnicas actuales para el diagnóstico fiable de la primoinfección. En el apartado siguiente se valorarán las diferentes pruebas actualmente disponibles en el mercado.

La prevención terciaria se basa en la determinación de IgM anti-*Toxoplasma* a todos los recién nacidos, junto a los estudios metabólicos que se realizan en sangre seca de talón. Aún no hay estudios que permitan definir su utilidad y, en cualquier caso, su justificación será en función de los datos de coste-eficacia que se obtengan. Esta estrategia es conceptualmente "molesta", dado que obvia la posibilidad del tratamiento materno y, por lo tanto, la posibilidad de reducir la transmisión y las manifestaciones clínicas del recién nacido.

TÉCNICAS SEROLÓGICAS DE DIAGNÓSTICO

Existen en el mercado europeo numerosos reactivos para la detección de IgG anti-*Toxoplasma* por técnicas basadas en el enzoinmunoensayo (EIA). Todas ellas permiten cuantificar estos anticuerpos en unidades internacionales, aunque su reproducibilidad es limitada y, por tanto, la comparación de diferentes reactivos únicamente puede realizarse en términos de positividad o negatividad (Wilson *et al*). Esta limitación técnica tiene importantes implicaciones, y debe ser tenida en cuenta en la elaboración de los algoritmos diagnósticos de la infección en la gestante.

La ausencia de detección de anticuerpos IgG en una mujer gestante indica la susceptibilidad a la infección. Por lo tanto, debe ser informada de las conductas anteriormente relacionadas y de conocida eficacia para evitar la infección (prevención primaria). A su vez deberá seguir un control serológico a lo largo de su gestación para la detección de una posible seroconversión. La frecuencia de determinaciones se realiza cada 2-3 meses según los protocolos de cada centro.

La detección de anticuerpos IgG en una mujer gestante deberá ser cuantificada, puesto que puede ser necesario para el manejo posterior de la paciente. La presencia de estos anticuerpos indica infección por *T. gondii* y, salvo que se conociese la seropositividad previa (antes de la gestación), se deberá intentar descartar si se trata de una primoinfección. Clásicamente se realiza por detección de IgM específica.

Sabemos desde hace ya bastante tiempo que la detección de IgM-anti-*Toxoplasma* no siempre significa infección aguda. La frecuente persistencia de esta inmunoglobulina hasta más allá de un año después de la infección aguda supone una considerable dificultad para el diagnóstico de la primoinfección en la gestante. La incorrecta valoración de un resultado de IgM positivo ha generado, y aún genera, situaciones de angustia y estrés innecesarios en la mujer embarazada. Las diferentes técnicas que existen actualmente en el mercado presentan considerables variaciones en su capacidad de detectar esta inmunoglobulina, tal como se ha visto en el control de calidad de serología S-3/04 de la SEIMC. Las técnicas de inmunocaptura utilizadas años atrás parecen haber sido desplazadas actualmente por variantes automatizables de EIA. La excelente sensibilidad de las técnicas de inmunocaptura no era realmente útil, debido a su limitada especificidad. Las técnicas de EIA actuales continúan presentando una baja especificidad para el diagnóstico de la infección aguda que debe tenerse siempre presente. Por ello, la detección de IgM anti-*Toxoplasma* únicamente debe condicionar la realización de pruebas adicionales para concretar la fecha de infección.

La IgA anti-*Toxoplasma*, inicialmente considerado un buen marcador de infección aguda, se ha visto que presenta problemas similares a la IgM. Sabemos que se produce un poco más tarde que ésta y que desaparece antes, pero su eventual persistencia durante largos periodos después de la infección aguda limita su aplicación diagnóstica. Además, en cerca de un 15% de los casos de infección aguda no podremos detectar IgA, por lo que su ausencia tampoco la descarta. Algunos autores consideran de utilidad su aplicación en el diagnóstico postnatal. La detección de IgA en el recién nacido con infección congénita muestra una especificidad considerable, pero no siempre puede detectarse y, en todo caso, su duración es muy limitada en el tiempo.

La detección de IgE específica sigue relegada a centros especializados. Desde la revisión del Boletín de Control de Calidad SEIMC que realizaron Sierra *et al.* en 1998, no ha habido variaciones sustanciales de este posible marcador. El trabajo de Foudrinier *et al.* en 2003, describe una evaluación diferente de la IgE en función del curso clínico de la infección. Así, en las formas asintomáticas, la IgE es detectable durante un par de meses, mientras que en las formas sintomáticas persiste durante varios meses. Hay que señalar también que es posible detectar IgE en los casos de toxoplasmosis de reactivación. La falta de reactivos comerciales no ha permitido la difusión de uso y, por tanto, su valoración real en la aplicación práctica de la clínica diaria.

El estudio de la avidéz de los anticuerpos específicos de la clase IgG se fundamenta en la diferente capacidad de unión del antígeno y el anticuerpo en el curso de la infección. En la infección aguda predominan los anticuerpos IgG de baja avidéz, mientras que en la

infección crónica se producen anticuerpos IgG de elevada avidéz. En realidad ambos tipos de anticuerpos coexisten siempre, pero en proporción variable.

Antes de seguir valorando esta técnica, es importante recordar el ciclo biológico de *T. gondii*. En condiciones normales de inmunocompetencia, tras la ingestión de los quistes y ooquistes, el primer paso es la rotura por digestión enzimática, gástrica e intestinal, de sus paredes. Esto da lugar a la liberación en la luz intestinal de los esporozoítos. Inmediatamente, ocurre la invasión de las células colindantes donde se transformarán en taquizoítos que son las verdaderas formas infectantes y que, por diseminación hematogena, se distribuyen por todo el organismo. Prácticamente, cualquier tejido es susceptible de ser infectado por *T. gondii*. A partir del desarrollo de la respuesta inmunitaria, los taquizoítos libres disminuyen de manera considerable y, además, su replicación intracelular se ve considerablemente enlentecida. En unas pocas semanas se pasará a la fase crónica de la infección donde es posible que algunas formas intracelulares continúen replicándose. Estas formas, denominadas bradizoítos, darán lugar a la formación de quistes tisulares. La reactivación de estos quistes produce la infección que se observa en los pacientes inmunodeprimidos. Es decir, el organismo debe ejercer un control constante de la actividad de las formas intracelulares de *T. gondii*, mediante los mecanismos de inmunidad humoral y también celular. Cuando éstos fallan, especialmente en los pacientes con sida, trasplantados o con linfomas, se produce la reactivación de la toxoplasmosis, de localización preferente en el SNC, ocular y pulmonar.

Las técnicas de estudio de avidéz de IgG fueron inicialmente descritas por Hedman *et al.* en 1989. Se considera que la detección de anticuerpos IgG de elevada avidéz en una proporción superior al 30% permite excluir, con bastante seguridad, la infección aguda. La situación contraria, es decir un predominio de IgG de baja avidéz, es más difícil de interpretar, puesto que aún no se conoce bien cuándo ocurre el cambio en la avidéz de los anticuerpos, y porque el tratamiento antiparasitario específico puede prolongar la presencia de anticuerpos de baja avidéz. En el caso concreto de *T. gondii* esta dinámica se ve además complicada por el curso intracelular de baja replicación del microorganismo. Junto a estas condicionantes, la falta de estandarización de las técnicas de avidéz dan como resultado una considerable frecuencia de resultados indeterminados o ininterpretables.

Así pues, nos encontramos con una colección de técnicas para el diagnóstico de la infección aguda por *Toxoplasma*, pero parece que ninguna de ellas es suficientemente sensible y específica como para permitir caracterizar en una única muestra el estado de infección aguda en la mujer gestante. En este sentido es muy ilustrativo el trabajo de Roberts *et al.* en 2001. Se trata de un estudio multicéntrico de ámbito europeo para la evaluación de diferentes estrategias en el diagnóstico serológico de la infección primaria por *T. gondii*. Participaron once centros que realizaban diferentes técnicas de IgM, IgA, IgE y avidéz de IgG. Se analizaron 276 sueros procedentes de pacientes con toxoplasmosis conocida y clasificados en tres grupos: infección aguda (<3 meses; n=73), convaleciente (3-12 meses; n=49), e infección pasada (>12 meses; n=154). Se excluyeron pacientes coinfectados por el VIH, trasplantados o con enfermedades autoinmunes. Tras el análisis de cada una de las técnicas y de su uso combinado, estos autores llegan a la conclusión de que ningún ensayo ni ninguna combinación de ellos es capaz de distinguir las infecciones agudas de las infecciones ocurridas entre los 3 y los 12 meses anteriores. En este mismo estudio, los mejores resultados se obtienen con la combinación de la determinación de IgM junto al estudio de avidéz de la IgG, aunque se observan grandes variaciones en función del reactivo utilizado. La limitación de este trabajo seguramente radica en el elevado número de centros que realizan las determinaciones con reactivos preparados por ellos mismos, cuya calidad y reproducibilidad no se conocen.

La realización de una segunda determinación de IgG, al cabo de 2-4 semanas, para demostrar una variación en el título o concentración de anticuerpos es una alternativa que presenta también sus limitaciones. Ya se ha señalado anteriormente la escasa reproducibilidad que presentan los reactivos actualmente disponibles en el mercado, por lo que la comparación de resultados entre centros diferentes puede inducir a errores considerables. Incluso para la comparación de resultados en el mismo centro, deben realizarse simultáneamente, en paralelo, ambas determinaciones. Otra limitación, no derivada de la técnica, sino del propio curso de la infección, depende del momento de realización de la primera determinación: si esta no se ha realizado al principio de la infección puede que no se observe el incremento del título de anticuerpos.

ALGORITMO DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN AGUDA EN LA GESTANTE

Con las técnicas actualmente disponibles, cuyas prestaciones no permiten establecer el diagnóstico de infección aguda basándose en los resultados individuales de ninguna de ellas, es necesario que cada centro defina su estrategia diagnóstica por combinación de las técnicas que habitualmente utilice. Además, también será siempre necesaria una valoración individual de cada caso. Un buen ejemplo es el caso planteado en el control de calidad S-3/04, donde la valoración de la anamnesis ayuda a la correcta clasificación del caso. Cabe destacar que algunos de los reactivos utilizados para la determinación de IgM han mostrado, en este caso, una especificidad a considerar, puesto que la falta de detección de IgM permitió la correcta clasificación del caso sin necesidad de pruebas adicionales. Dada la elevada sensibilidad de la mayoría de reactivos actualmente disponibles en el mercado deberemos valorar la especificidad de los mismos. Bien es verdad que esto condiciona un desplazamiento del equilibrio entre sensibilidad y especificidad. La serología de *Toxoplasma* en la mujer gestante debe realizarse con la combinación de determinaciones que cada centro considere adecuado, siempre que permita clasificar a las pacientes en las diferentes categorías de infección definidas por Lebech *et al.* en la Red Europea para la Investigación de la Toxoplasmosis Congénita (ERNCT). Se define como **cierta** la infección en la cual se ha podido demostrar:

- Seroconversión en dos muestras recogidas después de la concepción.
- Cultivo positivo en sangre materna.
- Demostración de infección congénita en el niño (PCR en líquido amniótico).

Se define como **probable** la infección cuando:

- Existe seroconversión entre dos muestras, la primera de las cuales se ha recogido antes de la gestación (en los dos meses previos).
- Aumento significativo de los títulos de IgG en presencia de IgM o IgA.
- Títulos altos de IgG, presencia de IgM o IgA y adenopatías durante el embarazo.
- Títulos altos de IgG y presencia de IgM o IgA en la segunda mitad del embarazo.

Se define como **posible** la infección si se determinan:

- Títulos estables de IgG sin IgM en la segunda mitad del embarazo.
- Títulos altos de IgG en presencia de IgM o IgA en la primera mitad del embarazo.

Se considera **rara** la infección cuando:

- Títulos estables y bajos de IgG, con o sin IgM.
- Títulos estables de IgG sin IgM al comienzo del embarazo.

Se define como **no-infección primaria materna** durante el embarazo a la paciente:

- Seronegativa durante el embarazo.
- Seropositiva antes del embarazo.

- IgM o IgA positivas sin aparición de IgG.

La variación de títulos de anticuerpos debe realizarse entre dos muestras separadas por un intervalo de 2-3 semanas. Una vez la situación materna corresponde a las categorías de toxoplasmosis **cierta y probable**, deberá realizarse el estudio de infección del feto. Actualmente, la detección de *Toxoplasma* por PCR en líquido amniótico permite determinar con certeza esta situación. Es muy importante realizar una buena selección de los casos tributarios del estudio por PCR. Como todas las técnicas diagnósticas, su sensibilidad y especificidad dependen del grupo poblacional al cual se aplican. La determinación cuantitativa por medio de PCR en tiempo real seguramente va a permitir una mejor definición de la dinámica de transmisión materno-fetal.

BIBLIOGRAFÍA

- FOUDRINER F, VILENA I, JAUSSAUD R, *et al.* Clinical value of specific immunoglobulin E detection by enzyme-linked immunosorbent assay in cases of acquired and congenital toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 2003; 41:1681-6.
- HEDMAN K, LAPPALAINEN M, SEPPÄLÄ I, MÄKELÄ O. Recent primary *Toxoplasma* infection indicated by a low avidity of specific IgG. *J Infect Dis* 1989; 159:736-740.
- HOHLFELD P, DAFFOS F, COSTA JM, THULLIEZ P, FORESTIER F, VIDAUD M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a polymerase-chain-reaction test on amniotic fluid. *N Engl J Med* 1994; 331:695-699.
- JENUM P, STRAY-PEDERSEN B, GUNDERSEN AG. Improved diagnosis of primary *Toxoplasma gondii* infection in early pregnancy by determination of antitoxoplasma immunoglobulin G avidity. *J Clin Microbiol* 1997; 35:1972-1977.
- LEBECH M, JOYNSON DHM, SEITZ HM, *et al.* Classification system and case definition of *Toxoplasma gondii* infection in immunocompetent pregnant women and their congenitally infected offspring. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15:799-805.
- MUÑOZ C, GUARDIÀ C, JUNCOSA T, *et al.* Toxoplasmosis y embarazo. Estudio multicéntrico realizado en 16362 gestantes de Barcelona. *Med Clin* 2004; 123:12-16.
- ORY F, DELGADO-IRIBAREN A, FUERTES A, GARCÍA I, SIERRA M. Estudios serológicos en la prevención de la infección congénita y perinatal (García-Bermejo I, coord). En: Cercenado E, Cantón R (eds). *Procedimientos en Microbiología Clínica*, num 4a. Madrid: Sociedad de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 2004.
- ROBERTS A, HEDMAN K, LUYASU V, *et al.* Multicenter evaluation of strategies for serodiagnosis of primary infection with *Toxoplasma gondii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20:467-474.
- SIERRA M, BOSCH J, JUNCOSA T, MATAS L, MUÑOZ C (Grupo de Microbiólogos para el Estudio de las Infecciones de Transmisión Vertical en el Área de Barcelona). Diagnóstico serológico de las infecciones por *Toxoplasma gondii*. *Bol Control de Calidad SEIMC* 1998; 10:31-44.
- WILSON M, SCHANTZ PM, NUTMAN T, TSANG VC. Clinical immunoparasitology. En: Rose NR, Hamilton RG, Detrick B (eds). *Manual of clinical laboratory immunology*, 6ª ed. Washington DC: ASM Press, 2002; pp 547-558.