

Estado Actual del Diagnóstico de la Toxoplasmosis en la Mujer Embarazada y su Feto

Norma Cecilia Serrano

MD. MSc Genética Humana

Docente Área Ciencias Básicas Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Bucaramanga, UNAB

María Eugenia Cárdenas

Bcs. , MSc Microbiología

Docente Área Ciencias Básicas Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Bucaramanga, UNAB

Correspondencia:

Dra. Norma Serrano

Universidad Autónoma de Bucaramanga UNAB

Facultad de Medicina. AA: 1642

GENERALIDADES Y CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DE LA ENFERMEDAD

La toxoplasmosis es una zoonosis parasitaria causada por el protozoo *Toxoplasma gondii*, descrito por Nicolle y Manceaux en 1908, cuando lo aislaron de órganos internos de un roedor existente en el Norte de África, el *Ctenodactylus gundi*¹. El parásito es un organismo intracelular obligado, con capacidad de afectar cualquier tipo celular de los vertebrados, exceptuando los glóbulos rojos, e incluso, es capaz de ser albergado por algunos invertebrados como la lombriz de tierra, actuando en ella como huésped paraténico. La incidencia de la infección primaria durante el embarazo varía ampliamente de país a país, y promedia entre menos del 1 hasta más de 15 por 1.000 embarazos², con una transmisión al feto en menos de un 1 % de los casos^{3,1}, cifra que aunque baja, puede causarle muy serios problemas^{1,5}.

Actualmente en Colombia se estima que de 2 a 10 de cada 1000 nacidos vivos sufren toxoplasmosis congénita, constituyéndose en una de las tres primeras causas de infección prenatal, con serias complicaciones neurológicas y oftalmológicas^{6,7}.

Con base en diversos estudios serológicos, se ha estimado que al menos una tercera parte de la población adulta, ha sido infectada con el parásito^{3,11}, por lo tanto alrededor de 1.000 a 2.000 millones de personas se hallan infectadas, cifra que la convierte en una de las enfermedades parasitarias más prevalentes⁹.

La enfermedad está ampliamente distribuida a lo largo del mundo, con variaciones, que al parecer dependen de las condiciones ambientales, hábitos culturales y especies animales con las que se convive. En zonas frías y secas, la prevalencia es más bien baja, diferente de lo que ocurre en zonas húmedas y cálidas¹⁰, como nuestro país, ubicado en zona tropical. En estas últimas condiciones cismáticas los ooquistes del *T gondii* resisten los factores ambientales por meses y aún por años. Como ejemplo de aspectos geográficos, un factor que limita las poblaciones de los gatos, importantes transmisores de la enfermedad, sería la altitud¹¹, pues en clima frío estos tienden a ser menos

numerosos. Por otro lado factores culturales relacionados con la alimentación, como el consumo de carnes de cerdo y ganado vacuno cocidas inadecuadamente, aumentan la probabilidad de infección humana, como sucede con mayor frecuencia en Oriente Medio y en áreas específicas de Alemania ¹².

En Colombia, el estudio más completo sobre prevalencia de la enfermedad fue publicado en 1988, por la Asociación Colombiana de Facultades de Medicina y el Ministerio de Salud, arrojando un resultado de seropositividad del 47.1% de la población, valor que aumenta con la edad ¹³. En Centro y Sudamérica Tropical se ha observado que la aparición de anticuerpos inicia a los pocos años de edad, y va aumentando constantemente durante los 10 a 25 años, para llegar finalmente al establecimiento de una meseta que se mantiene a través del tiempo, y esto se encuentra relacionado con la infección por ooquistes en niños y adultos jóvenes ¹⁴, ya que los gatos de estas áreas son silvestres y defecan al aire libre. Este factor determina la permanencia de focos de infección, fuente principal de contaminación temprana para los niños que comúnmente juegan en este medio.

La infección postnatal puede ocurrir mediante dos formas principales: ingiriendo alimentos contaminados con ooquistes del parásito presentes en heces del gato, o mediante la ingesta de quistes tisulares presentes en las carnes mal cocidas de animales contaminados ^{10,12,15,16}.

El papel del gato en la transmisión es indiscutible tanto en la epizootiología como en la epidemiología de la toxopiasmosis. Se han realizado estudios en diversos países de seropositividad del gato, mostrando que alrededor del 64% son seropositivos, pero sólo un 1% excretan quistes, considerando que el gato generalmente solo excreta millones de ooquistes una vez en su vida y generalmente lo hace cuando es joven ^{17,18}. El gato doméstico y algunos félidos salvajes se constituyen en el único huésped definitivo del parásito, y posiblemente más de 220 especies de animales, entre los que se encuentran aves, mamíferos, herbívoros y el hombre, le sirven como huéspedes intermediarios.

Las modificaciones en los hábitos alimenticios y de higiene, así como una buena información dada a los pacientes en riesgo, podrían prevenir las dos fuentes principales de contaminación toxoplásmica, los ooquistes y los quistes tisulares (prevención primaria) ¹⁰.

ESTRUCTURA Y CICLO DE VIDA DEL PARÁSITO

T. gondii es un protozoario ubicuo, del orden Coccidia, subfamilia Toxoplasmatinae, familia Sarcocystidae, phylum Apicomplexa, que se caracteriza por poseer en el huésped intermediario (donde lleva cabo la fase asexual de su ciclo), una fase de multiplicación rápida (taquizoito), por fuera de los tejidos, y otra de multiplicación lenta (bradizoito), que se enquistan en los tejidos del vertebrado.

El taquizoito, organismo que se divide por un proceso denominado endodiogenia, es descrito como una estructura semilunar (Fig. 1), que mide entre 3 y 6 µm de longitud y 2 µm de ancho, con un polo anterior conoide, una cara convexa y la otra cóncava. Estas formas pueden ser observadas en líquidos corporales del hospedero tales como sangre, y si se tiñen con Giemsa, se les observa un gran núcleo rosado de ubicación central cargado hacia el polo más ancho, con un citoplasma azul.

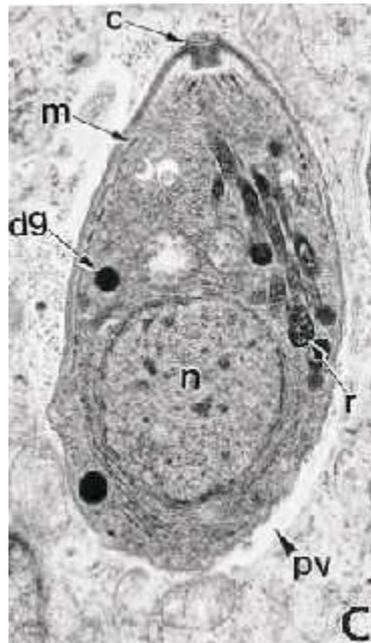


Figura 1. Microfotografía electrónica de un Taquizolto intracelular. C: conoide; pv: vacuola parasitófora; r: rhoptrias; n: núcleo; m: micronema; dg: gránulos densos³

El quiste (Fig. 2), es una estructura que se forma en cualquier tejido del huésped intermediario, y provienen de una conversión de taquizoitos en formas lentamente replicativas que se recubren de una pared densa, aunque fina y bien delimitada, propia del parásito, como respuesta al sistema de defensa que se ha activado. Estos quistes, fuertemente argirófilos, y PAS positivo, pueden contener hasta 3000 bradizoitos, medir hasta 250 μ m, y romperse en cualquier caso de inmunodepresión severa para reactivar la enfermedad, como ocurre en la actualidad en los pacientes HIV positivos³.

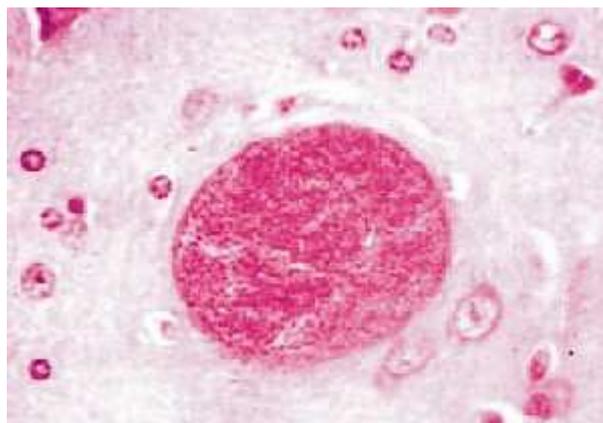


Figura 2. Quiste tisular de E Gondii (Tomado de la Revista Microbiología Médica, 1997; 469-71.)

Adicionalmente, el T gondii posee una fase sexual en su ciclo, que se lleva a cabo en el huésped definitivo (gato y otros félidos), a partir de la cual se da origen al oocisto (Fig. 3), excretado con las heces de; felido. Estos oocistos miden aproximadamente 10-12 μ m.

mm, salen en forma inmadura y se hacen infectantes (fase de esporogonia) en las condiciones cismáticas descritas inicialmente, en 2-5 días 3,10. Cada ooquiste, ya esporulado, se observa como una estructura transiúcida, recubierto por una fina pared, que contiene dos esporoquistes en su interior, cada uno de los cuales a su vez posee cuatro esporozoitos.

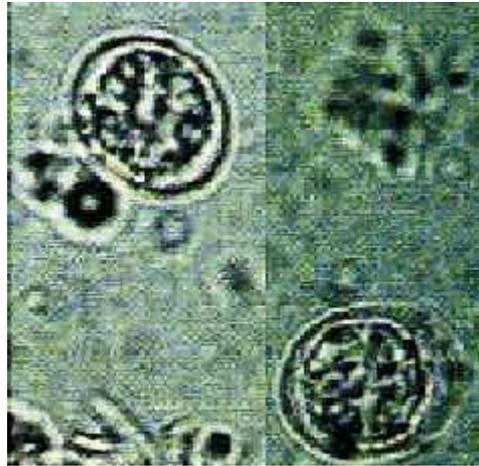


Figura 3. Ooquiste no esporulado de *t gondii* en heces de gato (Tomado de la Revista Parasitología Médica 1997:26579)

El ciclo de vida de *T gondii* (Fig. 4), fue descrito por Frenkel y cois en 1970, ellos describieron a los felinos, y en particular al gato doméstico, como huéspedes definitivos del parásito, debido a la presencia de los ooquistes en sus heces. De esta manera, el gato se constituye en un hospedero perfecto para el parásito, pues también puede hacer las veces de huésped intermediario. Como se ha descrito, el ciclo consta de etapas tisulares (esquizogonia) y una etapa en el epitelio intestinal (etapa enteroepitelial, o gametogonia), que sólo ocurren en el gato. Los gatos adquieren el *T gondii*, por la ingesta de cualquiera de sus tres estadios ya descritos, y a partir de ellos rápidamente se lleva a cabo la fase enteroepitelial (esquizogonia y gametogonia), para excretar por las heces los ooquistes, forma que permite comprobar la exitosa infección de; gato³. Este período prepatente varía un poco de acuerdo con la forma infectante que haya ingerido el felino¹⁵.

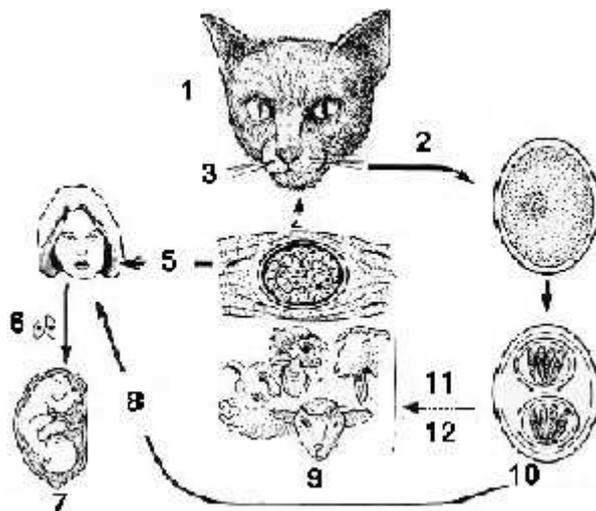


Figura 4. Ciclo de vida del *T gondii*. 1. Huésped definitivo (gato); 2. Ooquiste no esporulado en heces de gato; 3. Quiste ingerido por el gato; 4. Quiste en huésped intermedio; 5. Quiste ingerido por el hombre; 6. Taquizoito transmitido a través de la placenta; 7. Feto infectado; 8. Alimento y agua contaminada; 9. Huésped intermediario; 10. Ooquiste esporulado; 11. Ooquiste en agua y tierra; 12. Ingesta por huésped intermediario 3.

El hombre adquiere la infección con las diversas formas del parásito, y las rutas de transmisión incluyen: la vía oral (bradizoitos y ooquistes), transplacentaria (taquizoitos), y menos frecuentemente por vía sanguínea (taquizoitos) o trasplante de órganos (taquizoitos y/o bradizoitos). A partir de cualquiera de las formas morfológicas infectantes, cuando se adquiere por vía oral, una vez penetran células epiteliales y lámina propia del intestino, se convierten en taquizoitos, y en pocas horas se diseminan a los tejidos extraintestinales a través de las rutas sanguínea y linfática. Esta forma se interioriza en cualquier tipo celular del hospedero intermedio, dentro de la cual se multiplica activamente hasta destruirla, liberando más formas de éstas, para ir a invadir nuevas células. Este ciclo se repite y puede resultar en focos de necrosis. Cuando el individuo se sobrepone a esta fase, y ha montado una respuesta inmune, el parásito ya se ha convertido en su forma latente de bradizoito, contenido en un verdadero quiste tisular, el cual se forma de preferencia en órganos como hígado, cerebro, músculo y retina.

INMUNIDAD HUMORAL FRENTE A LA INFECCIÓN

La respuesta inmunológica del hospedero inmunocompetente a *T gondii* se desarrolla de manera secuencial a partir de las diferentes inmunoglobulinas así ⁹:

IgM: Es la primera en aparecer ontogénicamente. Puede ser detectada dentro de las dos primeras semanas de haberse producido la infección; su vida media oscila entre cinco días y cuatro semanas y en un 5% de los pacientes puede persistir positiva hasta por tres años, motivo por el cual el diagnóstico de infección activa en la paciente embarazada es en ocasiones difícil. Por lo tanto los títulos de IgM elevados nos indican en la gran mayoría de las veces, aunque no siempre, que estamos frente a una toxoplasmosis en fase aguda.

IgG: Aparece una o dos semanas después de la primoinfección, y alcanza su pico máximo entre la sexta y octava semana. Los niveles de IgG luego decrecen gradualmente a títulos relativamente bajos, los cuales persisten durante toda la vida, lo que nos indica que si detectamos títulos de IgG estables, estamos frente a una toxoplasmosis latente, antigua o que ya hubo una infección superada. La IgG en niños menores de un año, no puede ser distinguida de anticuerpos maternos, los cuales pueden persistir en el niño por varios meses.

IgA: La aparición de la IgA se presenta en fases tempranas de la infección (alrededor de las dos primeras semanas de haberse infectado), y su vida media es parecida a la IgM, e incluso puede desaparecer entre el tercer y noveno mes.

IgE: El tiempo de aparición de la IgE es igual al de la IgA pero al parecer la vida media es más corta, siendo positiva hasta las cuatro semanas posteriores a la infección, por lo cual puede ser útil en el diagnóstico de infección aguda.

Así, para una apropiada interpretación de los títulos de anticuerpos circulantes, ésta debe hacerse en asocio de varias determinaciones. Por ejemplo, si se detecta IgM e IgA simultáneamente lo más probable es que la persona se encuentra en una fase aguda de la infección (aproximadamente siete días postinfección), lo que permitiría hacer una mejor evaluación del riesgo en la mujer embarazada⁹.

La respuesta inmune específica del recién nacido es caracterizada por la presencia específica de IgM e IgA, ya que no atraviesan la placenta como lo hace la IgG. En la ausencia de estimulación antigénica, el nivel de IgA en el primer año en los niños es solo el 20% del observado en adultos. Si se encuentran en mayor porcentaje, podría considerarse como indicio de toxoplasmosis congénita.

DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE TOXOPLASMOSIS EN LA GESTANTE

Tradicionalmente ha existido controversia en las pruebas serológicas que se incluyen en el tamizaje de las infecciones maternas, debido tanto a la variabilidad en las características de sensibilidad y especificidad de las mismas^{2,5}, como a la variabilidad en la respuesta inmunológica de cada persona, que en últimas pueden llevar a una inadecuada interpretación de resultados. El problema principal de casi todos los procedimientos serológicos actualmente utilizados es la estandarización de los antígenos¹⁹. Existe en el mercado un verdadero mosaico antigénico de los diferentes antígenos del *T gondii*, cada uno de los cuales permite la detección de IgG, IgM, e IgA y que realmente están demostrando una falta de lenguaje común en el terna.

Un avance importante se ha logrado con la aparición de varios sistemas específicos de detección, que aún cuando no son infalibles, utilizan siempre los mismos agentes reactivos y procedimientos por la que los resultados son comparables entre sí, y por lo tanto es posible seguir con exactitud los cambios en los títulos de anticuerpos anto toxoplasma para los diferentes isotipos a lo largo de 1 m n e esencial para el diagnóstico de la toxopiasmosis en la mujer embarazada. Estas técnicas involucran, por ejemplo, la tradicional detección de IgG por inmunofluorescencia Indirecta (IFI); y otras como la detección de IgG, IgM e IgA por diversas formas de Ensayo de Inmunoabsorbancia ligado a Enzima (ELISA), con una sensibilidad que varía entre un 91 y 98%, dependiendo de los laboratorios que manufacturan las pruebas, y una especificidad hasta de un 99%; y la técnica de Ensayo de Inmunoabsorción por aglutinación (ISAGA), para detectar IgM e IgA, (con una sensibilidad entre 80 y 90% y una especificidad entre 89 y 95%).

De manera ideal el tamizaje con IgG para la detección de pacientes susceptibles al *T gondii* debería realizarse en el período preconcepcional. Esto permite detectar las pacientes que tienen títulos positivos para IgG, y por lo tanto ya han sufrido la primoinfección antes del embarazo. Estas, no requerirían del seguimiento con pruebas de rastreo durante el embarazo a menos que concomitantemente presenten un estado de inmunosupresión, y corran el riesgo de una reactivación del parásito.

Idealmente toda gestante sin títulos conocidos de IgG contra *T gondii* previos al embarazo, debería someterse a un seguimiento mensual que permita identificar una seroconversión durante el transcurso del mismo, y sobre todo determinar el momento de la infección tan precisamente como sea posible en relación con el inicio del embarazo^{19,20,21}.

Durante el seguimiento serológico de la gestante se pueden presentar los siguientes casos:

CASO 1: Niveles de IgG positivos hasta 300U I/mi por ELISA o hasta 1024 en IFi, con IgM negativa, corresponden en su mayoría a pacientes con memoria inmunológica, producto de una infección previa. Si este resultado es obtenido antes de la semana sexta de gestación prácticamente excluye la posibilidad de una toxoplasmosis congénita. Sin embargo no se debe descartar una infección en su inicio inmediato, o una reactivación de una primo-infección previa.

CASO 2: Niveles de IgG mayores a 300U I/mi por ELISA o superiores a 1024 en IFi, se pueden relacionar con una infección aguda, para este caso se debe cuantificar IgM y repetir la IgG a las tres semanas, si este título se duplica y la IgM aparece positiva se confirma la infección activa. Con este esquema positivo podría considerarse que la infección ocurrió dentro de las 2 semanas anteriores; sin embargo esto se confirmará solamente ante la evidencia de la posterior negativización de la IgM que deberá ocurrir en la infección activa dentro de las dos a cuatro semanas posteriores a la presencia de este título, o al descenso franco de la IgG e IgM, o la presencia de IgA e IgE con IgM positiva, en estos casos se hace necesario e diagnóstico prenatal para confirmar la infección fetal.

CASO 3: Ausencia de títulos de IgG y presencia de títulos de IgM, en este caso no es posible concluir sin después del estudio comparativo de un segundo suero tomado 10 a 20 días más tarde. La no aparición de 1 IgG a las 3 semanas descarta prácticamente un infección. Su conversión a positivo, al contrario demuestra una toxoplasmosis reciente. En cierto casos, la síntesis de IgG es evidente alrededor de un semana después de una prueba negativa. En est caso debe descartarse la infección fetal para la instauración de un tratamiento específico que estaría justificado ²¹.

CASO 4: Gestante con ausencia de niveles de IgG que no seroconvierte, se considera que no ha tenido contacto con el parásito, por lo tanto se debe continua el seguimiento durante el transcurso de éste, y se le debe instruir en cuanto a la prevención primaria de la infección; y cualquier título positivo que se detecte se debe interpretar como una seroconversión y requiere descartar la infección fetal mediante las técnicas de diagnóstico prenatal ⁹.

Definitivamente no es fácil establecer el momento exacto de la seroconversión en la gestante, por tal razón se han implementado técnicas complementarias que buscan tener una mejor aproximación; quizás la de mayor utilidad es la prueba de avidéz, la cual surgió para aplicaciones virológicas hace aproximadamente 10 años ²² y más recientemente se ha aplicado a la toxoplasmosis.

Esta prueba consiste en la medición de la avidéz de IgG por el antígeno toxoplásmico, la cual aumenta a medida que envejece la infección por T gondii. Por lo tanto, lo que se hace sencillamente es medir la intensidad de la reacción de ELISA, antes y después de la acción de un agente disociador (generalmente urea), el cual tendrá poco efecto en los enlaces antígeno -anticuerpo de mucha avidéz (anticuerpos antiguos de una infección adquirida con mucha anterioridad), pero tendrá bastante efecto sobre los enlaces con avidéz más débil (lo cual involucro una infección reciente). Entonces al comparar los resultados obtenidos con y sin disociador, se determinará el índice de avidéz, y entre

más reciente sea la infección, el índice será más bajo. Por supuesto este método no resuelve todas las dificultades encontradas en la serología de la toxoplasmosis, pero desde un punto de vista práctico este resultado tendría valor puesto que se evitaría la administración de tratamientos inútiles. Sobre todo es posible establecer de manera más certera si la gestante con serología positiva debido a los altos títulos de IgG o a la presencia de IgM, y posiblemente de anticuerpos IgA, si la infección fue adquirida durante el embarazo.

INFECCIÓN FETAL

El feto es susceptible de ser infectado durante cualquier momento del embarazo, existiendo una relación directamente proporcional entre la probabilidad de infección y el momento de la gestación.

Si la transmisión transplacentaria ocurre tempranamente, durante el primer trimestre resultan afectados entre 12 al 16% de los fetos expuestos al parásito, esta cifra aumenta al 33 - 50% durante el segundo trimestre y puede ser mayor al 70% durante el último trimestre de la gestación.

Por el contrario, la severidad en las alteraciones del desarrollo fetal será mayor entre más temprano el feto se infecte. Solo el 10% de los fetos infectados durante el primer trimestre de la gestación presentan infecciones subclínicas, el 90% restante presentarán cuadros clínicos severos y variados de manifestaciones clínicas, que incluyen aborto, reabsorción o el cuadro severo de toxoplasmosis congénita.

El 40% de las infecciones que ocurren durante el segundo trimestre son subclínicas, al nacimiento y durante el último trimestre lo son más del 60%. La infección materna precoz durante el embarazo rara vez se transmite, pero produce infección fetal severa; al contrario, la infección materna tardía se transmite frecuentemente, pero generalmente produce una infección fetal leve o subclínica. Por lo tanto, aproximadamente el 85% de los niños vivos con infección congénita son normales al nacer²³.

Las manifestaciones clínicas del feto se pueden diagnosticar mediante el estudio sonográfico. En la serie más grande publicada en la literatura, en la cual se estudian 148 infecciones fetales diagnosticadas en 2030 madres infectadas²⁴, se informan las siguientes frecuencias de dilatación ventricular verificadas por ultrasonido según el momento de la infección materna:

- Antes de semana 16 de gestación: 31 de 52 fetos (60%) tenían dilatación ventricular cerebral.
- Entre semana 17 y 23: 16 de 63 fetos (25%), tenían dilatación ventricular cerebral, pero no se encontró ningún caso entre las madres con seroconversión después de la semana 22.
- Después de semana 24: 1 de 33 fetos con dilatación ventricular.

La dilatación ventricular cerebral, es el signo más común y característico, de infección fetal, generalmente es bilateral y simétrica, se presenta primero en la región occipital antes de comprometer por completo los ventrículos laterales. Su evolución puede ser muy rápida en un período de pocos días y se asocia con un mal pronóstico. Otro hallazgo cerebral son las densidades intracraneales que corresponden a calcificaciones,

por lo general están poco calcificadas en el momento del diagnóstico prenatal y se demuestran menos frecuentemente que la dilatación ventricular ²⁵.

Otros signos ecográficos que se pueden visualizar son la inflamación placentaria, compromiso hepático y derrames, demostrando esto que la toxopiasmosis fetal es una enfermedad multisistémica; algunos de estos hallazgos pueden ser de tipo transitorio (Tabla 1).

Tabla 1. Signos en 27 fetos infectados con un examen ecográfico anormal. (Tomado de la Revista Ultrasound Obstet Gynecol 1991;1:242-44)

Signos	Número
Lesiones cerebrales	
Dilatación ventricular	25
Densidades intracraneales	6
Inflamación placentaria	
Aumento del grosor	11
Aumento de la densidad	2
Lesiones hepáticas	
Densidades intrahepáticas	4
Hepatomegalia	2
Ascitis	5
Derrame pericárdico	2
Derrame pleural	1

Los hallazgos sonográficos no son suficientes para un diagnóstico definitivo de infección fetal, porque los signos no son patognomónicos de infección toxoplásmica, además su demostración puede demorarse según la fecha de transmisión, y muchos fetos pueden no estar severamente afectados; por lo tanto se deben tener otro tipo de herramientas para hacer el diagnóstico definitivo.

DIAGNÓSTICO PRENATAL

El diagnóstico de la infección fetal se puede realizar durante el embarazo mediante la recolección de muestras específicas, por ejemplo líquido amniótico para procedimientos biomoleculares, o sangre fetal para procedimientos serológicos y biomoleculares ^{26,27}.

En sangre fetal se pueden realizar pruebas inmunológicas para establecer si hubo o no parasitosis en el feto. En particular se analizan cifras de IgM e IgA, por ser las inmunoglobulinas que no atraviesan la barrera fetoplacentaria; pero estas mediciones pueden alcanzar cifras altas de falsos negativos, ya que solo un 25 a 30% de los fetos infectados son capaces de producir IgM entre las semanas 20 a 34 de gestación debido a inmadurez de su sistema inmunológico ²¹.

La situación es peor aún si se tiene en cuenta que alrededor de la semana 20 de gestación la sensibilidad de la detección de IgM en sangre fetal es tan solo del 10%.

Por estas razones se hizo necesario la implementación de nuevas herramientas diagnósticas, principalmente para la detección directa del parásito, que puedan ser hechas en etapas tempranas de la gestación, y que no presente un riesgo para el feto; la

prueba que reúne estas características es la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), en líquido amniótico.

La PCR es una técnica que fue descrita por primera vez por Mullis y cols en 1986²⁸, la cual busca amplificar de manera rápida un gen o un fragmento de éste o de cualquier segmento del DNA. Para ponerla en práctica, se requiere del conocimiento de las secuencias de ambos lados de la región del DNA que se desea amplificar, permitiendo que la región definida entre estos dos extremos conocidos sea amplificada las veces que se desee. Por lo tanto es necesario tan solo una copia de DNA de interés para ser detectado, lo que hace que esta técnica sea extremadamente sensible, pudiendo revelar la presencia de cantidades diminutas del ADN toxoplásmico.

Esta técnica fue utilizada por primera vez para el diagnóstico prenatal de toxoplasmosis en 1990; amplificando el gen B1 del parásito a partir de muestras de líquido amniótico. Aunque se presentaron reacciones falsas positivas esporádicas, la PCR fue más sensible que la inoculación en ratones o el cultivo tisular, e identificó correctamente el *Toxoplasma gondii* en 8 de las 10 muestras de líquido amniótico, en casos comprobados de infección congénita²⁹.

En 1994, esta técnica fue modificada por Hohifeld y cols, haciéndola más sensible. Estos investigadores informan datos sobre 339 muestras consecutivas de líquido amniótico de mujeres infectadas durante el embarazo. La PCR se dirigió al gen B1 y se utilizó descontaminación específica para evitar contaminación sobreagregada, además de un control interno, la secuencia de DNA MI 3mpl8, para determinar la sensibilidad de cada muestra. Cada muestra de líquido amniótico se estudió con esta PCR y fue inoculada en ratón y cultivo tisular; además se determinó al mismo tiempo IgM en sangre fetal, la cual también se inoculó en ratones. Se demostró infección congénita en 34 fetos por métodos convencionales y la PCR fue positiva en todos los 34 casos. En tres casos adicionales, la PCR fue la única prueba positiva; la infección congénita fue finalmente confirmada mediante hallazgos de autopsia en dos casos y por pruebas de seguimiento serológico del niño, en un caso. No hubo ningún resultado falso positivo de la PCR³⁰.

Por lo tanto la demostración de ADN toxoplásmico en líquido amniótico es una prueba definitiva de infección fetal, siendo más sensible que las otras pruebas específicas: inoculación a ratones con líquido amniótico o sangre fetal, determinación de IgM o IgA en sangre fetal, consideradas por separado o en conjunto.

Otras ventajas adicionales de esta prueba es que los resultados pueden ser obtenidos con gran rapidez, en 24 horas posterior a la toma de la muestra. La muestra de líquido amniótico requerida para el estudio es muy pequeña, entre 3 a 5 cc, esto sumado a su alta especificidad permite tener la oportunidad de iniciar un tratamiento específico y de manera oportuna. Además la amniocentesis es un procedimiento sencillo, ambulatorio, el cual puede ser realizado a partir de semana 14 de gestación, con riesgos mínimos tanto para el feto como para la madre³¹.

Sin embargo aún con la PCR, algunos casos de infección fetal no se identifican, probablemente por una transmisión tardía del *Toxoplasma* de la placenta al feto. Esto lleva a concluir que un diagnóstico prenatal negativo no excluye la posibilidad de una

infección congénita y por consiguiente, se enfatiza en la necesidad de no suspender el seguimiento del feto durante la gestación, y del niño posterior al nacimiento³².

BIBLIOGRAFÍA

1. Toxoplasmosis Congénita. Avances en diagnóstico y tratamiento. Folleto del Segundo Congreso Internacional de Toxoplasmosis. Santafé de Bogotá, 1998.
2. Jerum R. Incidence of *Toxoplasma gondii* infection in 35.940 pregnant women in Norway and pregnancy outcome for infected women. *J Clin Microbiol* 1998; 36(10):2900-2906.
3. Dubey JP. *Médical Microbiology*. Cuarta edición. <http://igsbs.utmb.edu/microbook/chO84.htm>
4. Robert ST, Frenkel JK. Estimating in come losses and other presentable costs caused by congenital toxoplasmosis in people in the United States. *JAMA* 1990; 196 (2):242-256.
5. Jenum P, Stray-Pedersen B. Developmont of Specific inmunoglobulins G, M, and A following primary *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *J Clin Microbiol* 1998; 36 (10): 2907-2913.
6. Gómez JE, Londoño MT de, Pérez JC, et al. Epiderniología de la infección por *Toxoplasma gondii* en gestantes de Armenia, Quind lo, Colombia. *Colomb Med* 1993; 24:14-18.
7. Chamorro C, HurtadoM, Aangél E. Toxoplasmosis, Aspectos clínicos radiológicos y parasitológicos. Presentación de 44 casos. *Colomb Med* 1 981; 12(2): 61.
8. Tsieh S. Toxoplasmosis. En: *Diagnostic Parasitology*. Primera edición. Nueva York: Igaku-Shoin Medical Publishers, 1988:73-81.
9. Toxoplasmosis. Diagnóstico. Memorias Segundo Congreso internacional de Toxoplasmosis. Santafé de Bogotá, 1998.
10. Atias A. Toxoplasmosis. En: *Parasitología Médica*. Primera edición. Mediterráneo, 1997:265-279.
11. Waiton BC, Arjona I, Benchofi BM. Relationship of *Toxoplasma gondii* antibodies to altitude. *Amer J Trop Med* 1966; 15:492-495.
12. Work K. Isolation of *Toxoplasma gondii* from the flesh of sheep swide and cattle. *Acta Path Micñol Scand B* 1967; 71: 296-306.
13. Juliao O, Corredor A, Moreno GS. Toxoplasmosis en Colombia. Estudio Nacional de Salud. Segunda edición Min. Salud, Instituto Nacional de Salud Asociación Colombiana de Facultades de Medicina. Colombia, 1988.
14. Van Druten H, Van Knapen F, Reintjes A. Epidemiologic implication of limited duration seroposivity after toxoplasma infection. *Am J Epidemiol* 1990; 132: 169-180.
15. Freyre A. Los ciclos de *Toxoplasma* inducidos por infección con carne y con ooquistes. Memorias Segundo Congreso Internacional de toxoplasmosis. Santafé de Bogotá, 1998:1-6.
16. Murray P, Kobayashi G, Pfalier M, Rosenthal K. *Toxoplasma gondii* en: *Microbiología Médica*. Segunda edición. Barcelona, España: Hamourt Brace 1997; 469-471.
17. Dubey JP, Frenkei Jk. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. *J Protozool* 1972; 19: 155-177.
18. Frenkei JK. Toxoplasmosis mechanisms of infection. Laboratory diagnosis and managment. *CurrTop Pathol* 1971; 54i 28-75-

19. Ambrois T, Pelloux H. Toxoplasmosis congénita, avances en el diagnóstico serológico y molecular. Memorias Segundo Congreso Internacional de toxoplasmosis. Santafé de Bogotá. 1998:19-23.
20. Decoster A. Serodiagnosis of acquired and congenital toxoplasmosis contribution of an UP30, marker of an evolutionary infection. Sanofi diagnosis Pasteur 27, 1992.
21. Thulliez P. Memorias Segundo Congreso Internacional de Toxoplasmosis. Santafé de Bogotá, 1998: 33-36.
22. Hedman K. Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. *J Inf Dis* 1989; 159:4.
23. Remington JS, McLeod R, Desmonts G. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. 4th Edition. Philadelphia, J S Remington & J o Kle n, 1995:140-267.
24. Daffos F, Mirlesse V, Hohifeld P, et al.. Toxoplasmosis in pregnancy. *Lancet* 1994; 344:541.
25. Hohifeld P, Mac Aleese J, Capella-Pavlovsky M, et al. Fetal toxoplasmosis ultrasonographic signs. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1991; 1: 242-244.
26. Desmonts G, Daffos F, Forestier F, et al. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Lancet* 1985; 1: 500-504.
27. Daffos F, Capella-Pavlovsky M, Forestier F. Fetal blood sampling during pregnancy with use of needle guided by ultrasound: a study of 606 consecutive cases. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 153:655-660.
28. Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*. 1987; 155:335-350.
29. Grover CM. Rapid prenatal diagnosis of congenital Toxoplasma infection by using polymerase chain reaction and amniotic fluid. *J Clin Microbiol*; 28:2297-2301.
30. Hohifeld P. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a polymerase-chain-reaction test on amniotic fluid. *N Engl J Med* 1994; 331: 695-699.
31. Grether P, Zavalero M, De la Luna E. Diagnóstico Prenatal en 350 amniocentesis. *Ginec Obst Mex* 1991; 59:317-322.
32. Thulliez P. Diagnóstico y manejo prenatal de la toxoplasmosis congénita. Memorias segundo congreso internacional de toxoplasmosis. Santafé de Bogotá, 1998:26-32