

## COMPARACION DE DOS METODOS SEROLOGICOS PARA EL DIAGNOSTICO DE TOXOPLASMOSIS

\*Adriana C. Santa Cruz Rodríguez

\*\*Doris E. Figueroa Vaca

\*\*Rioan R. Dalence Condori

### RESUMEN

La toxoplasmosis es una enfermedad causada por el parásito *Toxoplasma gondii*, capaz de transmitirse al feto con graves consecuencias. Para el diagnóstico de toxoplasmosis se detectan inmunoglobulinas G (IgG) y M (IgM). Debido a que por ELISA se obtiene un número excesivo de falsos positivos y negativos, en el Hospital Elizabeth Seton evaluamos la utilidad de los reactivos de ELISA para la detección de IgG e IgM frente a *Toxoplasma gondii* empleando como referencia la inmunofluorescencia (IF). Mediante ELISA e IF se determinó IgG en 146 e IgM en 142 sueros obtenidos de mujeres en edad fértil y embarazadas y niños atendidos de junio de 2004 a octubre de 2005 en la Caja Petrolera de Salud. Con los resultados obtenidos se determinó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) de la técnica de ELISA. La técnica de ELISA para IgG tiene sensibilidad: 75%; especificidad: 84%; VPP 64%; VPN 90%. Por ELISA no se detectó anticuerpos en un 25% de pacientes infectados y 16% eran falsos positivos; hay un 64% de probabilidad de que individuos con resultado positivo estén realmente afectados por la infección, y un 90% de probabilidad de que sujetos con seronegatividad sean realmente seronegativos. Para la IgM, ELISA tiene sensibilidad 40%; Especificidad 96%; VPP 71%; VPN 88%. Vale decir por ELISA no se detectaron 60% de infectados; y 4% resultaron falsos positivos; hay un 71% de probabilidad de que el paciente este realmente afectado y un 88% de probabilidad de que sea realmente seronegativo. Por lo tanto la técnica de ELISA tiene muy baja sensibilidad principalmente para IgM, parámetro que junto con la especificidad, VPP y VPN, deben considerarse al tiempo de hacer la interpretación de laboratorio y diagnóstico clínico.

**Palabras clave:** Toxoplasmosis, Serología, ELISA, IF, Sensibilidad, Especificidad

### ABSTRACT

The toxoplasmosis is an illness caused by the parasite *Toxoplasma gondii*, able to be transmitted to the fetus with serious consequences. For the toxoplasmosis diagnosis it is necessary to detect immunoglobuline G (IgG) and M (IgM). Because ELISA gives an excessive number of false positive and false negative, we evaluate the utility of ELISA reagents for IgG and IgM detection at Hospital Elizabeth Seton in order to compare with *Toxoplasma gondii* immunofluorescencia (IF) method used as reference. IgG (146 patients) and IGM (142 patients) were determined by ELISA and IF on serums from fertile age and pregnant women, and children consulted from June 2004 to October 2005 at Caja Petrolera de Salud. Sensibility, specificity and the predictive positive (VPP) and negative (VPN) values were determined for ELISA technique. ELISA sensibility for IgG is 75%; specificity 84%, VPP 64%; VPN, 90%. By ELISA it were not detected antibodies in 25% of infeted patients and in 16% they were false positive; there is 64% of probability that individuals with positive result been really affected by the infection and 90% of probability that subject with seronegativity been really seronegative. For the IgM; ELISA has sensibility of 40%, specificity of 96%, VPP, 71%, and VPN, 88%. That means that ELISA was not able to detect 60% of infected, and in 4% it was false positive; there was 71% of probability that the patient be really affected and 88% of probability that it be really seronegative. Therefore, the ELISA technique has very low sensibility mainly for IgM, parameter that together with the specificity, VPP and VPN, should be taken on count at the time of do the laboratory interpretation and clinical diagnostic.

**Key Words:** Toxoplasmosis, Serology, ELISA, IF, Sensibility, Specificity.

\* Magíster en Microbiología. Docente Facultad de Medicina UMSS

\*\* Bioquímica, Hospital Elizabeth Seton CPS

## INTRODUCCION

La toxoplasmosis es una enfermedad zoonótica, generalmente benigna en personas inmunocompetentes, causada por *Toxoplasma gondii* (T. gondii), el cual es un parásito intestinal de los felinos. La infección humana es frecuente, pero pocas veces produce síntomas. Cuando ocurre en la mujer embarazada existe el riesgo de transmisión al feto con diferentes consecuencias. Con el aumento de la población de inmunodeprimidos las formas graves son más frecuentes <sup>(1)</sup>.

Para el diagnóstico de toxoplasmosis en pacientes inmunocompetentes comúnmente se realizan los test serológicos de detección de inmunoglobulina G (IgG) y M (IgM) <sup>(2)</sup>. Una gran variedad de estas técnicas están siendo usadas para este propósito pero las mismas presentan diferente sensibilidad y especificidad. En la mayoría de los casos un título positivo para IgG es suficiente para establecer que el paciente ha sido infectado con T. gondii. Por el contrario debido a que los anticuerpos IgM pueden persistir por más de un año después de la infección aguda <sup>(3,4)</sup>, su valor más grande es que un resultado negativo indica que no se trata de una infección adquirida recientemente a no ser que el suero sea estudiado tempranamente y antes de que la respuesta haya sido desarrollada o sea indetectable.

Muchos kits comerciales (principalmente de ELISA) son utilizados para la detección de anticuerpos contra *Toxoplasma*. La mayoría de los estudios sobre anticuerpos IgM contra T. gondii han demostrado su utilidad, sin embargo un potencial problema con muchos reactivos es el excesivo número de resultados falsos positivos y negativos <sup>(5)</sup>. Debido a que el diagnóstico de toxoplasmosis en mujeres embarazadas frecuentemente se basa en la interpretación de las pruebas serológicas y usualmente en resultados obtenidos de una sola muestra de suero, la mala interpretación de un resultado positivo, especialmente en el test de anticuerpos IgM, puede conducir a conductas innecesarias como preocupaciones y aborto. En el Hospital Elizabeth Seton, el diagnóstico de toxoplasmosis también se realiza por serología. Tenemos mayor accesibilidad a la técnica de ELISA con los reactivos que llegan a nuestro medio. Por ello investigamos la utilidad de éste método para la detección de anticuerpos IgG e IgM. Empleamos como referencia la inmunofluorescencia, puesto que esta técnica y el test de Sabin -Feldman son los estándares con los que se comparan los otros métodos, aunque el último es llevado a cabo solo en algunos centros especializados en pocos lugares del mundo <sup>(6)</sup>.

Es por tanto el objetivo de este trabajo el de evaluar la utilidad de la técnica de ELISA para el diagnóstico de Toxoplasmosis en el Hospital Elizabeth Seton de la Caja Petrolera de Salud - Cochabamba.

## MATERIALES Y METODOS

Estudiamos un total de 146 sueros obtenidos de mujeres en edades fértiles y embarazadas y niños atendidos de junio del 2004 a octubre del 2005 en la Caja Petrolera de Salud. Se determinó IgG de las 146 muestras e IgM de 142 muestras (4 no se procesaron por falta de muestra)

Se emplearon dos técnicas:

a)ELISA (Técnica clásica) . Las muestras fueron procesadas de acuerdo a las instrucciones de los fabricantes. Para la evaluación un test de "Cutoff" provisto por los fabricantes fue incluido en cada corrida de muestras, con el que se obtuvo el punto de corte. Los valores de los controles y positivos negativos también provistos por los fabricantes fueron comparados con el valor del punto de corte para validar las corridas.

Para la determinación de IgG el "Cutoff" correspondió a un suero de 5 IU/ml de concentración; se emplearon 3: bajo, medio y alto con concentraciones de 30, 100 y 200 IU/ml respectivamente.

Para la determinación de IgM se calculó el "Cutoff" o punto de corte mediante una fórmula que compara los resultados de los controles positivos y negativo.

Sueros con valores mayores al punto de corte + 15 % fueron considerados positivos para IgG y positivos para IgM cuando resultaron mayores al punto de corte + 20 %.

Suero con valores menores al 85 % y 80 % del "Cutoff" o punto de corte fueron considerados negativos para IgG e IgM respectivamente.

b)Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).- Las muestras fueron procesadas de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Biocientífica S.A. Buenos Aires Argentina) de manera semicuantitativa haciendo diluciones. Se consideraron positivos los sueros en los que se observó una fluorescencia verde manzana en la periferia del parásito. En casos de ausencia total de fluorescencia se interpretaron los sueros como negativos para IgG o IgM.

## RESULTADOS

La precisión de los métodos fue evaluada empleando controles positivos y negativos en cada corrida.

Nosotros comparamos los resultados obtenidos por ELISA con los obtenidos por Inmunofluorescencia, este último empleado como referencia.

La sensibilidad fue definida como el porcentaje de muestras IgM e IgG positivas por IF que fueron identificadas como positivas por ELISA.

La especificidad fue definida como el porcentaje de muestras IgM e IgG negativas por IF que fueron identificadas como negativas por ELISA.

El valor predictivo positivo fue definido como la probabilidad de que un resultado positivo por ELISA podría ser positivo por IF.

El valor predictivo negativo fue definido como la probabilidad de que un resultado negativo por ELISA podría ser negativo por IF.

RESULTADO DE LA PRUEBA DE ELISA	RESULTADO DE LA IF		
	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
POSITIVO	30	17	47
NEGATIVO	10	89	99
TOTAL	40	106	146

**Tabla 1:** Comparación entre Prueba de ELISA e Inmunofluorescencia para la IgG.

Sensibilidad: 75 %

Especificidad: 84%

Valor predictivo positivo: 64%

Valor predictivo negativo : 90 %

RESULTADO DE LA PRUEBA DE ELISA	RESULTADO DE LA IF		
	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
POSITIVO	10	4	14
NEGATIVO	15	113	128
TOTAL	25	117	142

**Tabla 2:** Comparación entre Prueba de ELISA e Inmunofluorescencia para la IgM.

Sensibilidad: 40 %

Especificidad: 96%

Valor predictivo positivo: 71%

Valor predictivo negativo : 88 %

## CONCLUSIÓN Y DISCUSIÓN

Empleamos la IFI (Biocientífica S.S.) porque esta técnica presenta una sensibilidad y especificidad comparables con el patrón de referencia Sabin Feldman <sup>(7)</sup> considerada técnica de referencia para evaluar la validez de la técnicas de diagnóstico de infección por *T. gondii*. Para establecer la validez

determinamos la sensibilidad y especificidad de una técnica clásica ELISA para la detección de anticuerpos IgG e IgM contra *T. gondii*; con estos datos obtuvimos información acerca de la probabilidad de obtener un resultado concreto positivo o negativo en función de la verdadera condición del paciente con respecto a la infección. Mediante los cálculos de valores predictivos positivo y negativo establecimos la seguridad del mismo método.

En cuanto a la IgG mediante la técnica de ELISA se pudo detectar solo 75 % de muestras que fueron positivas por IFI. Es decir que un 25 % de pacientes con anticuerpos IgG contra *T. gondii* (detectados por IFI) resultaron seronegativos por ELISA. Por otro lado establecimos que solo el 84 % de individuos seronegativos (establecido por IFI) resultaron IgG negativos quedando unos 16 % como falsos positivos.

Hay un 64% de probabilidad de que un resultado positivo por ELISA sea positivo por IF, vale decir 64% de probabilidad de que individuos con resultado positivo por el test de ELISA estén realmente afectados por la infección; y un 90% de probabilidad de que un resultado negativo por ELISA sea negativo por IF o dicho de otra manera un 90 % de probabilidad de que sujetos con seronegatividad sean realmente seronegativos.

Con referencia a la IgM, la técnica de ELISA tiene una sensibilidad del 40%, es decir que de 100 pacientes seropositivos (por IFI) se detecta sólo 40 por ELISA, quedando 60 como falsos negativos; con una especificidad de 96 % solo queda un 4% de casos que pueden resultar en falsos positivos. Se estableció que hay un 71% de probabilidad de que el resultado positivo hallado por ELISA sea positivo por IFI, es decir que el paciente este realmente afectado. También se concluyó que hay un 88 % de probabilidad de que pacientes seronegativos por ELISA sean realmente seronegativos (por IFI).

Lo que llama la atención es la baja sensibilidad y especificidad que encontramos con la técnica de ELISA, y la probabilidad de falsos positivos y negativos. Situación más compleja con la determinación de IgM que tiene una sensibilidad menor al 50 %. Esto concuerda con hallazgos en otras partes del mundo al comparar diferentes métodos y dentro de ellos variantes. Para explicarnos estas discrepancias creemos necesario continuar con los estudios y emplear un patrón que permita definir la enfermedad y relacionar con el diagnóstico por serología. Sin embargo los datos hallados deben considerarse al momento de evaluar los resultados de laboratorio cuando se hace el diagnóstico clínico, para no tomar conductas terapéuticas innecesarias, principalmente durante el embarazo.

BIBLIOGRAFIA

1. MURRAY P.R. ROSENTHAL K.S. and PFALLER M.A. Microbiología Médica. Ed Elsevier. Madrid España. Quinta Edición. 2006: 868.
2. REMINGTON J.S., MC LEOD, and DESMONT G. Toxoplasmosis, p: 140-243. En: Remington J.S. and Klein J.O. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 1995. W.B. Saunders Co. Philadelphia.
3. BOBIC, B., D. SIBALIC, and O. DJURKOVIC-DJAKOVIC. 1991. High levels of IgM antibodies specific for *Toxoplasma gondii* in pregnancy 12 years after primary toxoplasma infections. Gynecol, Obste. Invest. 31: 182-184.
4. DEL BONO, V., A. CANESSA, P. BRUZZI, M.A. FIORELLI, and A. TERRAGNA. 1989. Significance of specific immunoglobulin M in the chronological diagnosis of 38 cases of toxoplasmica lymphadenopathy. J. Clin. Microbiol. 27:2133-2135.
5. ASHBURN D., EVANS R., SKINNER L.J., CHATERTON A.W., JOSS L. and HO-YEN D.O. 1992. Comparison of relative uses of comercial assays for *Toxoplasma gondii* IgM antibodies. J. Clin. Pathol. 45:483-486.
6. FRITSCH T., and SMITH H. Parasitología Médica. En: Bernard H.J. El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. Ed. Marban. 10ª edición. España. 2003: 1210.
7. PETITHORY, J.C. REITER - OWONA I., BERTHELOT F., et. Al. 1996. Performance of European Laboratories testing serum samples for *Toxoplasma gondii*. Eur.J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 15:45-49.