

Valor diagnóstico de la medición de IgG, IgM e IgA anti-toxoplasma en pacientes infectados por VIH

Jorge Enrique Gómez Marín^{1,2}, Augusto Corredor¹, Martha Murcia³, Myriam Consuelo López¹, Fernando Alvarado⁴, Ivonne Anzola⁴, Jaime Saravia⁴

Resumen

Objetivo: Determinar el valor diagnóstico de las pruebas serológicas IgG, IgM e IgA anti-*Toxoplasma* en suero de pacientes con y sin toxoplasmosis cerebral. **Población:** 13 pacientes infectados por HIV con toxoplasmosis cerebral (TC) y 17 pacientes infectados por VIH sin TC (8 asintomáticos y 9 con otras enfermedades). **Metodología:** Se utilizó la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta para IgG anti-*Toxoplasma* (IFI-IgG) y la prueba de ISAgA para estudiar IgM e IgA anti-*Toxoplasma*. **Resultados:** La prueba IFI-IgG fue positiva en el 100% de los casos con TC y el nivel de los títulos fue mayor en los pacientes con TC que aquellos sin TC (Mediana 2048 vs 64; p 0,01).

La prueba ISAgA IgM fue positiva en 7 de 13 casos de TC y en 2 de 17 sin TC. La mediana del puntaje de IgM en pacientes con TC fue de 6 y de 0 en pacientes sin TC (p 0,011). La IgA fue positiva en 11 de 13 casos con TC y en 4 de 17 casos sin TC. La mediana del puntaje de IgA en pacientes con TC fue de 9 y de 0 en pacientes sin TC (p 0,011). **Conclusiones:** Estos datos sugieren que los niveles de IgG y la presencia de IgM e IgA anti-*Toxoplasma* son marcadores valiosos para el diagnóstico de una TC. **Palabras claves:** Toxoplasmosis, toxoplasmosis cerebral, VIH, ISAgA, infecciones oportunistas. 🌐

Introducción

La toxoplasmosis cerebral (TC) es la principal causa de lesiones neurológicas en los pacientes infectados por el VIH (1). Su diagnóstico es de crucial importancia pues el tratamiento es altamente efectivo si es tratada a tiempo. En un estudio reciente se encontró que la prevalencia de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma* en pacientes colombianos es de 63%, lo cual demostró la alta exposición a *Toxoplasma* en la población de inmunosuprimidos y la necesidad de enfatizar la profilaxis primaria y secundaria para esta infección (2). De otra parte, la TC fue la primera manifestación de infección

por VIH en 66% de los pacientes que consultaron al Hospital San Juan de Dios de Santafé de Bogotá (3). El tratamiento llevó a la mejoría en 13 casos (73%) y la mortalidad fue del 27%. La TC en nuestra población es una complicación frecuente a pesar de contar con profilaxis antibiótica (3).

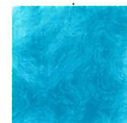
La sintomatología en los pacientes con TC es variada y puede consistir en hemiparesia, alteración del estado mental o convulsión. El diagnóstico de TC se basa en la presencia de hallazgos clínicos y radiológicos. Sin embargo,

¹ Unidad de Parasitología, Departamento de Salud Pública y Tropical e Instituto de Salud en el Trópico, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá D.C. Colombia

² Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad del Quindío, Armenia

³ Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá D.C. Colombia

⁴ Unidad de Infectología, Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá D.C. Colombia.



los hallazgos de los estudios radiológicos no siempre esclarecen el diagnóstico y de otra parte los linfomas primarios de cerebro no pueden ser distinguidos de TC por estos métodos. En la práctica la confirmación diagnóstica se basa en una respuesta favorable al tratamiento específico. Aunque los estudios serológicos han sido menos utilizados, hay investigaciones recientes sobre la respuesta humoral específica que indican que estos pueden aportar datos valiosos para el diagnóstico y pronóstico de la TC (2, 4, 5). El interés de los estudios serológicos reside en el hecho de que pueden permitir un diagnóstico precoz. Los estudios radiológicos revelan daños ya existentes mientras que los niveles altos de IgG pueden encontrarse varios meses antes al desarrollo de dicho daño (5).

El objetivo del presente trabajo fue determinar el valor diagnóstico para el evento de toxoplasmosis cerebral, de la medición de los isotipos IgG, IgM e IgA anti-*Toxoplasma* en pacientes con infección por VIH.

Materiales y métodos

Pacientes

Se estudiaron un total de 30 pacientes del programa de VIH/SIDA de quienes se recolectaron muestras de suero. Se obtuvo el consentimiento para participar en el estudio y se diligenció un formato de historia clínica en el cual se consignó la siguiente información: identificación, datos clínicos, síntomas al ingreso y enfermedades infecciosas previas. Todos los pacientes estudiados tuvieron serología positiva para VIH por ELISA y confirmatoria por Western blot para VIH-1.

Pacientes con Toxoplasmosis Cerebral

Con el fin de evaluar el valor diagnóstico de las pruebas utilizadas, se recolectaron sueros de 13 casos confirmados de TC. Los criterios de inclusión para TC que se consideraron fueron la presencia de una o más masas o abscesos cerebrales en la Tomografía Axial Computadorizada (TAC) o la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y que disminuyeron de tama-

ño, o presentaron una mejoría clínica luego de 7 a 14 días de tratamiento específico apropiado.

Pacientes sin Toxoplasmosis Cerebral

Como controles se tomaron sueros de 17 pacientes igualmente infectados por VIH pero sin TC. En 8 casos se trataba de pacientes infectados por VIH y asintomáticos y en 9 casos con síntomas de enfermedades de estadios B y C: herpes zoster (1 caso), neumocistosis (1 caso), tuberculosis (2 casos), criptococosis (1 caso), enfermedad constitucional (1 caso), diarrea crónica (2 casos), dermatitis eosinofílica (1 caso),

Técnicas serológicas

Prueba de Inmunofluorescencia Indirecta para IgG

Se utilizó la técnica de IFI (Inmunofluorescencia Indirecta) para estudiar la frecuencia de IgG anti-*Toxoplasma* según los métodos del Instituto Nacional de Salud (6). Brevemente, taquizoitos de *Toxoplasma gondii* son obtenidos del exudado peritoneal de ratones y fijados con formaldehído sobre láminas de vidrio. Se prueban diluciones al doble del suero, las cuales se incuban durante 1 hora y son lavadas dos veces con solución de fosfato salina 150 mM (pH 7.2) y luego incubadas con el conjugado de isotiocinato de fluoresceína (Fluoline H, Biomérieux) diluido 1:320. El resultado de una prueba por IFI-IgG es considerado reactivo cuando aparecía una fluorescencia que rodeaba por entero el parásito a partir de una dilución del suero en 1:16.

Método de ISAgA para IgM e IgA anti-*Toxoplasma*

La técnica ISAgA (ImmunoSorbent Agglutination Assay) fue utilizada para estudiar la frecuencia de IgM e IgA anti-*Toxoplasma*. Esta prueba se realizó utilizando un estuche comercial (Biomérieux) y se siguieron los procedimientos recomendados por el fabricante. En resumen, el estuche viene con microplacas de fondo redondo sensibilizadas con un anticuerpo monoclonal anti-IgA. En cada pozo se colo-

can 100 µl de la dilución del suero (1/100) y se incuban a 37°C durante 2 horas. Las placas se lavaron con PBS-tween 0,5 % por 3 veces y, luego de secar, se distribuyó el antígeno (taquizoítos formalizados de la cepa RH de *T. gondii*) diluido 1:10 en PBS (bioMérieux, France). En el primer pozo se distribuyó 100 µl del antígeno diluido (conteniendo $1,5 \times 10^6$ taquizoítos), en el segundo 150 µl (conteniendo 2×10^6 taquizoítos) y en el tercero 200 µl (conteniendo $2,5 \times 10^6$ taquizoítos). Las microplacas se dejaron en reposo durante 18 horas en cámara húmeda. La lectura se hizo visualmente. El puntaje se adjudicó a cada pozo entre 0 (sedimentación completa con formación de un punto de aglutinación) y 4 (formación de un tapiz recubriendo el fondo del pozo sin punto de aglutinación). El puntaje total para cada suero se reportó de acuerdo al resultado de la adición de las cruces de aglutinación en los tres pozos. Este varía entre 0 (ausencia de aglutinación) y 12 (cuatro cruces de aglutinación en los tres pozos). El punto de corte para considerar un suero con IgM o IgA anti-*Toxoplasma* positivo fue a partir de cinco cruces (luego de adición de los tres pozos).

Pruebas y análisis estadísticos

Los datos fueron tabulados en una base Excel y se exportaron para análisis al paquete estadístico Epi-info versión 6.04 (CDC 1996). Se estableció la mediana de resultados y se realizaron pruebas no paramétricas para determinar el significado estadístico de las diferencias entre los resultados de las pruebas en los pacientes con toxoplasmosis cerebral y sin toxoplasmosis cerebral.

Resultados

Prueba IFI- IgG

La prueba IFI-IgG fue reactiva en los 12 pacientes con TC en quienes se realizó (100%). En un caso no hubo cantidad suficiente para hacer la prueba IFI-IgG. En los pacientes de TC la mediana de la inversa de los títulos fue de 2048 y en aquellos sin TC fue de 64. En la Figura 1 se muestra un diagrama en bigotes que compara las medianas y percentiles en cada caso. La diferencia entre ambas media-

nas fue estadísticamente significativa (Prueba de Mann Whitney 5,8 p=0,015). Los valores reales de sensibilidad, especificidad y otros de valor diagnóstico no se pueden establecer con certeza por que un resultado no se conoce.

Valor diagnóstico para toxoplasmosis cerebral de la prueba ISAgA IgM

La totalidad de resultados obtenidos y su distribución se muestran en la Figura 2. En los pacientes de TC la mediana de los resultados en puntos fue de 6 y en aquellos sin TC fue de 0. La diferencia entre las medianas fue estadísticamente significativa (Prueba de Mann-Whitney= 6,3 p 0,011). Las propiedades diagnósticas de la prueba se muestran en la tabla 1.

Valor diagnóstico para toxoplasmosis cerebral de la prueba ISAgA IgA

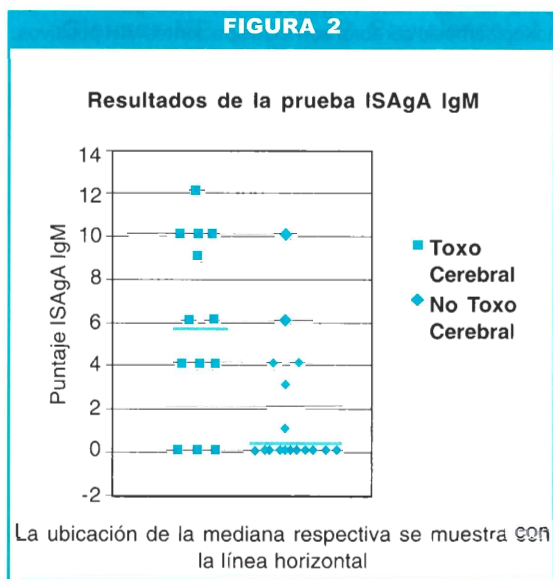
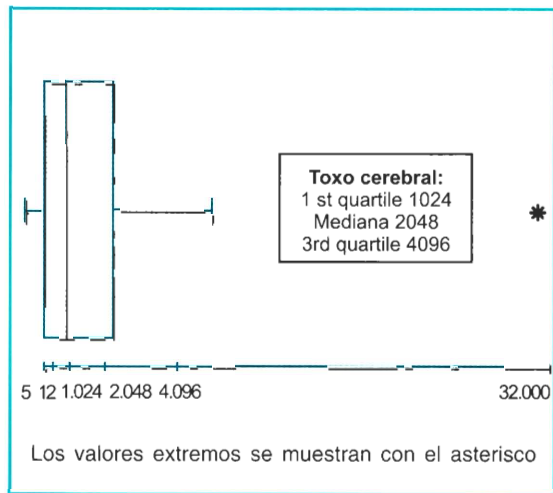
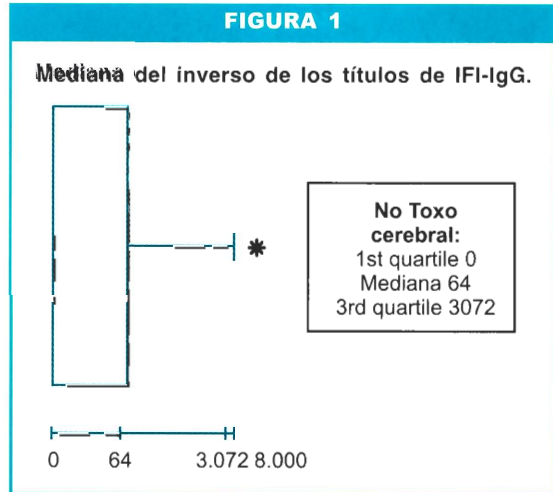
La totalidad de resultados obtenidos y su distribución se muestran en la Figura 3. En los pacientes de TC la mediana de los resultados en puntos fue de 9 y en aquellos sin TC fue de 0. La diferencia entre las medianas fue estadísticamente significativa (Prueba de Mann Whitney= 6,3 p 0,011). Las propiedades diagnósticas de la prueba se muestran en la tabla 2.

Discusión

Nosotros hemos analizado diferentes aspectos de los resultados de las pruebas que miden IgG, IgM e IgA anti-*Toxoplasma* en pacientes infectados por VIH con y sin TC. Nuestros resultados demuestran que existen diferencias significativas. De una parte estas pruebas son positivas con mayor frecuencia en los pacientes con síntomas de TC. A escala cuantitativa también se observan diferencias y se encuentran niveles netamente mayores de estas inmunoglobulinas en los pacientes con TC. Esto demuestra que las IgG, IgM e IgA anti-*Toxoplasma* son marcadores importantes de la condición de padecer una TC en los pacientes con infección por VIH. Los hallazgos sobre el valor diagnóstico de la IgG son totalmente similares a los resultados de otros grupos. Estudios de

grandes series tanto en Alemania (4) como en Francia (7, 8, 9) y EE.UU. (10) han demostrado que se encuentran niveles más altos de IgG (>150 U.I.) en la población infectada por VIH con TC que en la población VIH sin TC. Nuestros hallazgos confirman estos resultados. Así, la respuesta humoral no se encuentra afectada (por lo menos a nivel cuantitativo) en estos pacientes, y al contrario se encuentran niveles importantes de IgG, IgM o IgA específicas.

En nuestra población, el hecho de hallar IgM en 53% de los casos de TC contrasta con hallazgos de otros trabajos que utilizaron la misma técnica de inmunocaptura para detectarla. En un estudio mexicano se encontró en un caso de 91 estudiados (11). En otro estudio suizo se encontró en sólo 2 de 47 casos (6%) con TC (12). Donde se encontró con mayor frecuencia fue en el estudio francés en el cual se halló en 12% (5). En pacientes sin TC nosotros la hallamos en 12%, mientras que en un estudio inglés se halló en 1% (13) y en el estudio francés multicéntrico de 318 pacientes se halló IgM en 5% de estos pacientes asintomáticos (5). Pensamos que la mayor frecuencia de inmunoglobulinas específicas en este grupo de pacientes puede deberse a características intrínsecas de las cepas colombianas de *Toxoplasma*, pues se utilizaron las mismas técnicas serológicas. Se ha encontrado en estudios previos que los pacientes colombianos tienen persistencia mayor de isotipos de inmunoglobulinas específicas en toxoplasmosis comparados con pacientes europeos (13,14,15). Estos resultados se lograron incluso realizando la medición de estas inmunoglobulinas en un laboratorio en Francia (16), lo cual permite descartar algún problema en la técnica serológica o su interpretación. Sobre este problema se han lanzado algunas hipótesis inmunológicas involucrando el equilibrio de citoquinas T1/T2 (17). La IgA anti-*Toxoplasma* también se halló en mayor frecuencia (84% de los casos con TC y en 24% sin síntomas de TC) que en otros estudios. En el estudio multicéntrico francés (5) las pruebas por inmunocaptura de IgA fueron positivas en 48% de los casos y su aparición precedió los síntomas clínicos entre 1 y 17 meses



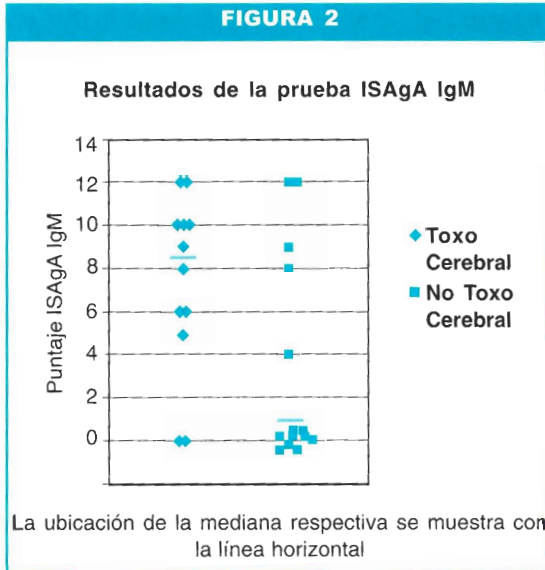


TABLA 1

Propiedades diagnósticas de la prueba ISAgA IgM para toxoplasmosis cerebral

	Toxo cerebral	No Toxo cerebral	
IgM (+)	7	2	9
IgM (-)	6	15	21
	13	17	30

Sens= 53% Esp= 88%

VP(+)= 77%
VP(-)= 71%

VP: Valor predictivo; Sens: Sensibilidad; Esp: Especificidad.

Razón de probabilidades para un resultado positivo= 4,5 y para un resultado negativo = 0,5. Los pacientes sin toxoplasmosis cerebral son todos pacientes VIH positivos.

TABLA 2

Propiedades diagnósticas de la prueba ISAgA IgA para toxoplasmosis cerebral

	Toxo cerebral	No Toxo cerebral	
IgA (+)	11	4	15
IgA (-)	2	13	15
	13	17	30

Sens= 84% Esp= 76%

VP(+)= 73%
VP(-)= 86%

VP: Valor predictivo; Sens: Sensibilidad; Esp: Especificidad. Razón de probabilidades para un resultado positivo = 3,59 y para un resultado negativo = 0,2. Los pacientes sin toxoplasmosis cerebral son todos pacientes VIH positivos.

(promedio 3,6 meses), lo cual indicó reactivación periférica del *T. gondii*. En el estudio suizo la IgA se halló en 18% de los casos con TC (12). En casos sin TC, el estudio francés halló 11,7% (5) y un estudio Inglés 5% (13). Así pues, nuestros datos sobre frecuencia de IgM e IgA anti-*Toxoplasma* muestran la relevancia de estudios regionales cuando se pueden descartar problemas técnicos o de interpretación y demuestran como puede variar la utilidad de una prueba de un sitio geográfico a otro. Esto da pie a la realización de estudios que profundicen en los mecanismos de estas variaciones.

En conclusión, nuestros datos demuestran la utilidad de la medición de la IgG, IgM e IgA anti-*Toxoplasma* como apoyo diagnóstico y al mismo tiempo señalan la presencia de cambios inmunológicos que pueden ser importantes en el desarrollo de la TC. 🌐

Abstract

Objective: To determine the diagnostic value of serological tests for IgG, IgM and IgA anti-*Toxoplasma* in patients with cerebral toxoplasmosis. **Population:** 13 patients HIV infected with cerebral toxoplasmosis (CT) and 17 patients HIV infected without CT (8 asymptomatics and 9 with other manifestations). **Methodology:** Immunofluorescence Indirect Antibody Assay for IgG anti-*Toxoplasma* (IFA-IgG) and ISAgA for IgM and IgA anti-*Toxoplasma*. **Results:** IFA-IgG was positive in 100% of cases with CT and titers were greater in patients with CT than in those without CT (Me 2048 vs Me 64; p 0,01). ISAgA IgM assay was positive in 7 of 13 cases with CT and in 2 of 17 without CT. Median of IgM results in patients without CT was 6 and 0 in patients without TC (p 0,011). IgA was positive in 11 of 13 cases with CT and in 4 of 17 cases without CT. Median of IgA results in patients with CT was 9 and 0 in patients without CT (p 0,011). **Conclusions:** The results suggest that measure of specific IgG, IgM and IgA anti-*Toxoplasma* are useful markers for the diagnosis of CT. **Key words:** Toxoplasmosis, cerebral toxoplasmosis, HIV, ISAgA, opportunistic infections.

Referencias

1. **Frenkel JK.** Toxoplasmosis in human beings. *JAMA* 1990; 196: 240-248
2. **Gómez Marín JE, Corredor A, Murcia M, López MC, Alvarado F, Anzola I, Saravia J.** Evaluación de la respuesta humoral contra *Toxoplasma gondii* en pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana. Resumen 2.3. Cuarto Congreso Colombiano de Infectología. *Infectio* 1999; 3:35
3. **Alvarado F, Hernández C, Cuervo S, Damian J, Saravia J, Gómez JE.** Toxoplasmosis cerebral en el Hospital San Juan de Dios, Santafé de Bogotá. Resumen C1 Cuarto Congreso Colombiano de Infectología. *Infectio* 1999; 3: 35
4. **Hellerbrand C, Goebel FD, Disko R.** High predictive value of *Toxoplasma gondii* IgG antibody levels in HIV-infected patients for diagnosis of cerebral toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15: 869-72
5. **Pinon JM, Foudrinier F, Mougeot G, Marx C, Aubert D, Toupance O, Niel G, Danis M, Camerlynck P, remy G, Frottier J, Jolly D, Bessieres MH, Richard-lenoble D, Bonhomme A.** Evaluation of risk and diagnostic value of quantitative assays for anti-*Toxoplasma gondii* Immunoglobulin A (IgA), IgE and IgM and analytical study of specific IgG in immunodeficient patients. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 878-884
6. **Instituto Nacional de Salud.** Manual de Técnicas de Laboratorio. Bogotá: Imprenta Ministerio de Salud de Colombia, 1981: 112-118.
7. **Belanger F, Derouin F, Grangeot-Keros L, Meyer L.** Incidence and risk factors of toxoplasmosis in a cohort of human immunodeficiency virus-infected patients: 1988-1995. HEMOCO and SEROCO Study Groups. *Clin Infect Dis* 1999; 28:575-81
8. **Derouin F, Leport C, Pueyo S, Morlat P, Letrillart B, Chene G, Ecobichon JL, Luft B, Aubertin J, Hafner R, Vilde JL, Salamon R.** Predictive value of *Toxoplasma gondii* antibody titres on the occurrence of toxoplasmic encephalitis in HIV-infected patients. ANRS 005/ACTG 154 Trial Group. *AIDS* 1996; 10:1521-7
9. **Raffi F, Aboulker JP, Michelet C, Reliquet V, Pelloux H, Huart A, Poizot-Martin I, Morlat P, Dupas B, Mussini JM, Leport C and the BIOTOXO Study Group.** A prospective study of criteria for the diagnosis of toxoplasmic encephalitis in 186 AIDS patients. *AIDS* 1997; 11: 177-184
10. **Israelski DM, Chmiel JS, Poggensee L, Phair JP, Remington JS.** Prevalence of *Toxoplasma gondii* in a cohort of homosexual men at risk of AIDS and toxoplasmic encephalitis. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1993; 6: 414-418.
11. **Gongora-Biachi RA, González-Martínez P, Castro-Sansores C, Álvarez-Moguel R, Pavia-Ruz N, Lara-Pererá D, Alonzo-Salomon G, Palacios-Pérez E.** Anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en pacientes con HIV en Yucatan. *Rev Invest Clin* 1998; 50:419-22
12. **Zufferey J, Sugar A, Rudaz P, Bille J, Glauser MP, Chave JP.** Prevalence of latent toxoplasmosis and serological diagnosis of active infection in HIV-positive patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993; 12:591-5
13. **Holliman RE.** Serological study of the prevalence of toxoplasmosis in asymptomatic patients infected with human immunodeficiency virus. *Epidemiol Infect* 1990; 105:415-8.
14. **Montoya MT, Gómez JE, Castañó JC, Marx C, Aubert D, Bonhomme A, Pinon JM.** Avances diagnósticos en Toxoplasmosis. *Acta Médica Colombiana* 1996; 21:127-138

15 Montoya MT, Gómez Marin JE, Loango N, Castaño JC, Marx C, Foudrinier F, Aubert D, Bonhomme A, Pinon JM. Utilidad de dos pruebas serológicas para IgA humana antitoxoplasma como pruebas de referencia para toxoplasmosis materna reciente. *Acta Médica Colombiana* 1998; 23:275-282

16 Gómez Marín JE, Montoya MT, Castaño JC, Alvarado F, Duque AM, Marx C,

Aubert D, Bonhomme A, Pinon JM. Frequency of specific anti-*Toxoplasma gondii* IgM, IgA and IgE in Colombian patients with acute and chronic ocular toxoplasmosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000; 95:89-94

17 Gómez JE, Pinon JM, Bonhomme A, Guenounou M. Does human toxoplasmosis involve an imbalance in T1/T2 cytokines? *Medical Hypotheses* 1997; 48: 161-169