

Determinación de anticuerpos IgG contra *Toxoplasma gondii* en neonatos de la Sala de Neonatología del Hospital General Universitario "Vladimir Ilich Lenin", Holguín

Determination of anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies among neonates from the neonatology ward at Vladimir Ilich Lenin General University Hospital in Holguín

Lic. Yordana Goya Batista,^I Dr. Rolando Sánchez Artigas,^I MSc. Dailín Cobos Valdes,^I MSc. Dra. Beatriz Pérez Driggs,^{II} Téc. Onidia Santiesteban,^{II} Lic. Antonio Miranda Cruz^I

I Centro de Inmunología y Biopreparados (CIBHO). Holguín, Cuba.

II Hospital General Universitario "Vladimir Ilich Lenin". Holguín, Cuba.

RESUMEN

Introducción: la infección por *Toxoplasma gondii* en niños puede ser congénita o adquirida. La infección del feto se produce cuando la madre tiene el primer contacto con el parásito durante la gestación, por lo que debe considerarse como una fuente potencial de infección al feto durante este período.

Objetivos: demostrar la presencia de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* en neonatos.

Métodos: se analizaron 30 muestras de sueros de niños recién nacidos asistidos en el Servicio de Neonatología del Hospital General Universitario "Vladimir Ilich Lenin". El comportamiento serológico de esta infección se determinó por la presencia de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* a través de la técnica de inmunofluorescencia indirecta.

Resultados: 23,3 % de las muestras resultaron positivas, corroborando la circulación del parásito y su contacto con este grupo de riesgo.

Conclusiones: se sugiere la necesidad del cumplimiento del programa establecido en Cuba para esta zoonosis en este grupo poblacional.

Palabras clave: anticuerpos IgG, toxoplasmosis, recién nacidos.

ABSTRACT

Introduction: *Toxoplasma gondii* infection in children may be either congenital or acquired. Fetal infection occurs when the mother has her first contact with the parasite during pregnancy. Therefore, this event should be viewed as a potential source of infection for the fetus during this period.

Objectives: determine the presence of anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies in neonates.

Methods: Thirty serum samples were analyzed from newborns cared for at the Neonatology Service of Vladimir Ilich Lenin General University Hospital. Serologic behavior of the infection was determined by the presence of anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies, using the indirect immunofluorescence technique.

Results: 23.3% of the samples were positive, confirming the circulation of the parasite and its contact with this risk group.

Conclusions: it is suggested that the Cuban program for this zoonosis in the population group under study be complied with.

Key words: IgG antibodies, toxoplasmosis, newborns.

INTRODUCCIÓN

Toxoplasma gondii es un parásito intracelular obligado causante de la toxoplasmosis, una de las zoonosis parasitarias más difundidas en el mundo. Una de las características más importantes de esta infección es su distribución universal, en todos los climas y en todos los grupos de animales de sangre caliente (mamíferos y aves).¹⁻⁴ La toxoplasmosis es usualmente asintomática en hospederos inmunocompetentes pero puede causar severas consecuencias en el feto y en hospederos inmunocomprometidos. La infección materna por *Toxoplasma gondii* adquirida durante el embarazo puede resultar en una infección congénita con secuelas serias en el periodo neonatal o años después del nacimiento.^{5,6} Si el parásito es transmitido al feto, puede originar aborto, muerte neonatal y anomalías fetales tales como hidrocefalia, retinocoroiditis y retardo mental.¹ La incidencia de la toxoplasmosis congénita sería directamente proporcional al número de mujeres que se infectan con *Toxoplasma gondii* durante el embarazo. La mayoría de estas infecciones son asintomáticas en el momento del nacimiento (75 a 80 %), sin embargo, casi todos estos casos presentarán secuelas durante su vida, principalmente oculares y a nivel del sistema nervioso central (SNC). La enfermedad en el recién nacido es la menos frecuente, pero es la más severa y las manifestaciones clínicas dependen, entre otras causas, de la edad gestacional a la que se adquiere la infección.

Las manifestaciones clínicas en los niños recién nacidos van desde la típica tríada de Sabin (coriorretinitis, hidrocefalia y retardo psicomotor) a un cuadro visceral (hepatoesplenomegalia, ictericia) o similar a la sepsis totalmente inespecífica. El 75 % son asintomáticos al nacer y en estudios a largo plazo se ha demostrado que sin una terapia adecuada 75 % desarrollará coriorretinitis y 50 % sufrirá daños neurológicos años o décadas después. Estudios han demostrado que el desarrollo neurológico y las secuelas oculares son mucho menores en los niños tratados por un año que en aquellos sin tratamiento o tratados por solo un mes. Niños con compromiso

neurológico y ocular importantes al nacer muestran una mejoría notoria con tratamiento adecuado.^{4,7-9}

En Cuba, estudios epidemiológicos permiten estimar conservadoramente que cada año entre 500 y 600 mujeres se primoinfectan y que alrededor de 250 niños nacen infectados por este parásito, aunque en el momento del nacimiento solo un pequeño número de ellos presente evidencias clínicas de la infección.¹⁰ En Holguín no se han realizado estudios recientes sobre este fenómeno. Debido a que los neonatos constituyen un grupo de riesgo de esta enfermedad, se persigue demostrar la presencia de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* en neonatos asistidos en la Sala de Neonatología del Hospital "Vladimir Ilich Lenin" mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI).

MÉTODOS

El universo de estudio estuvo constituido por 72 niños recién nacidos que fueron asistidos en el Servicio de Prematuros del Hospital General Universitario. "V. I. Lenin" de Holguín.

Recolección de los datos

Se organizó una visita al Servicio de Prematuros del Hospital General Docente Universitario. "V. I. Lenin", en el mes de septiembre del 2011, a partir de la cual se inició la investigación, que fue aprobada por el Comité de Ética y Consejo Científico del CIBHO y diseñada de acuerdo con los parámetros para estudios en humanos estipulados por la Declaración de Helsinki.

De un universo de 72 muestras de sueros provenientes de niños recién nacidos de la sala de neonatología del Hospital General Universitario. "V. I. Lenin", de Holguín, se seleccionaron 30 muestras de suero empleando el método de una población finita con un error máximo permitido y una confiabilidad prefijada, en este caso el error máximo permitido fue igual a 1 y la confiabilidad de 95 %, para el tamaño de muestra utilizado. El tipo de muestreo fue probabilístico, con criterios de selección aleatoria. Se realizó un cuestionario para recoger información básica como procedencia, sintomatología y prematuridad. Además antes de realizar la pesquisa para determinar anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, se tomó el consentimiento informado de los padres o tutores para la realización del estudio.

Recolección de la muestra

Las muestras de sangre fueron obtenidas por extracción de sangre capilar y centrifugadas a 2 500 rpm por 5 min, posteriormente los sueros fueron congelados a -20 °C, hasta el momento de ser procesados.

Técnica serológica empleada

La determinación de anticuerpos se realizó a través de la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Se consideraron como reacciones positivas diluciones superiores 1/16.

Se empleó para ello anti-IgGh conjugada con isotiocianato de fluoresceína de la marca comercial SIGMA, Lote 106k6035 y como sustrato antigénico una suspensión de taquizoítos de la cepa RH obtenidos a partir de un cultivo en células Vero a una

concentración de 35×10^6 , donada por el Laboratorio de Referencia Nacional para la Toxoplasmosis del Instituto "Pedro Kourí". La dilución de trabajo para el conjugado fue de 1:32 y para la muestra de 1:16. Como controles negativos, pool de sueros certificados, y como controles positivos, pool de sueros certificados con título 1:16.

Se tuvo en consideración, además, todas las regulaciones en materia de seguridad biológica implementadas en el CIBHO para la manipulación de este tipo de muestras.

Montaje de la técnica

En láminas AuBIO, de 10 pocillos fueron fijados 10 μ L de taquizoítos inactivados de la cepa RH con una concentración de 1×10^6 parásitos por campo. Se colocaron las muestras de suero de los pacientes en orden según protocolo y se les realizó una dilución de 1:16 en una solución de cloruro de sodio al 0,9 %. Se realizó una primera incubación en cámara húmeda por 30 min a 37 °C, posteriormente 2 lavados de 10 min con PBS al 1X y el secado de las láminas se realizó a temperatura ambiente.

Se depositaron en cada pocillo 10 μ L de la dilución de trabajo del conjugado anti-IgG. Las láminas fueron incubadas durante 30 min a 37 °C, se realizaron 2 lavados de 10 min cada uno con PBS al 1X, se secaron a temperatura ambiente, se les adicionó glicerol al 1 % en PBS 1X y se les colocó un cubreobjetos. Las láminas se observaron en un microscopio de fluorescencia marca Olympus, con objetivo 40X.

RESULTADOS

De las 30 muestras de suero estudiadas, 7 resultaron positivas, lo que representó un 23,3 % de positividad ([tabla 1](#)). Todas estas muestras correspondieron a niños que presentaban los siguientes síntomas: ictero, anemia, distrés respiratorio y hepatoesplenomegalia.

Tabla 1. Comportamiento serológico de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* en neonatos

Muestras	Cantidad	%
Positivas	7	23,3
Negativas	23	76,7
Total	30	100

La [tabla 2](#) muestra que de los sueros positivos, la mayor cifra correspondió a los niños de procedencia rural (33,3 %).

Tabla 2. Comportamiento serológico de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* en neonatos según procedencia

Procedencia	Cantidad	Positivas	%
Rural	12	4	33,3
Urbana	18	3	16

DISCUSIÓN

La toxoplasmosis adquirida durante el embarazo es responsable de más defectos congénitos que el herpes, la rubeola y la sífilis juntos y es más común e insidiosa de lo que hasta ahora han creído médicos e investigadores. Esta enfermedad es generalmente subvalorada en la atención a la embarazada.

De los resultados obtenidos, se puede afirmar que de la muestra de estudio analizada hay una razón de 3 que no presentan anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* por cada uno que presenta anticuerpos contra el parásito y estos valores representan una proporción de 0,23, que se traduce en 1 positivo por cada 4 negativos, por lo que se muestra un porcentaje de 23 neonatos positivos y 77 negativos. Este análisis ha sido realizado sin tener en cuenta la presencia de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* en las madres de esta muestra estudiada.

Sobre las muestras que resultaron positivas, la mayor cifra estuvo representada por la zona rural que mostró mayor probabilidad de ponerse en contacto con el parásito, tal y como lo plantea la literatura.^{11,12}

Por otra parte, mediante la aplicación del cuestionario se obtuvieron algunos síntomas que, según reporta la literatura, pueden presentar los niños que nacen con esta enfermedad; de las muestras positivas analizadas en este estudio, el 100 % presentaban anemia, ictero y hepatoesplenomegalia, resultados que coinciden con los posibles signos y síntomas definidos por Jones.¹³

Si tenemos en cuenta que en Cuba la presencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en gestantes oscila entre 50 y 70 %, ^{14,15} que en niños cubanos entre 1 y 15 años esta alcanza el 15, 35 %, y que alrededor del 30 % de la población ha estado en contacto con el parásito, además de los resultados obtenidos en esta investigación se hace imprescindible realizar en las mujeres gestantes, acciones preventivas que integren desde las medidas higiénico-sanitarias hasta una breve explicación de las consecuencias negativas para el feto una vez que la madre contrae el parásito.

Los agentes infecciosos como *Toxoplasma gondii* -que poseen la capacidad de transmitirse de la madre al niño durante el embarazo o el periodo neonatal (agentes de transmisión vertical)- constituyen una fuente importante de problemas de salud en los recién nacidos. El reconocimiento de este hecho ha impulsado el desarrollo de programas de prevención y control de dichas infecciones a nivel mundial. Entre las acciones concretas relacionadas con estos programas (campañas de vacunación y educación sanitaria, programas de diagnóstico etiológico de infecciones en el embarazo e infecciones congénitas, confección de registros de casos a nivel nacional, etc.), el control serológico rutinario para presencia de anticuerpos o antígenos específicos de ciertos agentes infecciosos en la embarazada normal ha sido una de las más extendidas,¹⁶ aspectos que son perfectamente aplicables para las recomendaciones de este trabajo y que en Cuba se encuentran algunas de estas acciones definidas en el programa que existe sobre toxoplasmosis pero en ocasiones no se llevan a cabo.

El valor porcentual obtenido en esta investigación refleja la importancia de prevenir esta forma de la enfermedad y lo fundamental es identificar la primoinfección en la embarazada por pruebas de laboratorio. La anemia, ictero y hepatomegalia constituyeron síntomas que estuvieron presentes en todas las muestra positivas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. Lancet. 2004; 363(9425):1965-76.
2. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int J Parasitol. 2000; 30:1217-58.
3. Heukelbach J, Meyer-Cirkel V, Sabóia Moura RC, Comide M, Nogueira Queiroz JA, Saweljew P, et al. Waterborne toxoplasmosis, Northeastern Brazil. Emerging Infectious Diseases. 2007; 13(2). DOI: 10.3201/eid1302.060686
4. Remington JS, Thulliez P, Montoya JG. Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. J Clin Microbiol. 2004; (3)42:941-5. doi: 10.1128/JCM.42.3.941-945.2004 .
5. 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 of Med. 1994; 331:695-9.
6. Remington JS, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO, eds. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1990. p. 89-195.
7. Foulon W, Naessens A, Ho-Yen D. Prevention of congenital toxoplasmosis. J Perinat Med. 2000; 28(5): 337-45.
8. Montoya JG, Remington JS. Management of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. Clin Infect Dis. 2008; 47(4):554-66.
9. Montoya JG, Rosso F. Diagnosis and management of toxoplasmosis. Clin Perinatol. 2005; 32(3): 705-26.
10. González T, Molina J. Toxoplasmosis congénita. Rev Cubana Obstet Ginecol. 1997; 23(1): 7-12.
11. Jenum PA, Stray-Pedersen B, Melby KK, Kapperud G, Whitelaw A, Eskild A, et al. Incidence of *Toxoplasma gondii* infection in 35 940 pregnant women in Norway and pregnancy outcome for infected women. J Clin Microbiol. 1998; 36(10):2900-06.
12. Martínez R, Machín R, Suárez M, Fachado A. Aspectos seroepidemiológicos de la toxoplasmosis en dos municipios de la provincia de Ciego de Ávila. Rev Cubana Med Trop. 1989; 41(2):214-25.
13. Jones J, Lopez A, Wilson M. Congenital toxoplasmosis Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta, Georgia. Am Fam Physician. 2003; 67(10):213-8.
14. Acosta C, Pérez X, García R. Presencia de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* en embarazadas residentes en Ciudad de La Habana. Rev Biomed. 2001; 12:250-4.
15. Blanco R, Malberty A, López R. Estudio de la presencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en sueros de madres y recién nacidos en el momento del parto. Congreso 50 Aniversario del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" 1988. Resumen T-319: 137-141.

16. Echevarría JM, Delgado A, Fuertes A, Guerra L, Gutiérrez C, Prieto J. Serología en la embarazada. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap4.htm> [Consultado 23 de marzo 2012].

Recibido: 30 de mayo de 2013.

Aprobado: 15 de junio de 2013.

Lic. Yordana Goya Batista . Centro de Inmunología y Biopreparados (CIBHO). Ave de Los Álamos entre Ave. Lenin y Calle Mariana de la Torre. CP. 80 100. Holguín.
Correo electrónico: yordana@cibho.hlg.sld.cu