

KASMER: Vol. 7, Nº 1 y 4. 1979.
Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela.

*COMPARACION ENTRE LAS REACCIONES DE AGLUTINACION
DIRECTA E INMUNOFUORESCENCIA INDIRECTA EN EL DIAG-
NOSTICO DE LA TOXOPLASMOSIS.*

*Susana Tarazón de Soto **

INTRODUCCION

Numerosas encuestas epidemiológicas realizadas en todo el mundo, han puesto de manifiesto la prevalencia de anticuerpos antitoxoplasma, con tasas que varían entre los diversos grupos de población; así vemos que Bartonelli y Borengo citados por Stagno y Thiermann (1) consideran para 1964 en un 50% de la población mundial, la prevalencia de la infección en adultos aparentemente sanos de mediana edad.

En nuestro medio, Serrano (2) reporta una prevalencia de 41,8% en la población urbana de la ciudad de Maracaibo-Venezuela y 49,3% en indígenas de Paraguaipoa (Guajira Venezolana).

Existe el consenso general de que la reacción de Sabin y Feldman (3) es la prueba más sensible y específica para el diagnóstico serológico de la toxoplasmosis, pero es laboriosa y requiere el empleo de *Toxoplasmas* vivos, lo cual supone riesgos de contaminación.

*Profesor Asociado de la Cátedra de Parasitología-Facultad de Medicina
Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela.

La inmunofluorescencia y fijación del complemento han sido utilizadas por diversos autores como Warren y Sabin (4) Camargo y cols. (5-6-7 y 8) Amato Neto y cols. (9 y 10) Fletcher (11) Stagno y cols (12 y 13) Coutinho y cols. (14) y otros, quienes demostraron que ambas conservan todo su valor diagnóstico, pero son métodos complejos que necesitan equipos costosos y personal adecuado. Igualmente, la Hemaglutinación Indirecta preconizada por Jacobs y Lunde (15 y 16) está dotada de gran sensibilidad y especificidad y su técnica es más sencilla por lo que ha sido adoptada por numerosos autores como Maekelt y cols (17).

Tratando de encontrar pruebas serológicas cada vez más simples y económicas, Fulton y Turk, (18), prepararon un antígeno constituido por una suspensión de parásito puros, libres de toda célula, obtenidos a partir de exudado peritoneal de ratas infectadas con la cepa RH de *Toxoplasma gondii* y estandarizaron la reacción de aglutinación directa para la detección de anticuerpos específicos.

Varios investigadores como Fulton y cols. (19-20 y 21) Couzineau (22 y 23) Peloux y cols. (24) Cimerman (25) y otros han utilizado la reacción de aglutinación directa con resultados satisfactorios.

El objeto del presente trabajo es realizar una comparación entre las reacciones de Aglutinación directa e Inmunofluorescencia indirecta para el diagnóstico serológico de la Toxoplasmosis humana.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 125 muestras diferentes de suero sanguíneo humano, a cada uno de los cuales se les practicó: Reacción de Aglutinación directa y Reacción de Inmunofluorescencia indirecta.

Para la Reacción de Aglutinación directa los sueros sanguíneos fueron diluidos en tampón B.A.B.S. (Ac. Bórico-Albúmina de Bovino-C1Na) pH 9 desde 1:2 hasta 1:4098. Acompañamos cada reacción con un suero control positivo de título conocido, un suero control negativo y un control de antígeno. El procedimiento empleado en la realización de la prueba, fue el establecido por la casa fabricante (B-D MERIEUX - MARCY L'ETOILE - FRANCE).

La Reacción de Inmunofluorescencia indirecta fue practicada en diluciones de suero al cuádruple a partir de 1:16. Se utilizó antígeno liofilizado preparado con *Toxoplasma gondii* obtenido de ascitis de Ratas y conjugado antiglobulina humana liofilizada marcada con fluoresceína, ambas productos comerciales (B-D MERIEUX - MARCY L'ETOILE - FRANCE).

RESULTADOS

En el Cuadro I podemos apreciar, que de los 125 sueros sanguíneos estudiados utilizando las reacciones de Inmunofluorescencia indirecta y Aglutinación directa, 60 fueron positivos para I.F.I. de los cuales 48 también resultaron positivos para A.D. lo cual representa una correlación cualitativa del 80%; así mismo, de 65 sueros con I.F.I. negativa, 55 presentaron A.D. negativa, lo que representa el 84,6%. En conjunto, la correlación cualitativa global fue 82.3%.

La correlación cuantitativa entre los títulos obtenidos para I.F.I. y A.D. representada en el Cuadro II, muestra 61 sueros sanguíneos con títulos iguales para ambas pruebas lo que significa el 48% y 16 sueros sanguíneos con títulos que difieren en una dilución lo que representa un total de 77 casos (61,6%).

El análisis global de los resultados obtenidos en 125 muestras de suero sanguíneo (Cuadro III) revela que existe concordancia cualitativa entre las reacciones de I.F.I. y A.D. en 103 casos (82.40%) y discordancia en 22 casos (17.60%).

Si analizamos las discordancias entre ambas pruebas, podemos apreciar (Cuadro IV) que de los 10 sueros que resultaron positivos para I.F.I. y Negativos para A.D., 5 (50%) mostraron títulos aglutinantes de 1:4 o inferiores y 5 (50%) con títulos para A.D. de 1:8 y 1:16.

Los 12 sueros que resultaron I.F.I. positivos y A.D. negativos tenían títulos de 1:64 o inferiores (Cuadro V).

La aplicación del X^2 demuestra que no existen diferencias significativas entre los resultados cualitativos aportados por ambas pruebas.

CUADRO I.
 CORRELACION CUALITATIVA ENTRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR LA REACCION DE AGLUTINACION DIRECTA E INMUNOFLORESCENCIA EN 125 SUEROS HUMANOS.

	INMUNOFLORESCENCIA INDIRECTA POSITIVA	INMUNOFLORESCENCIA INDIRECTA NEGATIVA	TOTAL
AGLUTINACION DIRECTA. POSITIVA.	48	10	58
AGLUTINACION DIRECTA. NEGATIVA	12	55	67
TOTAL	60	65	125

Sensibilidad 80
 Especificidad 84

CUADRO II

CORRELACION CUANTITATIVA ENTRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LA REACCION DE AGLUTINACION DIRECTA E INMUNOFLORESCENCIA INDIRECTA EN 125 SUEROS HUMANOS.

TITULOS DE INMUNOFLORESCENCIA INDIRECTA.	TITULOS DE AGLUTINACION DIRECTA.											TOTAL
	NEG.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	
Neg.	55	3	2	1	4	—	—	—	—	—	—	65
1:16	6	1	4	3	3	2	1	—	—	—	—	20
1:64	6	—	1	—	4	6	1	—	—	—	—	18
1:256	—	—	1	1	2	5	2	3	1	—	—	15
1:1024	—	—	—	—	—	—	1	1	2	2	1	7
TOTAL:	67	4	8	5	13	13	5	4	3	2	1	125

CUADRO III

ANÁLISIS GLOBAL DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LAS REACCIONES DE AGLUTINACIÓN DIRECTA E INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA PRACTICADAS EN 125 SUEROS HUMANOS.

	No. DE CASOS	Concordancia entre ambas pruebas		Discordancia entre ambas pruebas	
Aglutinación directa Positiva ^e	48	38,40	103 casos		
Inmunofluorescencia indirecta Positiva			82,40 %		
Aglutinación directa Negativa ^e	55	44,00		22 casos	17,60 %
Aglutinación directa Positiva ^e					
Inmunofluorescencia indirecta Negativa	10	8,00			
Aglutinación directa Negativa ^e					
Inmunofluorescencia indirecta Positiva	12	9,60			
TOTAL	125	100,00			

CUADRO IV

TITULOS DE LOS SUEROS QUE MOSTRARON DISCORDANCIA
INMUNOFLORESCENCIA NEGATIVA Y REACCION DE
AGLUTINACION DIRECTA POSITIVA.

Sueros sanguíneos con IFI Negativa y A. D Positiva	Reacción de A. D con títulos de 1:4 o inferiores		Reacciones de A. D con títulos entre 1:8 y 1:16		Reacción de A. D con títulos superiores a 1:16	
	No. de casos	%	No. de casos	%	No. de casos.	%
10	5	50	5	50	0	0

CUADRO V

TITULOS DE LOS SUEROS QUE PRESENTARON DISCORDANCIA,
 AGLUTINACION DIRECTA NEGATIVA e INMUNOFLUORESCENCIA
 INDIRECTA POSITIVA

Reacción de con A. D. Negativa e IFI Positiva		Reacción de IFI con títulos de 1:64 o inferiores.		Reacción de IFI con títulos superiores a 1:64	
No. de casos		No. de casos		No. de casos	
12	100	12	100	0	0

DISCUSION

La Reacción de Aglutinación directa es una reacción corpuscular, producida por antígenos de superficie, que pone en evidencia anticuerpos IgM y, fundamentalmente las fracciones 19S y 7S, como demostraron PELOUX y cols (24) por fraccionamiento sérico.

Resulta particularmente útil en el diagnóstico de infecciones recientes, por cuanto los anticuerpos aglutinantes aparecen precozmente después de la infección. Sin embargo, tiene el inconveniente de detectar anticuerpos naturales IgM, por lo que es posible obtener falsos positivos, este inconveniente se puede obviar, según LA PIERRE y cols (26) con el uso de 2-MERCAPTO ETANOL.

Si comparamos nuestros resultados con los obtenidos por otros autores, podemos apreciar que el 82,4% de concordancia cualitativa por nosotros obtenidos es inferior al 90,4% obtenido por LA PIERRE (26) y similar a los obtenidos por COUZINEAU y cols (23), quienes al comparar la reacción de Aglutinación directa con otras técnicas serológicas habitualmente utilizados en el diagnóstico serológico de la Toxoplasmosis, observaron que títulos elevados eran específicos y no mostraban discrepancias cualitativas con los resultados de otras técnicas.

CONCLUSIONES

1. La Prueba de Aglutinación directa posee una técnica sencilla, fácil de realizar, no necesita equipos costosos y su lectura es macroscópica.
- 2.- La Reacción de Aglutinación directa mostró una sensibilidad del 80% y especificidad del 84% y sus resultados son comparables cualitativamente con la reacción de Inmunofluorescencia indirecta como lo demuestra la aplicación del Chi cuadrado.
- 3.- Las Discordancias cualitativas observadas entre las Reacciones de Aglutinación directa e Inmunofluorescencia solo involucran títulos bajos de poco valor diagnóstico.
- 4.- La correlación cuantitativa obtenida es baja, 48% con títulos iguales y 61,6% si sumamos los sueros con diferencias en una dilución.

- 5.- Sea cual sea la prueba diagnóstica utilizada, aunque esté dotada de gran sensibilidad y especificidad, una sola determinación no brinda información suficiente sobre el tipo de anticuerpos que estamos evidenciando, pudiéndose tratar de anticuerpos correspondientes a infección antigua o infección reciente, por lo tanto reviste tanta importancia la selección de la reacción antigénica a utilizar para el diagnóstico de la Toxoplasmosis, como repetir la misma para acompañar la evolución serológica.
- 6.- Por todo lo antes expuesto, consideramos que es necesario realizar estudios más completos para darle a la Reacción de Aglutinación directa el lugar que debe ocupar en el diagnóstico o despistaje de infecciones recientes.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- STAGNO, S., y Thiermann, E.- Frecuencia de la infección por *Toxoplasma gondii* en niños, Area de Salud Norte, Santiago. Bol. Chil. Para. 25(1-2) 16:21, 1970.
- 2.-SERRANO, H.- Estudio sobre la Incidencia de anticuerpos séricos para *Toxoplasma* en las poblaciones de Maracaibo y un pueblo rural del Estado Zulia y Comparación de tres métodos serológicos distintos. *Kasmera* Vol. 5, No. 1. 75-101, 1974.
- 3 SABIN, A.B., and Feldman, H.A.- Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). *Science* 108, 660, 1948.
- 4.- WARREN, J., Sabin, A.B.- The complements fixation reaction in Toxoplasmic infection. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 51:11, 1942.
- 5.- CAMARGO, Mario E.- Estudio comparativo das reacoes de Sabin Feldman e de inmunofluorescencia indirecta para o *Toxoplasma*, en 1.000 soros humanos. comportamiento análogo de alguns soros. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.* 24: 1-26, 1964.
- 6.- CAMARGO, Mario E.- Inproved Technique of indirecta inmunofluorescence for serological diagnosis of Toxoplasmosis. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 6 (3):117-118, 1964.
- 7.- CAMARGO, M.E., Leser, P. G. and Leser W.S.P.- Diagnostic information from serological test in human toxoplasmosis I - A comparative study of hemagglutination, complement fixation, IgG and IgM immunofluorescence. test in 3.752 serum samples. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 18(4): 215-226, 1976.

8.- CAMARGO, M.E. and Leser, P.G.- Diagnostic information from serological study of antibodies and serological pattern in acquired toxoplasmosis, as detected by hemagglutination, complement fixation, IgG and IgGM fluorescence test. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 18(4): 227-238, 1976.

9.- AMATO NETO, V.; Camargo, M.E.; Mendoza, J. S.; Levi, G.C. y Aselka, G.W.- Observacoes sobre a pesquisa de anticorpos IgM antitoxoplasma, por imunofluorescencia, no soro de pacientes con toxoplasmosis adquirida, forma linfoglandular. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 14(4): 264-272, 1972.

10.- AMATO NETO, V.; Camargo, M.E.; da Costa, A.C.- Estudio comparativo entre resultados de reacciones de Sabin-Feldman e Inmunofluorescencia indirecta para o diagnostico da Toxoplasmosis, efectuada com soros e líquidos ascíticos. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 16 (3): 135-140, 1974.

11.- Fletcher, S.- Indirect fluorescent antibody technique in the serology of *Toxoplasma gondii*. *J. Clin. Path.* 18:193, 1967.

12.- STAGNO, S. y Thiermann E.- Valor de la Inmunofluorescencia indirecta en el diagnóstico serológico de la Toxoplasmosis aguda. *Bol. Chil. Para.* 25 (1-2): 9-15, 1970

13.- STAGNO, S.; Saavedra y Thiermann E.- Comparación de las reacciones de Sabin Feldman e Inmunofluorescencia indirecta para Toxoplasmosis en 1263 sueros humanos. *Bol. Chil. Parasit.* Vol. 25. Nos. 3 y 4. 102-105, 1970.

14.- COUTINHO, S.G.; Andrade, .C.M.; Malvar, G.S.; e Ferreira, L.F.- Análise comparativa entre a sensibilidade da reação indirecta de anticorpos fluorescentes e da Reação de SABIN-FELDMAN na pesquisa de anticorpos séricos para *Toxoplasma*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 4(5): 315-325, 1970.

15.- JACOBS, L. and Lunde, M.N.- A hemagglutination test for *Toxoplasmosis*. *J. Para.* 43:308-314, 1957.

16.- LUNDE, M.N. & Jacobs, L.- A comparison of results of hemagglutination and dye test for *Toxoplasmosis* in a survey of Trinidad Natives. *Amer. J. Trop. Med. and Hyg.* 7: 523-525, 1958.

17.- MAEDEL, G.A.; Barraez, S. de; Sanchez Z. de.; y Barraez, T.- La prueba de la hemagglutinación indirecta aplicada al diagnóstico de la Toxoplasmosis. *Arch. Ven. Med. Trop. Para. Med.* 5 (1): 466, 1955.

18.- FULTON, J.D. et Turk, J.L.- A direct agglutination test for *Toxoplasma gondii*. *Lancet.* II:1068-1069, 1959.

19.- FULTON, J.D. & Voller, A.- Evaluation of Immunofluorescent and direct agglutination methods for detection of specific *Toxoplasma* antibodies. *Brit. Med. J.* 2:1173-1175, 1964.

20.- FULTON, J.D.- Studies on agglutination of *Toxoplasma gondii*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 59:694-704, 1965.

21.- FULTON, J.D.- Micro-agglutination test for *Toxoplasma* antibodies. *Immunol.* 9:491-495, 1967.

22.- COUZINEAU, P. et Baufine Ducrocq, H.- Agglutination directe des *Toxoplasme*. Preparation de l'antigene et examen de 400 serums. *Ann. Biol. Clin.* 28(5): 411-415, 1970.

23.- COUZINEAU, P.; Baufine Ducrocq, H.; Peloux, Y, et Desmonts, G.- Le sero-diagnostic de la Toxoplasmose par agglutination directe. La Nouvelle Press. Med. 2:23, 1604-1606, 1973.

24.- PELOUX, Y.; Couzineau, P.; Baufine Ducrocq, H.; Tayot, J.L. & Jacquot, D. La Reaction D'agglutination direct des Toxoplasmas. Rolés des Immunoglobulines 19S et 7S. Note Preliminaire. Ann. Biol. Cli. 31:185-192, 1973.

25.- CIMERMAN, B.; Amato Neto, V.; Campos, R.; Camargo, M.E. & da Silva, L.- Analise da sensibilidade da prova de aglutination direta para diagnostico da Toxoplasme. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, 19(2): 113-116, 1977.

26.- LAPIERRE, J.; Holler, C.; Tourte-Schaeffer, C.; Lebas-Saison, E.- Etude comparee des reactions d'immunofluorescence indirecte et d'agglutination directe avec test au 2-Mercapto-Ethanol dans le diagnostique de la Tosoplasmose. Serologie de L'infection toxoplasmique en particulier a son debut: Methodes et interpretation des resultats. pp. 141-145. Fondation Mericeux 1975.