

## ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LAS REACCIONES DE HEMAGLUTINACION, INMUNOFLUORESCENCIA Y AGLUTINACION EN EL DIAGNOSTICO DE LA TOXOPLASMOSIS

Susana Tarazón de Soto.\*

### INTRODUCCION

La Toxoplasmosis es una infección cosmopolita de gran importancia médica por la diversidad de manifestaciones clínicas que puede determinar, las cuales van desde la infección completamente asintomática, hasta las manifestaciones más graves representadas por las formas séptico-hemorrágicas fatales de la Toxoplasmosis congénita o, las severas secuelas de la misma.

El agente etiológico es *Toxoplasma gondii*, protozoo descrito en 1908 por Nicolle y Manceaux (1) en Africa, y Splendore (2) en Brasil; desde entonces son muy numerosos los trabajos que sobre los diversos aspectos del parásito y sus consecuencias sobre el organismo huésped han sido publicados, y continúan desarrollándose para esclarecer completamente todas las interrogantes pendientes.

Uno de los aspectos que más interés ha merecido por parte de los investigadores, es el del diagnóstico serológico de la infección por cuanto, el diagnóstico parasitológico es un hecho difícil de realizar, incluso en las

\* Profesor Titular - Cátedra de Parasitología Facultad de Medicina -  
Universidad del Zulia

fases iniciales de la infección, razón por la cual día a día se estudia más el valor de las pruebas serológicas, en base a la premisa de que “todo organismo infectado por *Toxoplasma gondii* produce anticuerpos”.

Son diversas las pruebas empleadas para el diagnóstico de la infección, entre las cuales podemos citar:

—*Reacción de Sabin-Feldman* (R.S.F.) conocida también con el nombre de Dye Test o Prueba del colorante, fue aplicada al diagnóstico de la Toxoplasmosis por Sabin y Feldman (3). Se basa en la propiedad que poseen los anticuerpos antitoxoplasma de impedir la normal coloración de *Toxoplasma gondii* por azul de metileno.

La prueba consiste en incubar parásitos procedentes de exudado peritoneal de ratón con suero problema a diversas diluciones y luego colorear con azul de metileno. La Reacción positiva se traduce por la falta de coloración del parásito, y se toma como título, la mayor dilución de suero en la cual más del 50% de los parásitos contados (cien) no se colorean.

La reacción de Sabin-Feldman es de gran sensibilidad y especificidad, se hace positiva entre la primera y segunda semana de la infección, alcanza su máximo al cabo de la tercera a quinta semana, de acuerdo con la intensidad de la infección, y permanece estable por varias semanas a pocos meses para luego descender. Es de gran utilidad en el diagnóstico de infecciones recientes, y tiene como desventaja la complejidad de su técnica y la necesidad de disponer de una cepa de *Toxoplasma gondii* mantenida en ratón.

—*Reacción de Fijación del Complemento* (R.F.C.)- Fue preconizada por Warren y Sabin (4) para el diagnóstico de la Toxoplasmosis. Se basa en la demostración de Anticuerpos antitoxoplasma mediante el empleo de un sistema hemolítico indicador, el cual pone en evidencia la fijación del complemento ocurrida durante la reacción.

Resulta particularmente útil en el diagnóstico de infecciones agudas recientes, por cuanto la curva de títulos de anticuerpos se inicia después de la primera o segunda semana y alcanza el máximo entre el primero y segundo mes, para luego descender rápidamente. Presenta como inconveniente la falta de estandarización del antígeno, de lo cual depende la sensibilidad y especificidad de la prueba.

—*Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta (I.F.I.)*, Ampliamente difundida y empleada por diversos autores entre los que podemos citar: Flecher (5), Camargo (6-7-8 y 9), Walton (10), Sulter (11) y Stagno (12-13), se basa en la detección de anticuerpos antitoxoplasma por medio de un conjugado antiglobulina humana fluorescente:

La sensibilidad y especificidad de la prueba es similar a la de la Reacción de Sabin-Feldman con la ventaja de poseer una técnica más sencilla que permite la demostración de inmunoglobulinas totales o fracciones de ellas, como es el caso de Ig. M.

—*Hemaglutinación Indirecta (R.H.A.I.)*.— Aplicada al diagnóstico de la Toxoplasmosis por Jacobs y Lunde (14) se basa en la capacidad que tienen los anticuerpos antitoxoplasma de aglutinar glóbulos rojos previamente sensibilizados con un antígeno preparado a partir de *Toxoplasma gondii*.

La sensibilidad y especificidad de la prueba es similar a la R.S.F., al igual que la curva de los títulos de anticuerpos, pero se inician un poco más tardíamente; sin embargo tiene como ventaja la sencillez de su técnica.

—*Aglutinación Directa (A.D.)*.— Es una reacción corpuscular estandarizada por Fulton y Turk (15-16 y 17). Se basa en la demostración de anticuerpos antitoxoplasma capaces de aglutinar el antígeno representado por una suspensión de parásitos puros. Resulta útil en el diagnóstico de infecciones recientes por cuanto los anticuerpos aglutinantes aparecen precozmente.

→*Prueba de Látex para Toxoplasmosis*.— Esta técnica empleada por Siim y Lind (18) consiste en demostrar anticuerpos antitoxoplasma capaces de producir la aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con antígeno preparado a partir de *Toxoplasma gondii*.

El valor de esta prueba es muy discutido debido a los resultados discordantes aportados por los diversos autores que la han empleado.

—*Método Inmuno-enzimológico (E.L.I.S.A.)*. Conocido con las siglas de ENZYME LINKED IMMUNO SORBENT ASSAY. fue introducida por Voller (19) para el diagnóstico de la Toxoplasmosis. Se basa en el uso de antígenos o anticuerpos fijados a una superficie insoluble, la cual se

utiliza para capturar el anticuerpo o el antígeno correspondiente; posteriormente la unión antígeno-anticuerpo se detecta a través de un complejo enzimático aún al antígeno o anticuerpo. La degradación del sustrato enzimático puede ser medida y es proporcional a la concentración del antígeno o anticuerpo que se desea evidenciar.

Es necesario recalcar que sea cual fuere 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 por cuanto, pueden ser anticuerpos correspondientes a infección antigua o a infección reciente, por lo tanto reviste tanta importancia la selección de la reacción serológica para el diagnóstico de la Toxoplasmosis, como repetirla para acompañar su evolución.

Lo anteriormente expuesto justifica el porqué en 1969 una Comisión de la Organización Mundial de la Salud (20) recomendaba un mayor estudio de las pruebas serológicas y su valor diagnóstico, razón por la cual en los últimos años decidimos estudiar en forma comparada la concordancia entre los resultados obtenidos con las reacciones de Inmunofluorescencia Indirecta, Hemaglutinación Indirecta y Aglutinación Directa en muestras de suero sanguíneo humano, sin entrar en consideraciones clínicas, patogénicas ni diagnósticas.

La presentación de nuestra experiencia constituye el motivo del presente trabajo.

## MATERIAL Y METODOS

Se recolectaron 125 muestras diferentes de suero humano, provenientes de adultos aparentemente sanos, las cuales fueron procesadas el mismo día de su toma, o bien almacenadas a menos 20°C hasta el momento de su estudio.

A cada una de las muestras se les practicó: Reacción de Hemaglutinación Indirecta, Inmunofluorescencia Indirecta y Aglutinación Directa.

La *Reacción de Hemaglutinación Indirecta* se realizó según la técnica de microtitulación de Kagan y Norman (21) en placas de microtitulación con pozos en "U" (Cooke Engeneering Co. USA.) Los sueros fueron diluidos al doble en tampón P.B.S. pH 7.2 desde 1:2 hasta 1:4096 o más si el caso lo requería; a cada dilución del suero se le adicionó 0.05 cc. de

eritrocitos de carnero estabilizados con glutaraldehído y sensibilizados con antígeno de *Toxoplasma gondii*, proveniente de exudado peritoneal de ratón o cultivo de tejido. Este antígeno forma parte de un Kit Comercial "TOXO IHA TEST"\*.

La mezcla suero antígeno se agitó colocando la placa en un vibrador vertical durante cinco minutos, posteriormente se cubrió para evitar la desecación y permaneció a temperatura ambiente durante dos horas para luego efectuar la lectura.

Se consideró como positiva la máxima dilución en la cual, la malla de eritrocitos está rodeada por un círculo rojo.

Acompañamos cada reacción problema con una en suero control negativo, y suero control positivo de título conocido, así como, un control de antígeno y reacción del suero problema con eritrocitos de carnero no sensibilizados, esta última para evitar posibles reacciones inespecíficas.

En la *Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta*, utilizamos láminas portaobjetos marcadas con diez círculos de ocho milímetros de diámetro, en cada uno de los cuales se colocó 0.01 cc. del antígeno\*\*, constituido por una suspensión de *Toxoplasma gondii* obtenidos de exudado peritoneal de ratón.

Las láminas así preparadas se dejaron secar en estufa a 37° C y posteriormente se guardaron en congelación a menos 20°C hasta su empleo.

En el momento de iniciar la determinación de anticuerpos fluorescentes, las láminas con el antígeno fijado en cada círculo, fueron descongeladas a temperatura ambiente, lavadas con agua destilada y secadas con papel de filtro; en cada círculo se colocó una gota del suero problema diluido al cuádruple en buffer P.B.S. pH 7.2, utilizando 1:16 como la menor dilución de trabajo; luego se incubaron las láminas en atmósfera húmeda a 37°C durante media hora, transcurridos los cuales se lavaron tres veces con buffer y una vez con agua destilada, se secaron con papel absorbente y se colocó en cada círculo una gota de conjugado Antiglobulina humana marcada con fluoresceína diluida en azul de Evans 1:10.000 cuyo título de trabajo había sido previamente establecido; las láminas así pre-

\* International Biological Laboratories Inc., U.S.A.

\*\* B-D Merieux Francia.

paradas se incubaron a 37°C en cámara húmeda por 30 minutos, posteriormente se lavaron tres veces con buffer y una vez agua destilada, se secaron con papel absorbente y se cubrieron con glicerina tamponada pH8 y cubreobjetos protector, sellando la preparación para ser observadas inmediatamente con microscopio de fluorescencia.

La Positividad fue reportada tomando como título, la mayor dilución del suero a la cual, más del 50% de los parásitos visualizados (cien) presentan fluorescencia amarillo verdosa alrededor de toda su superficie.

Cada reacción se acompañó con un control de suero negativo, suero positivo de título conocido y control de conjugado.

La *Reacción de Aglutinación Directa* se realizó en placas de microtitulación similares a las empleadas para la Reacción de Hemaglutinación Indirecta; practicamos diluciones del suero al doble en tampón B.A.B.S. desde 1:2 hasta 1:4.096 o más según el caso. A cada dilución del suero se le adicionó 0.025 cc. de antígeno\*, representado por una suspensión de parásitos obtenidos a partir de líquido de ascitis de ratones inoculados con la cepa RH de *Toxoplasma gondii*; se mezcló con agitador durante cinco minutos y se cubrió la placa para evitar la desecación, se dejó a temperatura ambiente durante 18 horas para luego efectuar la lectura por transiluminación.

Se tomó como título positivo aquella dilución del suero, en la cual aparece aglutinación en un área superior al 50% del diámetro del pozo de las placas de microtitulación.

## RESULTADOS

Como podemos apreciar en el Cuadro I de los 125 sueros estudiados utilizando las reacciones de Inmunofluorescencia Indirecta (I.F.I.) Aglutinación Directa (A.D.) y Hemaglutinación Indirecta (H.A.I.), 60 (48,0%) fueron positivos para I.F.I.; 59 (47,2%) resultaron positivos para A.D. y 57 (45,6%) positivos para H.A.I.

\* B-D Merieux-Francia.

**CUADRO I. RESULTADOS POSITIVOS OBTENIDOS EN 125, SUEROS SANGUINEOS HUMANOS PROCESADOS CON LAS REACCIONES DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA, AGLUTINACION DIRECTA Y HEMAGLUTINACION INDIRECTA. Maracaibo, 1978-1979.**

REACCIONES	RESULTADOS		% DE POSITIVIDAD
	No. DE SUEROS	No. DE POSITIVOS	
Inmunofluorescencia Indirecta	125	60	48.0
Aglutinación Directa	125	59	47.2
Hemaglutinación Indirecta	125	57	45.6

F. de I: Cátedra de Parasitología – Facultad de Medicina-  
Universidad del Zulia.

En el Cuadro II presentamos las diluciones equivalentes obtenidas con las reacciones de I.F.I., A.D y H.A.I., donde apreciamos que los títulos observados con mayor frecuencia fueron de 1:256 o inferiores (88,62%). La distribución de títulos positivos para las tres reacciones se encuentran expresadas en el gráfico I.

En el cuadro III observamos que de los 125 sueros procesados con las reacciones de Inmunofluorescencia Indirecta y Hemaglutinación Indirecta, 58 (46.8%) mostraron concordancia negativa en ambas pruebas y 50 (40.0%) concordancia positiva, lo cual representa una concordancia global en 108 sueros (86,4%); 10 sueros (8.0%) presentaron discordancia I.F.I. positiva H.A.I. negativa y 7 (5.6%) discordancia I.F.I. negativa H.A.I. positiva, lo cual hace un total de 17 sueros (13.6%) discordantes.

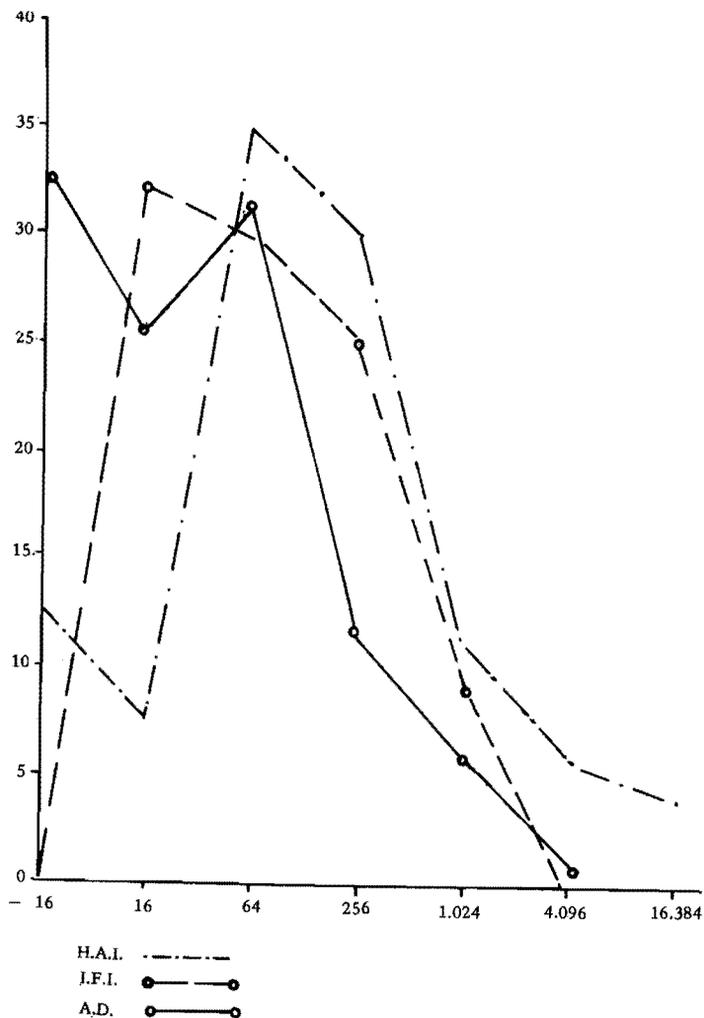
Si analizamos las discordancias entre Inmunofluorescencia Indirecta y Hemaglutinación Indirecta, observamos en el Cuadro IV que los 10 sueros (100%) positivos para I.F.I. y negativo para H.A.I. tenían títulos de 1:16. En el Cuadro V apreciamos que de los 7 sueros (100%) que resultaron I.F.I. negativos y H.A.I. positivos, 4 (57.2%) revelaron títulos de 1:2-1:4 y 3 (42.8%) títulos de 1:8-1:16.

CUADRO II. RESULTADOS POSITIVOS DE ACUERDO A DILUCIONES EQUIVALENTES EN 125 SUEROS HUMANOS PROCESADOS CON LAS REACCIONES DE INMUNOFLORESCENCIA INDIRECTA, AGLUTINACION DIRECTA Y HEMAGLUTINACION INDIRECTA. Maracaibo, 1978 — 1979.

DILUCIONES	R E A C C I O N E S								TOTAL	
	Inmunofluorescencia Indirecta			Aglutinación Directa		Hemaglutinación Indirecta			No. de sueros Positivos	% de Positividad
	No. de sueros Positivos	% de Positividad	No. de sueros Positivos	% de Positividad	No. de sueros Positivos	% de Positividad	No. de sueros Positivos	% de Positividad		
< 1:16	0	0	16	27.11	7	12.28	23	13.07		
1:16	20	33.33	15	25.43	4	7.02	39	22.16		
1:64	18	30.00	18	30.51	20	35.10	56	31.81		
1:256	15	25.00	7	11.85	16	28.16	38	21.58		
1:1024	7	11.67	3	5.10	5	8.72	15	8.57		
1:4096	0	0	0	0	3	5.22	3	1.69		
1:16.384	0	0	0	0	2	3.50	2	1.12		
TOTAL	60	100.00	59	100.00	57	100.00	176	100.00		

F. de I.: Cátedra de Parasitología — Facultad de Medicina — Universidad del Zulia.

**GRAFICO 1. DISTRIBUCION DE TITULOS POSITIVOS EN 125 SUEROS SANGUINEOS HUMANOS DIFERENTES PROCESADOS CON LAS REACCIONES DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA, AGLUTINACION DIRECTA Y HEMAGLUTININACION INDIRECTA. Maracaibo, 1978-1979.**



F. de I.: CATEDRA DE PARASITOLOGIA,  
UNIVERSIDAD DEL ZULIA, FACULTAD DE MEDICINA.

**CUADRO III. RELACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN 125 SUEROS SANGUÍNEOS HUMANOS PROCESADOS CON LAS REACCIONES DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA Y HEMAGLUTINACIÓN INDIRECTA. Maracaibo, 1978-1979.**

REACCIONES	No. de SUEROS	%	CONCORDANCIAS Y DISCORDANCIAS	
I.F.I. Negativa y H.A.I. Negativa	58	46.8	108 Sueros	Concordancia entre las pruebas.
I.F.I. Positiva y H.A.I. Positiva	50	40.0	86.4 %	
I.F.I. Positiva y H.A.I. Negativa	10	8.0	17 Sueros	Discordancia entre las pruebas.
I.F.I. Negativa y H.A.I. Positiva	7	5.6	13.6 %	
TOTAL	125	100.0	100.0	

F. de I.: Cátedra de Parasitología – Facultad de Medicina – Universidad del Zulia.

El Cuadro VI representa la relación observada entre las reacciones de Hemaglutinación Indirecta y Aglutinación Directa, donde 56 sueros (44.8%) concordaron en negatividad y 47 sueros (37.6%) concordaron en positividad, lo cual constituye una concordancia global de los 103 sueros (82.4%). En relación a las discordancias entre ambas pruebas, 12 sueros (9.6%) resultaron H.A.I. negativos y A.D. positivos y 10 sueros (8.0%) H.A.I. positiva y A.D. negativa lo que totaliza 22 sueros (17,6%) con resultados discordantes.

**CUADRO IV. TÍTULOS DE LOS SUEROS QUE MOSTRARON DISCORDANCIA INMUNOFUORESCENCIA INDIRECTA POSITIVA Y HEMAGLUTINACION INDIRECTA NEGATIVA. Maracaibo, 1978-1979.**

Sueros con I.F.I. Positiva y H.A.I. Negativa		Títulos de I.F.I. 1:16	
No.	%	No.	%
10	100	10	100

F. de I.: Cátedra de Parasitología - Facultad de Medicina - Universidad del Zulia.

**CUADRO V. TÍTULO DE LOS SUEROS QUE MOSTRARON DISCORDANCIA INMUNOFUORESCENCIA INDIRECTA NEGATIVA Y HEMAGLUTINACION INDIRECTA POSITIVA. Maracaibo, 1978-1979.**

Sueros con I.F.I. Negativa y H.A.I. Positiva		Títulos de H.A.I. 1:2 - 1:4		Títulos de H.A.I. 1:8 - 1:16	
No.	%	No.	%	No.	%
7	100	4	57,2	3	42,8

F. de I.: Cátedra de Parasitología - Facultad de Medicina - Universidad del Zulia.

Analizando las discordancias presentadas en el Cuadro VII, vemos que de los 12 sueros (100%) con H.A.I. negativa y A.D. positiva, 7 (58,3%) mostraron títulos de 1:2-1:4 y 5 (41,7%) presentaron títulos de 1:8-1:16. En el Cuadro VIII observamos que de los 10 sueros (100%) con H.A.I. positiva y A.D. negativa, 7 (70.0%) presentaron títulos de 1:32 o inferiores y 3 (30.0%) títulos de 1:64-1:128.

**CUADRO VI. RELACION DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN 125 SUEROS SANGUINEOS HUMANOS PROCESADOS CON LAS REACCIONES DE HEMAGLUTINACION INDIRECTA Y AGLUTINACION DIRECTA. Maracaibo, 1978-1979.**

REACCIONES	No. de Sueros	%	Concordancia y Discordancia	
H.A.I. Negativa y A.D. Negativa	56	44.8	103 Sueros	Concordancia entre las pruebas
H.A.I. Positiva y A.D. Positiva	47	37.6	82,4 %	
H.A.I. Negativa y A.D. Positiva	12	9.6	22 Sueros	Discordancia entre las pruebas
H.A.I. Positiva y A.D. Negativa	10	8.0	17,6 %	
TOTAL	125	100.0	100.0	

F. de I.: Cátedra de Parasitología — Facultad de Medicina — Universidad del Zulia.

En el Cuadro IX mostramos los resultados obtenidos con las reacciones de I.F.I. y A.D., en el cual 55 sueros (44.0%) presentaron concordancia negativa y 48 (38.4%) concordancia positiva, lo que totaliza 103 sueros (82,4%) de concordancia, así mismo 12 sueros (9.6%) resultaron I.F.I. positiva y A.D. negativa y 10 (8.0%) I.F.I. negativa y A.D. positiva lo cual representa un total de 22 sueros (17.6%) con resultados discordantes.

**CUADRO VII. TITULOS DE LOS SUEROS QUE MOSTRARON DISCORDANCIA HEMAGLUTINACION INDIRECTA NEGATIVA Y AGLUTINACION DIRECTA POSITIVA. Maracaibo, 1978-1979.**

Sueros H.A.I. Negativa y A.D. Positiva		Títulos de A.D. 1:2 -- 1:4		Títulos de A.D. 1:8 - 1:16	
No.	%	No.	%	No.	%
12	100.0	7	58.3	5	41.7

F. de I.: Cátedra de Parasitología – Facultad de Medicina.  
Universidad del Zulia

**CUADRO VIII. TITULOS DE LOS SUEROS QUE MOSTRARON DISCORDANCIA HEMAGLUTINACION INDIRECTA POSITIVA Y AGLUTINACION DIRECTA NEGATIVA. Maracaibo, 1978-1979.**

Sueros H.A.I. Positiva y A.D. Negativa		Títulos de H.A.I. 1:32 o inferiores		Títulos de H.A.I. 1:64 - 1:128	
No.	%	No.	%	No.	%
10	100.0	7	70	3	30

F. de I.: Cátedra de Parasitología - Facultad de Medicina – Universidad del Zulia.

En el Cuadro X mostramos las discordancias I.F.I. positivas y A.D. negativas observadas en 12 sueros (100%) los cuales presentaron títulos de 1:64 o inferiores. En el Cuadro XI se presentan las discordancias observadas en 10 sueros (100%) I.F.I. negativas y A.D. positivas, de las cuales, 5 (50%) mostraron títulos de 1:2-1:4 y 5 (50%) títulos de 1:8-1:16.

*DISCUSION*

Según Garin (22) la Reacción de Sabin-Feldman constituye aún la "reacción jefe y de referencia" para el diagnóstico de la Toxoplasmosis, razón por la cual, toda prueba que se pretenda introducir en dicho diagnóstico, debe ser comparada con la Reacción de Sabin-Feldman.

En nuestra experiencia, por razones técnicas no pudimos realizar la Reacción de Sabin-Feldman, por lo cual al referirnos a la sensibilidad y especificidad de la Inmunofluorescencia Indirecta, Aglutinación Directa, Hemaglutinación Indirecta, lo hacemos tomando en cuenta la comparación realizada por diversos autores entre las mencionadas pruebas y la Reacción de Sabin-Feldman.

CUADRO IX. RELACION DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN 125 SUEROS SANGUINEOS HUMANOS PROCESADOS CON LAS REACCIONES DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA Y AGLUTINACION DIRECTA. Maracaibo, 1978-1979.

REACCIONES	No. DE SUEROS	%	CONCORDANCIA Y DISCORDANCIA	
I.F.I. Negativa y A.D. Negativa	55	44.0	103 Sueros	Concordancia entre las pruebas
I.F.I. Positiva y A.D. Positiva	48	38.4	82.4 %	
I.F.I. Positiva y A.D. Negativa	12	9.6	22 Sueros	Discordancia entre las pruebas
I.F.I. Negativa y A.D. Positiva	10	8.0	17.6 %	
TOTAL	125	100.0	100.0 %	

F. de I.: Cátedra de Parasitología —Facultad de Medicina — Universidad del Zulia

**CUADRO X. TITULOS DE LOS SUEROS QUE MOSTRARON DISCORDANCIA INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA POSITIVA Y AGLUTINACION DIRECTA NEGATIVA. Maracaibo, 1978-1979.**

Sueros con I.F.I. Positiva y A.D. Negativa.		Títulos de I.F.I. 1:64 o inferiores	
No.	%	No.	%
12	100	12	100

F. de I.: Cátedra de Parasitología -- Facultad de Medicina -- Universidad del Zulia.

**CUADRO XI. TITULOS DE LOS SUEROS QUE MOSTRARON DISCORDANCIA INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA NEGATIVA Y AGLUTINACION DIRECTA POSITIVA. Maracaibo, 1978-1979.**

Sueros con I.F.I. Negativa y A.D. Positiva		Títulos de A.D. 1:2 -- 1:4		Títulos de A.D. 1:8 -- 1:16	
No.	%	No.	%	No.	%
10	100	5	50	5	50

F. de I.: Cátedra de Parasitología -- Facultad de Medicina. Universidad del Zulia

Ante las dificultades de realizar en nuestros laboratorios la Reacción de Sabin-Feldman, decidimos encaminar nuestra investigación hacia la demostración del grado de concordancia existente entre las reacciones de I.F.I., A.D. y H.A.I. para obtener una experiencia propia en cuanto a la escogencia de un método serológico útil para el diagnóstico de la Toxoplasmosis.

Aun cuando las reacciones de Inmunofluorescencia Indirecta, Aglutinación Directa y Hemaglutinación Indirecta, poseen técnicas diferentes y evidencian diversos tipos de anticuerpos, los resultados obtenidos por nosotros pueden considerarse similares, dentro de límites muy estrechos, como lo demuestran los porcentajes de concordancia expresados en nuestros resultados.

Al comparar los resultados obtenidos con la Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta con los aportados por la Hemaglutinación Indirecta y Aglutinación Directa, observamos una concordancia de 86,4% y 82,4% respectivamente. En los sueros donde hubo resultados discordantes, apreciamos que siempre correspondieron a títulos bajos, considerados no significativos para el diagnóstico de la infección.

Analizando las ventajas y desventajas de la Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta encontramos que:

- Es considerada de gran sensibilidad y especificidad por autores como Camargo (7), Walton (10), Garin (23) y Coutinho (24), quienes al compararla con R.S.F. reportan 97,7%, 97,5%, 92,6% y 89,0% respectivamente de concordancia entre ambas pruebas.
- Existen en el comercio antígenos liofilizados y conjugados de buena calidad, que simplifican el procedimiento y resuelven las dificultades de mantener una cepa viva de *Toxoplasma gondii* en el laboratorio, necesaria para la preparación del antígeno.
- La técnica de Inmunofluorescencia Indirecta puede modificarse para permitir la determinación de Ig. M antitoxoplasma, lo cual se considera de gran importancia para el diagnóstico de las formas congénitas e infecciones recientes.
- La Inmunofluorescencia Indirecta es la prueba más indicada para sustituir el “Test del Colorante” ya que, los anticuerpos demostrables en ambas pruebas aparecen entre la primera y segunda semana de la infección, alcanzan niveles similares y permanecen positivos durante el resto de la vida, en lo que ha sido llamado “latencia Toxoplásmica”.
- Tiene como desventaja que su técnica no es rápida ni sencilla y requiere el uso de microscopio de fluorescencia, no siempre al alcance de los laboratorios de rutina diagnóstica, debido a su alto costo.

Al comparar los resultados obtenidos en nuestra experiencia mediante el empleo de la Reacción de Aglutinación Directa, con la Inmunofluorescencia Indirecta, apreciamos una concordancia del 82,4%; esta cifra es similar a la obtenida por Cimerman (25) quien reporta 83,5% de concor-

dancia pero inferior a los resultados de La Pierre (26) y Pelou. (27) quienes reportan 90.4% y 95.8% respectivamente de concordancia entre ambas pruebas.

La Reacción de Aglutinación Directa tiene como ventaja:

- Poseer una técnica sencilla fácil de realizar.
- Existen en el comercio equipos dotados de todos los reactivos necesarios para practicar la reacción.
- No necesita equipos costosos.
- La lectura es macroscópica.
- Es una reacción corpuscular producida por antígenos de superficie que ponen en evidencia anticuerpos Ig M, por lo cual resulta útil en el diagnóstico de infecciones recientes, pues los anticuerpos aglutinantes aparecen precozmente al iniciarse la infección toxoplásmica.
- Tiene como desventaja el prolongado período de incubación y lo subjetivo de su lectura.

La Reacción de Hemaglutinación Indirecta utiliza como antígeno, la fracción soluble de un lisado de *Toxoplasma gondii* obtenido de exudado peritoneal de ratón, por lo tanto, su composición puede variar de acuerdo con el fabricante, esto hace difícil comparar los resultados obtenidos cuando se utilizan antígenos de diversa procedencia. Actualmente existen en el comercio antígenos liofilizados capaces de permanecer estables por mucho tiempo, así como, equipos dotados de todos los reactivos necesarios para realizar la técnica de Hemaglutinación.

Diversos autores han comparado la Reacción de Hemaglutinación Indirecta con Sabin-Feldman, encontrando buena concordancia, así Lunde y Jacobs (28) reportan 100% de concordancia cuando se toman títulos de 1:16 o superiores y Knierin y cols. (29) obtienen 88%. En nuestra investigación obtuvimos 86.4% de concordancia con I.F.I. y 82,4% de concordancia en A.D.

La Reacción de Hemaglutinación Indirecta tiene como ventajas:

- Rapidez y simplicidad de su técnica
- Lectura macroscópica.
- No necesita equipos costosos.
- Existencia en el comercio de antígenos de buena calidad y equipos dotados de todos los reactivos necesarios para su realización.

Tiene como desventaja, el hecho de que los anticuerpos Hemaglutinantes aparecen mas tardiamente que los detectados por Inmunofluorescencia y Reacción de Sabin-Feldman.

El análisis estadístico mediante chi cuadrado expresado en los Cuadros XII y XIII, reveló que las diferencias observadas entre los resultados de las reacciones objeto del presente estudio, no son significantes.

CUADRO XII. RESULTADOS POSITIVOS OBTENIDOS EN 125 SUEROS HUMANOS PROCESADOS CON LAS REACCIONES DE INMUNOFUORESCENCIA INDIRECTA, AGLUTINACION DIRECTA Y HEMAGLUTINACION INDIRECTA. OBTENCION DEL CHI CUADRADO. Maracaibo, 1978-1979.

REACCIONES	RESULTADOS		TOTAL DE REACCIONES	% DE POSITIVIDAD
	POSITIVOS	NEGATIVOS		
I.F.I.	60	65	125	48,0
A.D.	59	66	125	47,2
H.A.I.	57	68	125	45,6
TOTAL	176	199	375	46,9

F. de l.: Cuadro I.

CUADRO XIII. OBTENCION DEL Chi CUADRADO.

REACCIONES	POSITIVOS				NEGATIVOS			
	O	T	O-T	$\frac{(O-T)^2}{T}$	O	T	O-T	$\frac{(O-T)^2}{T}$
I.F.I.	60	59	1	$\frac{1}{59} = 0.02$	65	66	-1	$\frac{1}{66} = 0.02$
A.D.	59	59	0	-	66	66	0	
H.A.I.	57	59	-2	$\frac{4}{59} = 0.06$	68	66	2	$\frac{4}{66} = 0.06$

$$X^2_{ob} = \frac{(O - T)^2}{T} = 0.02 + 0.06 + 0.02 + 0.06$$

$$X^2_{observado} = 0.16$$

$$g.l = (C - 1)(F - 1) = (2 - 1)(3 - 1) = 2$$

$$X^2_{crítico\ 2g.l} = 5.99$$

### CONCLUSIONES

En vista a que los porcentajes de concordancia entre los resultados obtenidos con las Reacciones de Inmunofluorescencia Indirecta, Aglutinación Directa y Hemaglutinación Indirecta son similares, que el análisis estadístico mediante Chi cuadrado demostró que no existen diferencias significativas entre ellas, y tomando en cuenta todas las ventajas de la Reacción de Hemaglutinación Indirecta, concluimos que ésta resulta la más práctica para la investigación de anticuerpos antitoxoplasma en suero sanguíneo, en los laboratorios de rutina diagnóstica.

### LISTA DE ABREVIATURAS

R.S.F.	Reacción de Sabin-Feldman	A.D.	Aglutinación Directa
I.F.I.	Inmunofluorescencia Indirecta	P.B.S.	Buffer fosfato salino
Ig M	Inmunoglobulinas M	B.A.B.S	Buffer Acido Bórico-Albúmina de Bovino-Cloruro de Sodio.
R.H.A.I	Reacción de Hemaglutinación Indirecta		

### RESUMEN

Tarazón de Soto, Susana. Estudio comparativo entre las Reacciones de Hemaglutinación, Inmunofluorescencia y Aglutinación en el diagnóstico de la Toxoplasmosis. Maracaibo 1.980.

Se realiza un estudio Comparativo entre las Reacciones de Hemaglutinación Indirecta, Inmunofluorescencia Indirecta y Aglutinación Directa en 125 muestras de suero sanguíneo humano, obteniendo los siguientes resultados:

- Concordancia entre I.F.I. y H.A.I.: 86.4%
- Concordancia entre I.F.I. y A.D.: 82.4%
- Concordancia entre H.A.I. y A.D.: 82.4%

Las discordancias observadas entre las reacciones, solo comprometieron títulos bajos, considerados de poco valor diagnóstico y el análisis estadístico mediante el Chi cuadrado reveló que las diferencias observadas en los resultados de las pruebas no son significantes, por lo cual se concluye tomando en cuenta todas las ventajas de la Reacción de Hemaglutinación Indirecta, que ésta resulta la más práctica para la investigación de anticuerpos antitoxoplasma en los laboratorios de rutina diagnóstica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- NICOLLE, C. et Manceau, L. Sur une infection á corps de Leishman (au organisme voising) du gondi. *Comp Rend. Acad. Sci.* 147:763. 1908.
- 2.- SPLENDORE, A. Un novo protozoa parassita del conigli, incontrato nele lesioni anatomiche de uma malattia che ricorda in molti punti il Kala-azar del l'omo. *Rev. Soc. Sci.* 3: 109-112. 1908.
- 3.- SABIN, A.B. and Feldman, H.A. Dyes as microchemical indicators of a new inmuniti affecting a Protozoan parasite (Toxoplasma). *Science* 108:660 1 948.
- 4.- WARREN, J. and Sabin, A.B. The complements fixation in Toxoplasmic infection. *Proc. Soc. Exp. Bio. and Med.* 51:111 1 942.
- 5.- FLETCHER, S. Indirect fluorescent antibody technique in the serology of *Toxoplasma gondii*. *J. Clin. Path.* 18:193. 1.965.
- 6.- CAMARGO, M.E. Improved Technique of indirect Immunofluorescence for serological diagnosis of Toxoplasmosis. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao. Paulo* 6 3:117-118. 1.964.
- 7.- CAMARGO, M.E. Comparative evaluation of toxoplasmosis indirect fluorescent and Sabin-Feldman dye test in a thousand human sera. A few unexpected results. *Rev. Int. Med. Trop. Sao Paulo.* 8 2:62-68. 1.966.
- 8.- 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 serun samples. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 18, 4:215-226. 1976.
- 9.- CAMARGO, M.E. and Leser, P.G. Diagnostic information from serological test in human toxoplasmosis. II.- Evolutive study of antibodies and serological patterns in acquired toxoplasmosis, as detected by hemagglutination., complement fixation, IgG and Ig M-immunofluorescence test. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 18 4:227-238. 1976.
- 10.- WALTON, B.C. Benchoff, B. M. and Brooks, W.H. Compararison of the indirect fluorescent antibody test and methylene blue dye test for detection of —Antibodies to *Toxoplasma goadii*. *Amer. J. Trop. Med.* 15: 149-152 1966.
- 11.- SWLZER, A.J. and Hall, E.C. Indirect fluorescent antibody test for parasitic disease. IV-Statistical study of variation in the indiriet fluorescent antibody (I.F.A.) test toxoplasmosis. *Amer. J. Clin. Path.* 86:401. 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, P. y Thiermann, E. Comparación de las reacciones de Sabin-Feldman e Inmunofluorescencia indirecta para toxoplasmosis en 1.263 sueros humanos. *Bol. Chil. Para.* 25 3,4:102-105. 1970.
- 14.- JACOBS, J. and Lunde, M.N. A hemagglutination test for toxoplasmosis. *J. Para* 43:308-314. 1957.
- 15.- FULTON, J.D. and Turk, J.L. Direct agglutination test for *Toxoplasma gondii*. *Lancet* 2:1068-1069. 1959.
- 16.- FULTON, J.D. Studies on agglutination of *Toxoplasma gondii*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 59 6:694-704. 1965.
- 17.- FULTON, J.D. Microagglutination test for *Toxoplasma* antibodies. *Immunol.* 9:491-495. 1965.
- 18.- SHIM, J.C. and Lind, K. A *Toxoplasma* flocculation test. *Act. Path.Micro Scand.* 50:445. 1960.
- 19.- VOLER, A., Bidwell, D.E., Bartlett, A., Fleck, D.G., Perkins, M. and Oladehin, B. A microplate enzyme-immunoassay for *Toxoplasma* antibody. *J.Clin. Path.* 29 2:150-153. 1976.
- 20.- W.H.O. Toxoplasmosis. *Ser. Inf. Tec.* 431. 1968.
- 21.- KAGAN, I. and Norman, L. Serodiagnosis of parasitic disease. *Manual of Microbiology* chapter 51:453-486. 1970.
- 22.- GARIN, J.P. Serologie de l'infection toxoplasmique en particulier a son debut: Méthodes et interpretation des resultats. Avant-Propos pag. 1 Fondation Merieux Lyon 1975.
- 23.- GARIN, J.P. et Ambroise Thomas, P. Le diagnostic serologique de la Toxoplasmosis par le methode des anticorpos fluorescents (technique indirecte) *Presse Medicale* 71:2.485. 1963.
- 24.- COUTINHO, S.G., Andrade, C.M., Malvar, G.M. e Ferreira, L.F. Análise comparativa entre as sensibilidades da Reacao indirecta de anticorpos fluorescentes e da Reacao de Sabin-Feldman na pesquisa de Anticorpos séricos para Toxoplasmosis. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 4 (5); 315-325. 1970.

- 25.- CIMERMAN, B., Amato Neto, V., Campos, R., Camargo, M.E. e da Silva, L. Análise da sensibilidade da prova de aglutinação direta para diagnóstico da Toxoplasmose. *Rev. Int. Med. Trop. Sao Paulo.* 19 (2):113-116. 1.977.
- 26.- LA PIERRE, J., Holler, C., Tourte-Schaeffer, C. et Lebas-Saison. E. Etude comparée des réactions d'immunofluorescence indirecte et d'agglutination directe avec test au 2-Mercapto-Ethanol dans le diagnostic de la Toxoplasmose. *Serologie de l'infection toxoplasmique en particulier a son debut: Methodes et interpretation des resultats.* pp.141-145. Fondation Merieux 1.975.
- 27.- PELOUX, Y., Couzineau, P., Baufine Ducrocq, H., Tayot, J.L. et Jacquot, D. La Reaction D'agglutination direct des Toxoplasmas. Roles des Immunoglobulines 19S et 7S. Note Preliminaire. *Ann. Biol. Cli.* 31:185-192. 1973.
- 28.- LUNDE, M.N. and Jacobs, L. A comparison of results of hemagglutination and dye tes for Toxoplasmosis in a survey of Trinidad Natives. *Amer J. Trop. Med, and Hyg.* 7:523-525. 1.958.
- 29.- KNIERIN, F., Niedmann, G., y Thiermann, E. La Reacción de Hemaglutinación aplicada al diagnóstico serológico de la Toxoplasmosis. *Bol. Chil. Para.* 15: (3) 48-50. 1960.