

DIAGNOSTICO DE LA TOXOPLASMOSIS*

DR. EUSTAQUIO ROCHE

LA TOXOPLASMOSIS humana como entidad nosológica permaneció ignorada por los clinopatólogos, histopatólogos y parasitólogos durante muchos años. No podemos decir que se trata de una parasitosis joven en su historia, sino su diagnóstico es el relativamente nuevo. Hace 53 años que se observó por primera vez el parásito, 35 que se encontró en lesiones humanas y considerado como el agente patógeno, y es escasamente 25 años cuando al toxoplasma se le atribuye y se comprueba la acción patógena en un gran número de padecimientos humanos. Hoy sabemos que la toxoplasmosis humana existía desde hace más de cien años; puesto que enfermedades bien estudiadas clínicamente y catalogadas de etiología desconocida, como la Ataxia de Friedeich descrita en 1861 por su autor y la "Idiicia amaurotica descrita por Tay en 18881 y por Sach en 1886, estudiados estos mismos padecimientos en nuestros días han demostrado la presencia y la acción patógena del *toxoplasma gondii* en porcentajes muy altos.

El *toxoplasma gondii* tiene la facultad de invadir y proliferar en todos los tejidos, órganos y sistemas de nuestro organismo y en cualquiera época de la vida del ser humano incluyendo la vida intrauterina. Se desarrolla en células normales procedentes de las tres capas blastodérmicas y aun en las altamente diferenciadas, como las del miocardio, retina, cristalino, S. R. E., sistema colágeno y en el tejido placentario; donde no se desarrolla es en los eritocitos, se trata de un parásito sistémico aunque tiene predilección por el sistema nervioso.

Puede permanecer en los tejidos y órganos en forma latentes (forma quística) durante muchos años, pudiendo, sin conocer las causas, desencadenar en un momento dado un cuadro patógeno serio y hasta producir la muerte. Esta forma de evolución del parásito se observa frecuentemente en la mujer, que aparentemente sana, al ser madre, el toxoplasma se libera, se fija en la placenta,

* Trabajo leído por su autor en el Symposium sobre toxoplasmosis desarrollado en la sesión del 27 de junio de 1962.

pasa al producto infectándolo y produciendo una pléyade de trastornos, que es lo que conocemos como *Forma congénita de la toxoplasmosis*.

Tomando en cuenta la opinion de eminente clínicos e investigadores y la nuestra propia, para el diagnóstico integral de la toxoplasmosis, contamos actualmente con *Diagnóstico clínico*, *Diagnóstico de laboratorio* y *Pruebas terapéuticas*.

DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Este diagnóstico agrupa dos grandes entidades clínicas: *Toxoplasmosis congénita* y *Toxoplasmosis adquirida*, con sus formas y variedades de cada una, como se expone en seguida:

TOXOPLASMOSIS CONGENITA

Forma materna infantil (perinatal)

Madre aparentemente sana:aborto placenta previa.

Puede originar:mortinato (muerte fetal tardía) producto vivo con malformaciones.

Forma infantil temprana

El niño al nacer puede presentar:

Variedad cerebro-oculo-medular

Hidrocefalia

Macro y microcefalia

Coriorretinitis

Calcificaciones cerebrales

Trastornos psicomotores

Ataques epilépticos

Contracciones musculares

Ataxia, idiocia, etc.

Variedad parasistémica

Hepatitis con o sin ictericia

Neumonitis

Esplenomegalia

Cardiopatías

Erupción eritema-papulosa

Poliadenitis con o sin fiebre

Trastornos psíquicos (esquizofrenia)

Trastornos mentales oligofrenia idiocia
Trastornos de la conducta (irritabilidad)
Malformaciones congénitas.

Forma infantil tardía

Variedad inaparente

El niño al nacer está aparentemente normal, presentando en los primeros años, en la juventud, o en el adulto los siguientes trastornos:

Trastornos oculares
Trastornos pulmonares
Trastornos psico-motores
Trastornos psíquicos, mentales y de la conducta
Malformaciones congénitas
Adenopatías con o sin fiebre
Calcificaciones cerebrales, etc.

TOXOPLASMOSIS ADQUIRIDA

Esta forma puede observarse en el niño, en el adulto y en el anciano, comprende las mismas variedades que la anterior o forma tardía.

Durante algún tiempo imperó la idea de que en la toxoplasmosis infantil predominaba la sintomatología nerviosa, en cambio en el joven y en el adulto predominaban las manifestaciones de otros aparatos. Nelson Waldo en 1959, expone el llamado criterio diagnóstico para la forma infantil.

Aunque se ha mencionado ya que los síntomas de predominio nervioso inciden con mayor frecuencia en los niños, en tanto que las manifestaciones de otros aparatos se observan con mayor frecuencia en el adulto, nuestro criterio es que el adulto puede sufrir su toxoplasmosis, con manifestaciones neurológicas, y el niño puede presentar el cuadro descrito para el adulto con manifestaciones respiratorias, cardíacas, cutáneas y viscerales.

Por lo que llevamos expuesto, y a pesar de los conocimientos que actualmente se tienen acerca de la patogenia de este padecimiento, las formas clínicas no están todavía del todo precisas, y su diagnóstico es un tanto difícil, lo que requiere para ello la ayuda del laboratorio. Entre las pruebas específicas para el diagnóstico de la toxoplasmosis, contamos hasta la fecha, con los siguientes métodos:

Métodos directos

Primero. Observación directa del parásito en exudados orgánicos como líquido cefalorraquídeo, exudado peritoneal, pleural, placentario, bronquial, o bien de biopsias de ganglios, de lesiones papulosas cutáneas, humor acuoso del ojo, de órganos después de intervenciones quirúrgicas o postmortem en improntas de órganos o en estudios histopatológicos.

Segundo. Aislamiento del parásito por inoculación en animales de laboratorio (ratón, cobayo, conejo, hamster, etc.), con los especímenes mencionados, o siembra de los mismos en cultivo de tejidos o en embrión de pollo. Estas pruebas consideradas como las de mayor valor diagnóstico, no son fáciles de realizarse en todos los laboratorios por requerir material y personal especializado.

Métodos indirectos

- 1o. *Prueba de fijación del complemento* (Warren y Sabin, 1942), con antígeno obtenido por electroforesis del cultivo de toxoplasma en corioalantoides de embrión de pollo, técnica de Westphal (1951). Esta reacción es poco sensible y de técnica complicada.
- 2o. *Reacción de neutralización*, propuesta por Sabin y Ruchman (1942).
- 3o. *Prueba alérgica o intradermo-reacción* a la toxoplasmina (Frankel 1948) usando lisados de toxoplasma, presenta muchas reacciones falsas de tipo alérgico, por eso su importancia como método diagnóstico se ha limitado a encuestas epidemiológicas.
- 4o. *Reacción del colorante, o modificación citoplásmica*, Sabin Feldman (1948), perfeccionada por Sabin, Enchenwal, Feldman y Jacobs. (1952) modificada en su fase final por Pangalos y cols. (1956).
- 5o. *Prueba de hemoaglutinación* (Jacobs y Lunde, 1957).
- 6o. *Reacción V (Lr)* o prueba biológica, utilizando el pez *Lebistes reticulatus* (Guppy), Varela y cols. (1957).
- 7o. *Prueba de precipitación*, de O'Connor (1957).
- 8o. *Prueba con anticuerpos fluorescentes* Goldman (1957).
- 9o. *Prueba de aglutinación* de Fultón y Truk (1959).

De las reacciones mencionadas, dos serán las que requieran nuestra atención. La prueba del colorante de Sabin y Feldman, por considerarla en estos momentos la de mayor valor diagnóstico, además de introducir en las técnicas de laboratorio un nuevo fenómeno serológico, y por ser la primera vez que es conocido el papel de la properdina en una reacción antígeno-anticuerpo en la serología humana.

La segunda prueba la del pez *Lebistes reticulatus* propuesta por Carletti y Berle para estudiar las propiedades farmacológicas del ácido lisérgico, y que

fue introducida por primera vez por Varela y cols., para el diagnóstico de la toxoplasmosis, abre un nuevo campo en la fisiopatología del sistema nervioso, puesto que sustancias procedentes del metabolismo de parásitos son capaces de producir trastornos psíquicos.

Prueba del colorante

Técnica. Con el suero sanguíneo problema, sin desensibilizar, se hacen diluciones con solución salina (Cl Na al 0.9%) del 1:2 al 1:4096 o más; a cada tubo conteniendo 0.1 ml, se le agrega 0.1 ml de antígeno compuesto de toxoplasmas vivos, obtenidos del exudado peritoneal de ratones de tres días de infectados, recogidos en un tubo con anticoagulante heparina o citrato de sodio al 3.8% y agregándole por cada 0.2 ml de exudado, 0.8 ml de factor accesorio (F. A. suero humano, que sea negativo a toxoplasmosis). Los tubos se agitan y se colocan en baño maría a 37°C durante una hora. Después de ese tiempo se agrega a cada tubo 0.02 ml de solución de azul de metileno con pH entre 10.4 y 11.

Con pipeta Pasteur se toma una gota de cada tubo se coloca en un portaobjeto, se tapa con cubre objetos y se observa al microscopio con objetivo seco del N° 40.

La reacción se considera positiva, cuando el protoplasma del parásito no se colorea, y es negativo cuando el toxoplasma se colorea con el azul. En la práctica, en el campo del microscopio se observan toxoplasmas con protoplasma coloreado y sin colorear, en este caso se cuentan 100 a 200 toxoplasmas y si en la suma hay más del 50% sin colorear la reacción se da como positiva, en el caso contrario se da como negativa. Pangalos y cols., después de sacar los tubos, del baño maría, toman con asa una pequeña cantidad del contenido de cada tubo, hacen un frotis, y los colorean por Giemsa; la observación se hace con objetivo de inmersión, lo cual permite apreciar ciertas modificaciones estructurales (cromatolisis); para nosotros esta modificación trae alteraciones en la fijación y coloración que no deben ser atribuidas a la reacción.

Esta prueba se basa en el hecho de que los toxoplasmas pierden su afinidad por el azul de metileno en presencia de anticuerpos específicos y un factor accesorio termolabil. Roth (1953), y Grönroos (1955), demostraron que son necesarias las fracciones del complemento C₂, C₃, C₄, para que actúe el F. A.; el cual se identifica con la *properdina*; properdina + C₂ + C₃ + C₄ en presencia Mg, ++ (+ C₁), tienen acción sobre el toxoplasma en la reacción del colorante. Dasgupta (1959), cree que la reacción se verifica con la interacción del ácido ribonucleico del citoplasma, puesto que en los toxoplasmas coloreados encuentra dicho ácido, lo cual es imposible en los no coloreados.

Desmots (1954), observa que en la prueba hay un proceso de lisis que

comienza con la inmovilización del toxoplasma, sigue una fase de edema para terminar en lisis. Otros investigadores observaron dos fases: primera, invasión de anticuerpos a la célula en presencia del F. A., produciendo alteraciones en el citoplasma con edema; en la segunda fase se presenta lisis parcial con expulsión del citoplasma.

*Prueba del *Lebistes reticulatus**

Técnica. Se toman de 2 a 4 ml de L. C. R. se colocan en un tubo de ensayo de 195×22 mm., se le añade de 4 a 8 ml de piridina ($C_5 H_5 N$), inmediatamente se coloca en baño maría a $55^\circ C$, haciendo pasar una corriente de aire a fin de eliminar toda la piridina y obtener un extracto seco que queda adherido a las paredes del tubo. El extracto se disuelve en 5 ml de agua de la llave exenta de cloro y se coloca, dentro, una hembra de *Lebistes reticulatus* (guppy). Cuando la prueba es positiva el color gris verdoso de los peces va oscureciéndose poco a poco hasta ennegrecerse, la prueba comienza a 10 ó 15 minutos para terminar a la hora más o menos. La causa del ennegrecimiento es debido a que los cromatóforos de las aletas sobre todo de las dorsales y de las escamas que se encuentran uniformemente repartidas en finas hileras, se aglutinan formando pequeños conglomerados. Este fenómeno es debido probablemente a que ciertas sustancias, como el ácido lisérgico y la dietilamina del ácido lisérgico, actúan sobre la hipófisis o la región del hipocampo y producen, por vía hormonal, el estallido de los cromatóforos.

Prueba terapéutica

Se conoce la acción, tanto "in vivo" como "in vitro" de determinadas drogas, entre ellas la pyrimethamina (2,4-diamino-5-chlorophenyl-6-ethyl primidina) y las sulfas sobre todo las llamadas de eliminación lenta y la acción sinérgica de ambas en los animales y en el hombre.

Si tomamos en cuenta, por una parte los resultados curativos con dichas drogas en padecimientos con cuadros clínicos con sospechas de toxoplasmosis cuyas reacciones serológicas son débilmente positivas y aun negativas, y por otra la exacerbación de los principales síntomas con aumento de la positividad de las reacciones serológicas, (estado de reactivación) que se presentan al principio de administrar dichas drogas en un tratamiento adecuado la observación de los datos mencionados nos puede ayudar a inclinarnos en favor de un diagnóstico de toxoplasmosis.

REFERENCIAS

- Awad, F. I.: *The diagnosis of Toxoplasmosis. Lack of specificity of Sabin-Feldman Dye Test* Lancet, 267, 1055-1056, 1954.
- Carletti, A., y Berle, B. *Experientia*, 71, 312, 1955.
- Dasgupta, B., y Kulasiri, C.: *Some cytochemical observation on Toxoplasma gondii*. Parasitology 49:3 y 4:594600.
- Desmonts, G.: *Observations on Biological and Clinical Diagnosis of Acquired Toxoplasmosis in Childrens*, 1956.
- Feldman, H. A.: *Epidemiological aspects of Toxoplasmosis*. VII International Congress Paediatrics. Copenhagen, Denmark. 1956.
- Feldman, H. A.: *The Clinical Manifestation of Laboratory Diagnosis of Toxoplasmosis*. Am. Jour. Trop. Med. and Hyg. 2: 360-364, May 1953.
- Feldman, H. A.: *The relationship of toxoplasma antibody activator to the serumproperdin system*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 66, 263, 1956.
- Frankel, J. H.: *Desmal hypersensitivity to toxoplasma antigens toxoplasmin*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48: 634-639, 1948.
- Freud, y Ric.: *Klinische Studien über die halbseitige cerebrallähmung der Kinder Viena*. 1891.
- Friedrich: *Comunicación original XXXVI Congreso de Naturalistas y Médicos Allemand a Spire*. 1861.
- Fulton, J., y Turk, J.: *Prueba directa de aglutinación*. Lancet, 12: 1068-1069, 1959.
- Goldman, M.: I. *Staining Toxoplasma gondii with fluorescent labeled antibody*. J. Exper. Med. 105-549-556, 1957.
- Goldman, M.: I. *Staining Toxoplasma gondii with fluorescent labeled antibody*. J. Exper. Med. 105-549-556, 1957.
- Goldman, M.: II. *A new serological test for antibodies to Toxoplasma cared upon inhibition of specific staining*. J. Exper. 105-557-573, 1957.
- Gröthroos, P.: *The action of properdin on Toxoplasma gondii*. Ann. Med. Exper. et Biol. Fenniac 33-310, 1955.
- Jacobs, L., y Lunde, M. N.: *Hemagglutination a test for toxoplasmosis*. Science. 125. 3256-1035, 1957.
- Jettmar, H. M.: *Zum Nachweis toxoplasmafeindlicher Qualitäten im Menschenserum*. Wein klin. Wehschr. 66, 276, 1954.
- Nelson, Waldo.: *The Cyclopedia of Medicine, Surgery, Specialties, Review service*. 1959.
- O'Connor, G. R.: *Anti-toxoplasma precipitins in aqueous humor A. M. A. Arch. Ophth.* 57: 52-57, 1957.
- Pangalos, G. E; Pavlatos, M., y Mercier P.: *The Sabin-Feldman dye test*. Trans Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 506, 583-586, 1956.
- Pinkerton, H., y Weinman, D.: *Toxoplasma infection in man*. Arch. Path. 30, 374-392, 1940.
- Pinkerton, H., y Henderson, R. G.: *Adult toxoplasmosis*. J. A. M. A. 116, 9, 807-814, 1941.
- Remington, Jacobs, Kaufmann: *Chronic Toxoplasma infection Human uterus*. Journal Parasitology 44: 587, 1958.
- Roch, E. U.: *Consideraciones a la prueba del colorante o modificación citoplasmática en el diagnóstico de la toxoplasmosis*. Primer Congreso Nacional de Microbiología en México. 1956.
- Roch, E. U.: *Métodos y pruebas de laboratorio para el diagnóstico de la Toxoplasmosis*. Salud Púb. Méx. Ep. V, Vol. II No. 2 pp 361-364, 1961.
- Roch, E. U.: *La Toxoplasmosis con la Higiene Materno Infantil*. Vol. XIII. No. 6, Nov-Dic, pp. 202-207, 1961.
- Roth, W.: *Zur wirkungsweise des Aktivatorserum an Toxoplasma gondii*. Schweiz. Ztschr. f. allg. Path. 16: 914, 1953.
- Sabin, A. B., y Ruchman I.: *Characteristics of the Toxoplasma neutralizing antibody* Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 51: 1, 1942.
- Sabin, A. B., y Feldman, H. A.: *Dyes as Microchemical Indicators of a new Immunity phenomenon affecting a Protozoon Parasite (Toxoplasma)*, Science, 118: 660, 1948.
- Sabin, A. B., y col.: *Clinical and serologic diagnosis of Toxoplasmosis in man*. J. A. M. A., 150: 1063, Noviembre 15, 1952.
- Sabin, A. B.: *Toxoplasmosis: Current status and unsolved problems Introductory remarks*. Trop. Med. Hyg., 2: 360, Mayo, 1953.

- Siim, J. Ch.: *Acquired Toxoplasmosis. Report of seven cases with strongly positive serologic reactions.* J. A. M. A. 147: 1641, 1951.
- Treviño, A.; Varela, G., y Palencia, L.: *Terapéutica de la toxoplasmosis experimental del ratón blanco con hidroxiclороquina (win 1258-2) 5-p-clorofenil-2, 4-diamino-6-etil primidina (Pirimetamina o Daraprim) y Fumagilina (Fumidil).* Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop., 3, 217, 1953.
- Varela, G.; Roch, E., y Vázquez, A.: *Virulencia, cultivo, polisacáridos, toxinas y la prueba del colorante, estudiados en una cepa de Toxoplasma gondii.*
- Varela, G.; Roch, E., y Torroella, J.: *Estudio de la Toxoplasmosis ocular.* Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop., 16: 17, 1956.
- Varela, G.; Vázquez, A., y Torroella, J.: *Probable existencia de la dietilamida del ácido d/lisérgico en la infección por Toxoplasma gondii.* Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop., 16: 29, 1956.
- Varela, G.; Palencia, L., y Vázquez, A.: *Utilización del pez Lebistes reticulatus (guppy) en el diagnóstico de la Toxoplasmosis.* Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop., 17: 75, Junio, 1957.
- Varela, G.; Roch, E., y Palencia, L.: *Toxoplasmosis.* Rev. Mex. Pediat., 27: 233, Julio-Agosto, 1958.
- Warren, J., y Sabin, A. B.: *The complement fixation reaction in toxoplasmosis infection.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 51: 11, 1942.
- Weinman, D., y Klatchko, H. J.: *Description of toxin in Toxoplasmosis.* The Yale Jour. Biol. Med., 22: 232, 1950.
- Weinman, D.: *Toxoplasma y Toxoplasmosis.* Ann. Rev. Microbiol., 6: 281, 1952.
- Westphal, A., y Finke, L.: *Der Hund als epidemiologischer Faktor der Toxoplasmose des Menschen.* Ztschr. f. Tropenmed. u. Parasit., 2: 236, Sep. 1950.
- Wolf, A.; Cowen, D., y Paige, B. H.: *Human toxoplasmosis: Occurrence in Infants in Encephalomyelitis. Verification by transmission to animals.* Am. Jour. Path., 15: 657, 1939.