



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

FRECUENCIA DE TOXOPLASMOSIS CONGÉNITA EN NIÑOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO DETECTADOS POR TAMIZ NEONATAL

TESIS

Para obtener el grado de

ESPECIALISTA EN PEDIATRÍA

Presenta

Dr. Mario García López

Tutora y asesora: Dra. María Dolores Correa Beltrán



México D.F.

Abril del 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

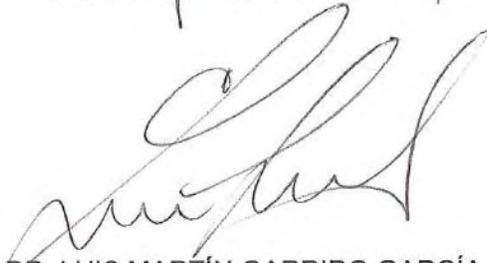
**FRECUENCIA DE TOXOPLASMOSIS CONGÉNITA EN
NIÑOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO DETECTADOS POR
TAMIZ NEONATAL**



DR. ALEJANDRO SERRANO SIERRA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE
ESPECIALIZACIÓN EN PEDIATRÍA



DRA. ROSAURA ROSAS VARGAS
DIRECTORA DE ENSEÑANZA



DR. LUIS MARTÍN GARRIDO GARCÍA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO



DRA. MARÍA DOLORES CORREA BELTRÁN
TUTORA DE TESIS Y ASESORA METODOLÓGICA

AGRADECIMIENTOS

Con todo mi cariño para quienes han hecho todo en la vida para que pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano en los momentos difíciles, a ustedes por siempre mi respeto y agradecimiento:

Dios

Mi esposa Dra. Cindy Maldonado García

Mis padres Mario Gabriel García López y Gloria López Bañuelos

Mis hermanas Mariana Guadalupe García López y Andrea García López

Mi tutora de tesis y asesora metodológica Dra. María Dolores Correa Beltrán,
Directora de Investigación del Instituto Nacional de Pediatría

Al personal del Laboratorio de Inmunología Experimental del Instituto Nacional de Pediatría

A mis profesores, compañeros médicos y amigos que estuvieron conmigo durante la Residencia de la Especialidad de Pediatría

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Inmunología Experimental, el Servicio de Neonatología, el Servicio de Infectología y el Archivo del Instituto Nacional de Pediatría.

Esta tesis fue parcialmente financiada por CONACyT, proyecto 69666.

CONTENIDO

RESUMEN	6
INTRODUCCIÓN	8
Antecedentes históricos.....	8
Etiología	10
Epidemiología	14
Patología y etiopatogenia	17
Cuadro clínico.....	23
Infección adquirida aguda.....	23
Reactivación de la infección crónica por <i>T. gondii</i> en inmunodeprimidos.....	25
Toxoplasmosis ocular	25
Toxoplasmosis congénita	27
Diagnóstico	32
Métodos directos: aislamiento del organismo e histología	32
Métodos directos: pruebas moleculares.....	34
Métodos indirectos: pruebas serológicas	34
Métodos indirectos: ensayos de proliferación.....	40
Diagnóstico en situaciones clínicas específicas.....	41
Diagnóstico diferencial.....	48
Tratamiento.....	48
Los agentes terapéuticos.....	49
Tratamiento en entornos clínicos específicos.....	52
Pronóstico	59
Prevención	60
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	62
JUSTIFICACIÓN	62
OBJETIVOS.....	62
Objetivo	62
Objetivos específicos	62
HIPÓTESIS.....	62
MATERIAL Y MÉTODOS	63
Tipo de estudio	63

Estrategia del estudio	63
Tamaño de la muestra	64
Población elegible	64
Criterios de selección.....	64
1. Criterios de inclusión.....	64
2. Criterios de exclusión.....	64
Diagnóstico clínico y seguimiento.....	65
Definición de casos de toxoplasmosis congénita.....	66
Métodos de laboratorio	67
Prueba de tamiz.....	67
Pruebas confirmatorias	68
Análisis de resultados y pruebas estadísticas	72
RESULTADOS	72
DISCUSIÓN.....	83
CONCLUSIONES	85
PERSPECTIVAS.....	86
BIBLIOGRAFÍA.....	87

RESUMEN

Introducción. *Toxoplasma gondii* es un parásito intracelular obligado, que se multiplica únicamente dentro de las células vivas nucleadas. La infección congénita es la segunda en frecuencia y en importancia clínica en todo el mundo, con una prevalencia que varía según la localización geográfica de 0.01 a 0.3%. En la ciudad de México se calculó una prevalencia de 0.2% según un estudio piloto realizado en el 2005. La transmisión congénita ocurre en la mayoría de los casos como resultado de la infección materna primaria durante la gestación. La tasa de transmisión vertical puede ser del 6% a las 13 semanas de gestación, 40% a las 26 semanas, y 72% a las 36 semanas. Si ocurre infección fetal por *T. gondii* en el primer trimestre las consecuencias para el feto regularmente son graves e incluso fatales (61% de casos); durante el segundo trimestre, los neonatos suelen ser prematuros y desarrollar coriorretinitis, afectación del sistema nervioso central (SNC) y hepatoesplenomegalia (25% de los casos); en el tercer trimestre el 91% de los recién nacidos son asigmológicos y a término; sin embargo, estos casos posteriormente desarrollarán secuelas neurológicas, oftalmológicas o auditivas hasta en un 90% y en un tiempo que puede ser de tres meses a 20 años. Existen pocos estudios en relación a la frecuencia de infecciones congénitas en nuestro país; y debido a la importancia que implica su diagnóstico temprano.

Objetivo. Determinar la frecuencia de infección congénita por *Toxoplasma gondii* en niños de la ciudad de México detectados por tamiz neonatal.

Metodología. Se trata de un estudio prospectivo, observacional y transversal, que se basa en la detección de casos sospechosos de infecciones congénitas a través de una prueba "multiespectro". Se cuantificaron niveles de IgM e IgA de 1606 muestras sangre obtenida de cordón umbilical o punción cutánea del talón. Todo niño que tuvo un resultado con valores anormales de IgM o IgA se examinó clínicamente en los servicios de Infectología, Audiología, Oftalmología y en caso necesario, Neurología y Seguimiento del Neurodesarrollo del Instituto Nacional de Pediatría (INP); se tomó sangre periférica para determinar varias etiologías infecciosas, entre ellas toxoplasmosis congénita, la cual se diagnosticó por medio de la detección de anticuerpos específicos por ELISA y Western blot, y de DNA del parásito por PCR en tiempo real, así como confirmación por seguimiento serológico y clínico. Con base

en los casos confirmados, se calculó la frecuencia de toxoplasmosis congénita en niños nacidos en hospitales de la Secretaría de Salud de la ciudad de México.

Resultados. Se tamizaron 1734 neonatos, de los cuales 153 correspondieron a pacientes atendidos en el INP (8.8%) y cuatro en el INPER (0.2%); el resto corresponden a pacientes del Hospital General Manuel Gea González (90.9%). Noventa y nueve neonatos tuvieron valores positivos de IgA y 35 de IgM, en total 113 casos fueron positivos a alguna de las inmunoglobulinas o ambas; a estos pacientes se les practicaron exámenes de laboratorio específicos, confirmándose el diagnóstico en cuatro.

Conclusiones. La frecuencia de 0.25% casos positivos entre los recién nacidos tamizados es consistente con la frecuencia de la infección congénita por *T. gondii* en el mundo y sobre todo la reportada en el estudio piloto del 2005 en la ciudad de México. La utilidad de la prueba de tamizaje neonatal fue la detección de valores positivos a IgM o IgA en aquellos pacientes con sospecha diagnóstica de infección congénita. Las manifestaciones clínicas de los pacientes con infección congénita por *T. gondii* fueron congruentes con las reportadas en la literatura médica. Se necesitan más estudios a nivel nacional para determinar la frecuencia de toxoplasmosis congénita y otras infecciones congénitas a nivel nacional; además de determinar otras posibles causas de elevación anormal de los valores de IgM e IgA en la prueba de tamizaje, aparte de las infecciosas.

INTRODUCCIÓN

Antecedentes históricos

Aproximadamente mil millones de personas en el mundo están infectadas por *Toxoplasma gondii*. Por lo general el parásito no causa síntomas en la mayoría de las personas durante las etapas aguda o crónica de la infección. Sin embargo, la infección primaria puede resultar en daño neurológico importante y secuelas oculares en los fetos y recién nacidos con infección congénita, llegando incluso a la muerte. Se postula actualmente que la infección crónica puede tener consecuencias a largo plazo, e incluso varios investigadores están abordando el posible impacto de la infección latente en los trastornos psiquiátricos y conductas anormales. Por definición, lo mejor es usar el término de infección por *T. gondii* cuando se hace referencia a la infección primaria o crónica asintomática, y el de toxoplasmosis cuando la infección primaria o reactivación de la infección crónica provoca síntomas, signos o ambos.¹⁹

Toxoplasma gondii es un parásito descubierto a inicios del siglo XX, y fue Leveran en el año 1900 quien descubrió en las aves un protozoo cuya morfología era compatible con el parásito. En 1908, Nicolle y Manceaux aislaron del hígado y bazo de un roedor africano (*Ctenodactylus gundi*) un parásito intracelular al que denominaron *Toxoplasma gondii*.^{1,13} Al mismo tiempo en Brasil, Splendore descubrió el agente en conejos de laboratorio y un año después se le reconoció como un nuevo género. En 1910 Mello describió la enfermedad en un perro.¹ En 1913 Castellani realizó las primeras descripciones clínicas de toxoplasmosis humana.

En 1923 Janku reconoció el primer caso en un ser humano, describiendo al parásito encontrado en la retina de un bebé mediante una necropsia. En 1937 Walf y Cowen describieron la toxoplasmosis humana y documentaron por primera vez el mecanismo de transmisión congénita. Un año después Frenkel desarrolló un examen de hipersensibilidad intradérmica que resultó útil para el diagnóstico de las formas crónicas y los estudios epidemiológicos. El descubrimiento de *T. gondii* como causa de enfermedad adquirida se acreditó a Pinkerton y Weinman, quienes en 1940 describieron un caso de enfermedad sistémica que llegó hasta la muerte.^{1,13} En 1948

Sabin y Feldman establecieron una reacción serológica basada en la inhibición de la tinción de los toxoplasmas vivos con azul de metileno al ponerse en contacto con anticuerpos específicos, lo que permitió a los investigadores estudiar los aspectos epidemiológicos y clínicos, definiendo el espectro de la enfermedad en los seres humanos.^{1,13} En los años sesenta inició el desarrollo de pruebas serológicas para la detección de infección aguda en embarazadas, basadas en la detección de inmunoglobulina M (IgM). En 1958 la Organización Mundial de la Salud y la Organización para la Agricultura y la Alimentación (OMS/FAO) incluyeron a esta zoonosis en los programas de salud pública. Fue hasta 1965 que Hutchinson demostró su ciclo vital, en experimentos de transmisión entre gatos y ratones; demostrando también la viabilidad larga de los ooquistes en agua hasta por un año o más. En 1970 Frenkel en Estados Unidos y Hutchinson en Inglaterra, confirmaron el ciclo de vida y las formas de transformación en la naturaleza. En el mismo año, Dubey y Frenkel descubrieron cinco formas de *T. gondii* en el epitelio intestinal del gato e hicieron su caracterización biológica y morfológica. Frenkel en 1973 definió al bradizoíto como la forma del parásito encontrada dentro de los quistes tisulares.¹

De 1970 a 1992 se hicieron numerosas investigaciones sobre aspectos bioquímicos de *T. gondii*, describiéndose la presencia de moléculas que participan en el anclaje de proteínas de membrana del taquizoíto. En 1976 Ruskin y Remington describieron casos de encefalitis en pacientes inmunocomprometidos con cáncer y trasplantados. En 1972 Wallace demostró una seroprevalencia del 80% de *T. gondii* en la población de Paris, Francia. Johnson en 1983 experimentó con antígenos que conferían protección, siendo respaldado por Araujo y Remington utilizando antígenos de 28 a 54 kDa. Nichols en el mismo año, describió antígenos de excreción y secreción de *T. gondii* localizados en diferentes organelos altamente inmunogénicos. Vollmer en 1987 observó que las células T cooperadoras facilitan la muerte del parásito mediada por macrófagos. A partir de ese año han surgido numerosas publicaciones sobre la respuesta inmunitaria protectora y dañina, así como el desarrollo de posibles vacunas.¹ En 1988 Dubey y Beattie demostraron que la toxoplasmosis es causa de aborto y muerte neonatal en otros mamíferos. Osorio describió en 1988 parte del genoma de *T. gondii*, y desde entonces se han identificado muchos genes involucrados en funciones bioquímicas y biológicas importantes; actualmente el genoma de la cepa ME49, clona B7 de *T. gondii* está totalmente secuenciado.¹ En

1985 Werk realizó una revisión de los mecanismos de penetración de *T. gondii* a la célula hospedera. En 1989 Luft demostró el incremento de casos de encefalitis toxoplásmica en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).¹ Cesbron en 1989 y Charif en 1990 demostraron que los gránulos densos secretan su contenido en el espacio vacuolar y tubulovesicular, pudiendo estar asociados con la maduración de la vacuola y el comportamiento metabólico del taquizoíto. En 1991 Achbarau demostró tres proteínas posiblemente involucradas en el reconocimiento y la unión con la célula hospedera en los micronemas de *T. gondii*. Leriche y Dubremetz en 1990 y 1991 caracterizaron algunas proteínas de las roptrias de *T. gondii*. En 1997 se demostró la presencia de *DNA* de *T. gondii* en muestras biológicas mediante el uso de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).¹

Etiología

Toxoplasma gondii es un parásito intracelular obligado, perteneciente al Phylum Apicomplexa (el cual hace referencia al complejo apical de su citoesqueleto) clase Sporozoasida, y orden Eucoccidiida. Se multiplica únicamente dentro de las células nucleadas vivas.^{1,7,13} Es la única especie conocida de *Toxoplasma* y es patógena para el ser humano.⁶ Se adquiere por vía oral, por ingestión de carne infectada que contiene bradizoítos enquistados (quistes tisulares) o de ooquistes excretados por gatos recién infectados, que contaminan el agua u otros alimentos; ambas son formas infectantes en mamíferos y en humanos. Otras vías son la transplacentaria (taquizoíto), por transfusión (taquizoíto), trasplantes (taquizoíto o quiste) y, raras veces, la parenteral, por un accidente de laboratorio (ooquiste, taquizoíto o quiste).^{7,23} Los taquizoítos y los bradizoítos se dividen asexualmente, mientras que los esporozoítos son el producto de la meiosis; todos ellos son haploides, siendo los únicos estadio diploides el huevo fecundado y el ooblasto.¹⁹ Su ciclo vital involucra un hospedero definitivo felino, en el cual pueden encontrarse todas formas del parásito: taquizoítos, bradizoítos, merozoitos, esquizontes y gametos. En el hospedero intermediario, que puede ser cualquier mamífero o ave, el parásito se encuentra en dos estadios: taquizoíto y bradizoíto. (figura 1)¹

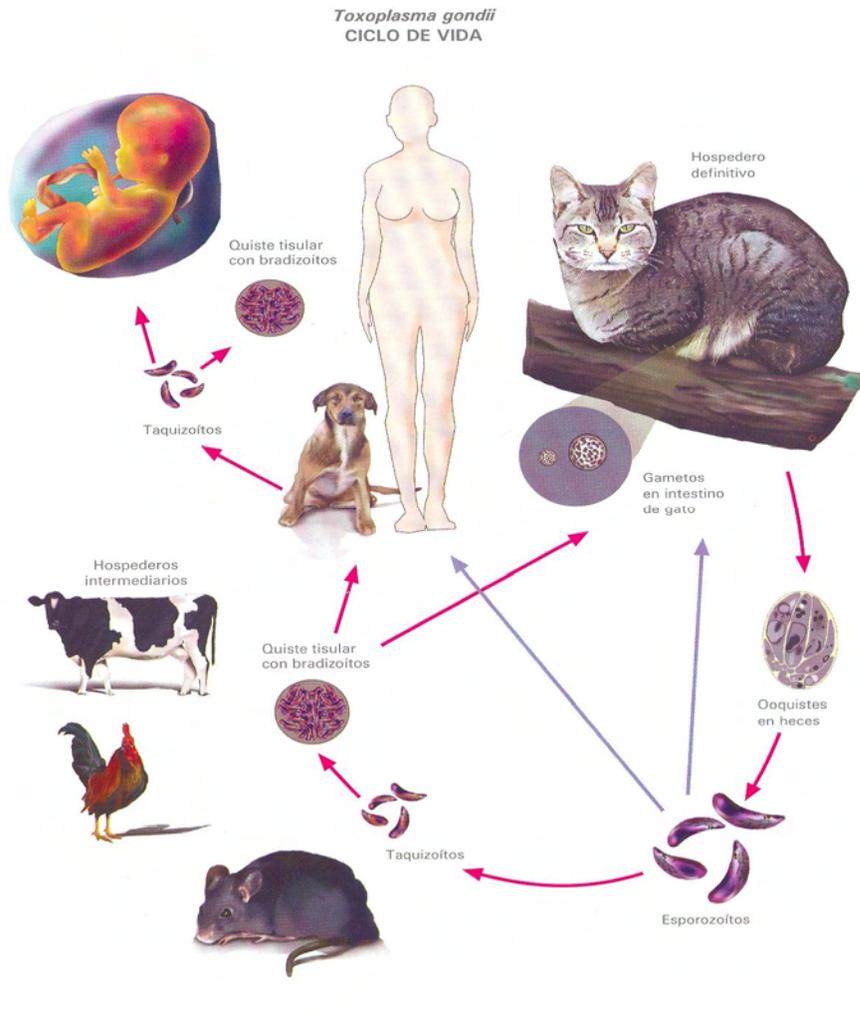


Figura 1. Ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*. Tomado de la cita 1.

Los taquizoítos (también llamados trofozoítos) son formas de replicación rápida responsables de la rápida propagación del parásito entre las células y los tejidos, y de las manifestaciones clínicas de la toxoplasmosis.^{1,19} Tienen forma de media luna y miden 2-4 μm de diámetro por 4-7 μm de largo (figura 2).^{7,13} Se tiñen con Wright o Giemsa. Sus características ultraestructurales incluyen un complejo apical de microtúbulos y anillos, organelos secretores llamados roptrias, micronemas y gránulos densos, y un apicoplasto (forma residual evolutiva de cloroplasto) que son estructuras con su propio DNA. Los taquizoítos pueden invadir todas las células nucleadas de los mamíferos y las aves en un proceso que es independiente de la fagocitosis normal.¹³ El parásito se fija a la membrana celular e induce cambios en su superficie, penetra al interior a través de una unión membranosa móvil, formando así la vacuola parasitófora, cuya naturaleza peculiar evita la acción de los lisosomas,

lo que favorece su replicación activa sin peligro de ser destruido.¹ Después de que ocurre la penetración, el taquizoíto se multiplica por endodiogenia, y en última instancia, causa disrupción de la célula hospedero y su muerte.¹³ Las vacuolas pueden alojar hasta 32 parásitos antes de romperse, liberándose así parásitos que invaden nuevas células.¹ Los taquizoítos no resisten la congelación y descongelación, la desecación, o la exposición a los jugos digestivos.¹³

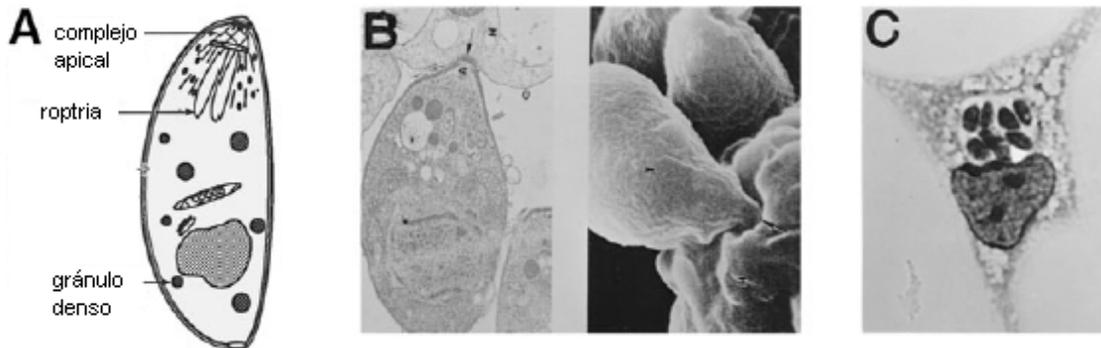


Figura 2. Taquizoíto. A, Diagrama esquemático de un taquizoíto. B, Micrografías electrónicas de transmisión y barrido de un taquizoíto al invadir una célula hospedero. C, Micrografía de luz de taquizoítos replicándose dentro de una vacuola parasitófora en el citoplasma de la célula hospedero. Tomado de la cita 13.

Los taquizoítos se convierten en bradizoítos (figura 3), formas más grandes, de multiplicación lenta, que progresivamente predominan dentro de quistes tisulares.^{1,13} Permanecen en los tejidos, especialmente en el sistema nervioso central (SNC), el músculo esquelético y el cardíaco, causando una infección crónica (latente) que dura toda la vida del hospedero infectado.^{7,13} Los quistes pueden demostrarse en los tejidos desde la primera semana de infección y su tamaño varía desde 10-100 μm de diámetro.^{1,13} Tienen una pared argirofílica, pero se destacan más claramente de los tejidos circundantes teñidos con ácido periódico de Schiff. Por lo general, no se produce reacción inflamatoria alrededor de los quistes. Los jugos digestivos rompen la pared del quiste, pero los bradizoítos liberados pueden sobrevivir en estos fluidos durante varias horas, lo que permite un tiempo para la invasión de las células locales. El quiste es destruido también por calentamiento a más de 66 °C, congelación (<-20 °C) o descongelación, y por desecación dejando de ser infecciosos. Pueden sobrevivir algunos meses a temperaturas de 4°C si se encuentran dentro de un tejido, por eso también se transmite con frecuencia a carroñeros.¹³

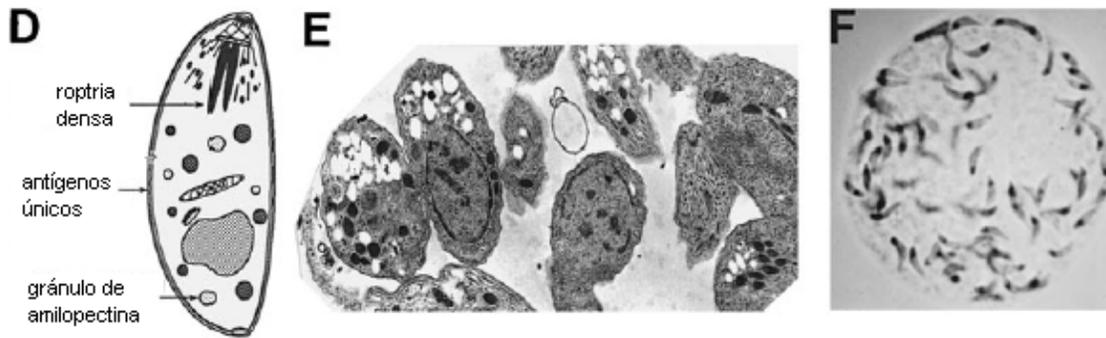


Figura 3. Bradizoito. D, Diagrama esquemático de un bradizoito. E, Micrografía electrónica de transmisión de un quiste que contiene bradizoítos. F, Micrografía de luz de un quiste con la presencia de bradizoítos en su interior. Tomado de la cita 13.

Los gametos sólo se encuentran en el intestino delgado del hospedero definitivo¹, se generan después de varios ciclos esquizogónicos en el epitelio del íleo distal.⁷ Dan lugar a los ooblastos y posteriormente a los ooquistes, los cuales tienen forma ovoide y miden de 10-12 μm (figura 4).^{1,13} Los ooquistes contienen esporoquistes, y en condiciones adecuadas de temperatura y humedad, cada esporoquiste madura para dar lugar a cuatro esporozoítos, formas infectivas del parásito.^{1,7} Los gatos comienzan a excretar ooquistes en las heces entre los 3 y los 30 días después de la infección primaria y su eliminación puede continuar durante 7 a 14 días, 10^5 a 10^7 ooquistes/día, los cuales pueden ser viables durante más de un año en climas templados a tropicales.⁶ Tras 1 a 5 días de la excreción, los ooquistes esporulan, transformándose en infecciosos. Se destruyen con la desecación o la ebullición.⁷ Se han asociado a brotes por contaminación de agua.¹³

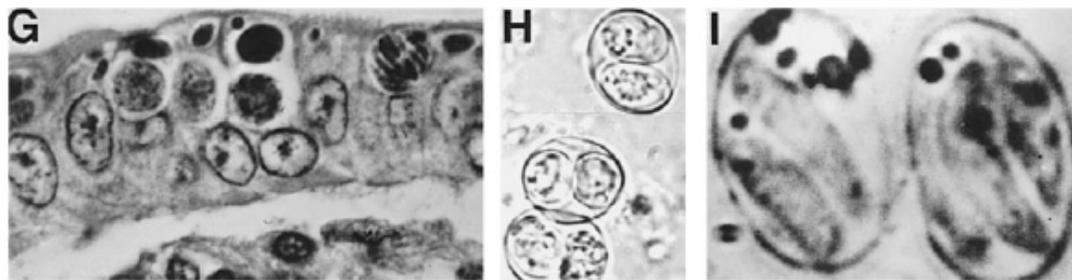


Figura 4. Ooquistes y esporozoítos. G, Desarrollo de ooquistes en el intestino del gato. H, ooquistes en el lumen del intestino del gato. I, ooquistes esporulantes que contienen esporozoítos. Tomado de la cita 13.

El genoma de *T. gondii* se compone de 8×10^7 pares de bases distribuidas en 14 cromosomas. Gran parte del genoma está secuenciado; a través de un mapa de ligamiento genético, originalmente se identificaron tres genotipos clonales (I, II, y III)

prevalentes en Europa y Norteamérica. Actualmente se sabe que hay cuando menos 11 haplogrupos en todo el mundo.^{13,31}

La vía de shikimato, es un sistema de enzimas ausente en los animales, y es importante para la producción de compuestos aromáticos esenciales en plantas, bacterias, y hongos. Esta vía bioquímica ha sido identificada en *T. gondii* y en otros parásitos Apicomplexa, tales como *Plasmodium falciparum* y *Cryptosporidium parvum*. La inhibición bioquímica de esta vía suprime el crecimiento de estos parásitos. La comprensión de la regulación de las fases del ciclo vital y las vías del metabolismo intermediario en *T. gondii* pueden permitir el diseño de nuevas drogas.¹³

Una vez adquiridos, los organismos latentes enquistados persisten durante toda la vida del hospedero. En los recién nacidos con infección congénita o en individuos inmunocomprometidos de cualquier edad, tanto la adquisición inicial como la reactivación de organismos latentes originan signos y síntomas relacionados con el SNC. Si no se trata la infección congénita, causa a menudo signos o síntomas en el periodo perinatal o más adelante en la vida del niño, la mayor parte de las veces retino-coroiditis y lesiones del SNC. No obstante pueden darse otras manifestaciones, como retraso en el crecimiento intrauterino, fiebre, adenopatías, erupciones cutáneas, pérdida de la audición, neumonitis, hepatitis y trombocitopenia. La toxoplasmosis congénita en los niños con infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) puede ser fulminante.⁷

Epidemiología

La infección por *T. gondii* es una de las infecciones latentes más frecuentes en humanos de todo el mundo y México no es la excepción.^{7,32} La infección congénita es la segunda en términos de frecuencia e importancia clínica después de la infección congénita por Citomegalovirus.^{26,27}

Los felinos generalmente se infectan por la ingestión de animales enfermos, como ratones o carne cruda.⁶ La incidencia varía considerablemente entre humanos y

animales en las distintas áreas geográficas. Aproximadamente un 3-35% del ganado porcino, 7-60% del bovino y 0-9% del vacuno tienen infección por *T. gondii*.⁷ Se ha estimado que alrededor de un tercio de la población mundial presenta anticuerpos IgG contra *T. gondii* en suero, detectándose títulos significativos de anticuerpos en un 50-80% de los residentes de zonas geográficas como Francia, Brasil y Centroamérica. Se observa una prevalencia de infección más alta en los climas cálidos y húmedos.^{7,19} La prevalencia de seropositivos es elevada también en lugares donde se consume carne mal cocida o cruda.¹ Se han producido brotes de infección aguda en familias que han consumido el mismo alimento infectado.⁷ En zonas de pobreza en las cuales los niños juegan en el suelo y están expuestos al ambiente desde pequeños, la prevalencia se incrementa desde edades tempranas.^{1,19} El periodo de incubación de la infección adquirida según un brote bien estudiado, se calcula en aproximadamente 7 días, con un rango de 4 a 21.⁶

La transmisión congénita ocurre en la mayoría de los casos como resultado de la infección materna primaria durante la gestación.⁶ La transmisión fetal desde madres infectadas antes del embarazo es extremadamente rara, excepto en el caso de mujeres inmunocomprometidas crónicamente.⁷

La prevalencia de la toxoplasmosis congénita regularmente depende de cuatro factores durante el embarazo: 1) la edad específica de la madre con infección primaria, 2) la distribución por edades de las mujeres embarazadas en la población, 3) la velocidad de transmisión fetal en la infección primaria, 4) el riesgo general de infección en esa localización geográfica.^{7,13} Según lo anterior, a mayor edad materna, la tasa de toxoplasmosis congénita será menor, ya que casi todas las mujeres embarazadas ya estarían infectadas crónicamente.¹³ La tasa global de transmisión de la madre al feto en mujeres que tienen seroconversión durante la gestación es del 25% al 30%.¹⁹ La frecuencia y gravedad dependen del periodo del embarazo en la cual se infecta la madre.⁴ La tasa de transmisión vertical puede ser tan baja como del 6% a las 13 semanas de gestación, 40% a las 26 semanas, y 72% a las 36 (figura 5).^{19,20}

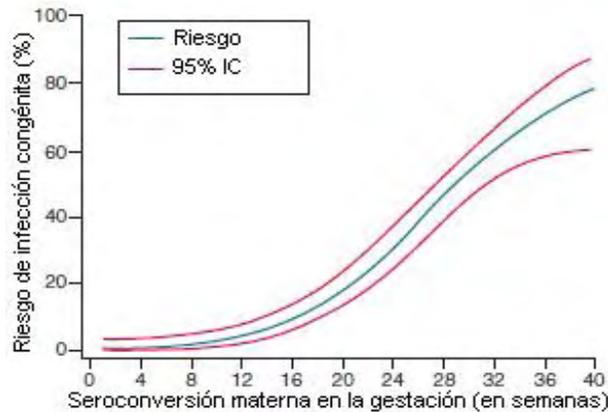


Figura 5. Riesgo de infección congénita según la semana de gestación de la seroconversión materna. Tomado de la cita 20.

El riesgo de que un feto infectado presente signos clínicos se ha estimado en 61% si la infección fue adquirida a las 13 semanas de gestación, 25% si se adquirió a las 26 semanas, y 9% si se adquirió a las 36 semanas (figura 6-A).^{19,20,23} Dado que la infección congénita es rara si la madre se infecta durante el embarazo temprano, las estimaciones antes de las 16 semanas de gestación deben ser interpretadas con cautela.¹⁹

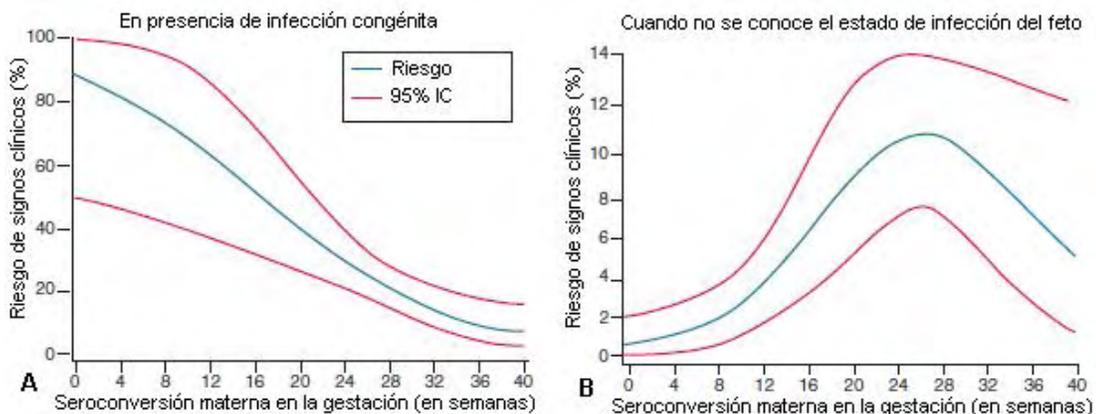


Figura 6. Riesgo de desarrollar signos clínicos (no necesariamente sintomáticos) antes de los 3 años de edad, según la edad gestacional materna al momento de la seroconversión. Tomado de la cita 20.

Después del diagnóstico de infección materna aguda, cuando no se conoce el estado de infección fetal, el riesgo de que se presenten signos clínicos en el feto o en el recién nacido puede estimarse multiplicando el porcentaje de riesgo de infección congénita (transmisión) que se muestra en la figura 5, por el porcentaje de riesgo de signos clínicos de la figura 6-A, según la semana de gestación de la seroconversión materna y finalmente dividiendo el resultado entre 100 (figura 6-B).^{19,20} Por ejemplo,

dado un 40% de riesgo de transmisión materno-infantil de la infección materna adquirida a las 26 semanas de gestación, y un riesgo del 25% de presentar signos clínicos, si se produce la transmisión, el riesgo general de presentar signos clínicos, cuando no se conoce el estado de infección del feto es del 10% (40% x 25% dividido entre 100). El máximo riesgo de dar a luz a un niño sintomático se considera entonces que es del 10% (8% a 14%), el cual se produce entre las 24 y las 30 semanas de gestación.¹⁹

A nivel mundial la incidencia de la toxoplasmosis congénita varía desde 3/1000 a 1/10000 nacidos vivos según las diferentes series.^{6,7,26} En México existen pocos estudios. En la Encuesta Nacional Seroepidemiológica de 1987, se encontró una prevalencia de anticuerpos IgG (inmunoglobulina G) de cerca del 30%, con variaciones regionales de 5 a casi 70%, dependiendo de la zona geográfica y el nivel socioeconómico.¹ Algunos estudios más recientes indican que la toxoplasmosis ha aumentado en México.³² En 2005 se encontró una frecuencia de 2/1000 para toxoplasmosis congénita detectada en una población no sesgada de neonatos del Distrito Federal.¹ El riesgo de lesiones oculares y calcificaciones en los recién nacidos con toxoplasmosis en Europa es del 14% y 9% respectivamente, mientras que en Sudamérica es del 47% y 53%.²⁸

Patología y etiopatogenia

Cuando se ingieren los quistes o los ooquistes, se liberan los bradizoítos o los esporozoítos.⁷ Ambos estadios entran a las células gastrointestinales incluyendo placas de Peyer; donde se multiplican, rompen las células, infectan a las células contiguas, penetran en los linfáticos y se diseminan por vía hematogena primeramente al bazo, después a pulmones e hígado y posteriormente a todos los tejidos del cuerpo.^{13,19,23} La gravedad de la infección está en función de la virulencia de la cepa, la susceptibilidad del hospedero, el tropismo del tejido, y el privilegio inmunológico que brindan los ojos y el SNC.¹³ Los taquizoítos proliferan, produciendo focos de necrosis rodeados por una reacción celular intensa.^{7,13}

Con el desarrollo de una respuesta inmunitaria normal, los taquizoítos desaparecen de los tejidos induciéndose la conversión del resto a bradizoítos con la formación de

quistes tisulares.^{7,19} En personas inmunológicamente anormales y también en algunas inmunológicamente normales en apariencia, la infección aguda progresa y origina en ocasiones una enfermedad que puede llegar a ser letal, como neumonitis, miocarditis o encefalitis.^{7,23}

Durante la infección aguda por *T. gondii* es habitual que se produzcan alteraciones de las poblaciones de linfocitos T, con linfocitosis, aumento de la cifra de células CD8+, y disminución del índice CD4+/CD8+. La ausencia de células CD4+ en los enfermos con SIDA puede contribuir a las manifestaciones graves de la toxoplasmosis.⁷ La infección por *T. gondii* en un individuo inmunocompetente estimula una respuesta innata seguida de una adaptativa de tipo Th1, que restringe el crecimiento parasitario, por lo que la infección suele pasar inadvertida y autolimitarse. En la fase aguda hay producción de anticuerpos IgM e IgA que alcanzan su máximo nivel de las dos a las tres semanas, y posteriormente decaen. La literatura científica indica que los anticuerpos IgM pueden durar varios años, por lo que su presencia no siempre se liga a la fase aguda de la infección.² Los clase IgG aparecen dos a tres semanas después de los de clase IgM, y alcanzan su concentración máxima dos meses más tarde, persistiendo en niveles bajos de por vida, pues la parasitosis se mantiene por los quistes tisulares (figura 7).^{1,2}

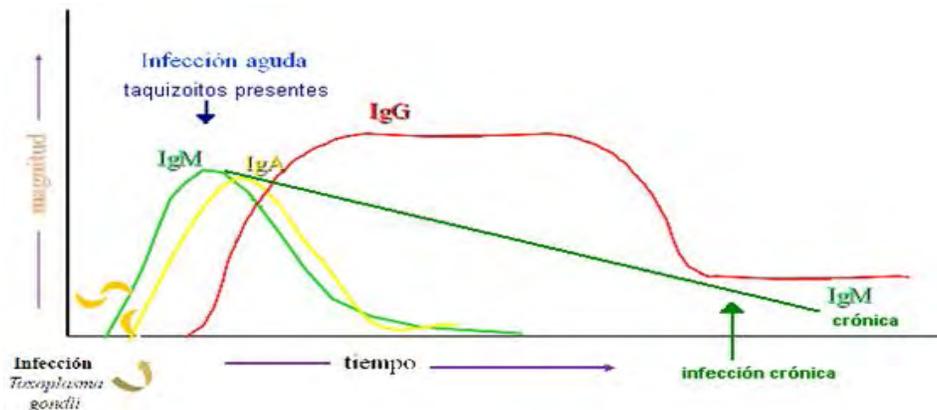


Figura 7. Respuesta de anticuerpos específicos ante una primo-infección por *T. gondii*. Inicialmente aparecen los anticuerpos IgM e IgA, posteriormente los IgG. Los primeros regularmente desaparecen 3 o 4 meses después de la infección, aunque actualmente se sabe que una proporción de los casos permanecen seropositivos a IgM durante 2 años o más. Se considera que la IgA tiene un comportamiento paralelo al de IgM. En la fase aguda, los títulos de anticuerpos IgG aumentan, siendo de baja avidéz. En la fase crónica los títulos no se modifican pero su avidéz es alta.

Este parásito está muy bien adaptado a sus hospederos, por lo que raramente provoca problemas clínicos en inmunocompetentes.³ Lo anterior se debe a que inmediatamente después de la infección por vía oral se desencadena una respuesta innata mediada principalmente por macrófagos y células NK que inician la destrucción de taquizoítos y células infectadas, produciendo interleucina-12 (IL-12). Estas células presentan antígenos e inician una respuesta inmunitaria predominantemente de tipo Th1, aumentando la producción de IL-12 e interferón gamma (IFN- γ), lo que incrementa la capacidad destructiva de los macrófagos y las células NK, y estimula a los linfocitos T-citotóxicos CD8+ en conjunto, con la producción de anticuerpos de clases opsonizantes, como la IgG1; estas células destruyen al parásito de replicación rápida.¹

Como se mencionó algunos trofozoítos se diferencian a bradizoítos y permanecen enquistados en los tejidos evitando la respuesta del hospedero de por vida. Concomitantemente, la respuesta es modulada por la aparición de citocinas de las vías Th2 (IL-4) o regulatoria (TGF- β e IL-10) que restringen la inflamación ocasionada por la respuesta Th1.¹ La toxoplasmosis sintomática se debe principalmente a la incapacidad de controlar la replicación de los taquizoítos con la consecuente destrucción de células y tejidos en pocos días.^{1,7}

El parásito no tiene mayor afinidad por algún tejido o célula. En el caso del SNC y el ojo, las barreras hematoencefálica y hemato-ocular impiden o disminuyen el paso de diversos componentes como antígenos, anticuerpos o interleucinas importantes para impedir la multiplicación del parásito. El proceso patogénico en los sitios de infección se debe a la invasión celular, la multiplicación del parásito, la lisis celular y la necrosis. Esto puede ser consecuencia de un reto con una variante muy virulenta, o con una dosis muy alta; o bien, a una carencia primaria o disminución de la respuesta inmunitaria protectora, por inmunodepresión de origen natural, por una infección concomitante como el VIH o por tratamiento médico.¹ Algunos lactantes con enfermedad grave parecen presentar anergia celular antígeno específica frente a *T. gondii*, así como disminución en la producción de citocinas activadoras de macrófagos; pudiendo ser importantes en la etiopatogenia de la enfermedad.^{7,26}

La presencia del alelo HLA-DQ3 parece estar asociada con la encefalitis toxoplásmica en los pacientes con SIDA e hidrocefalia en niños con toxoplasmosis congénita. Estos hallazgos sugieren que este gen del complejo principal de histocompatibilidad clase II (CMH-II), es un factor de riesgo en la gravedad de la toxoplasmosis.^{7,13,19} La inmunización exitosa en ratones y ovejas con componentes de *T. gondii* y taquizoítos vivos de una cepa "incompleta" plantea la posibilidad de desarrollar una vacuna humana.¹³

Los estudios histopatológicos de las lesiones en general, muestran zonas focales de consolidación con formación de una lesión granulomatosa y calcificaciones. En infecciones asintomáticas o con manifestaciones clínicas poco aparentes, suele observarse hiperplasia linforreticular o tisular, e inclusive elementos quísticos tisulares. Si se trata de una infección grave se pueden desarrollar procesos neumónicos intersticiales, hepatitis, miocarditis y otros más.¹

En la infección primaria del SNC o la reactivación de la infección latente que afecta al SNC, las células invadidas por *T. gondii* se encuentran dispersas en la materia gris del cerebro, y se produce meningoencefalitis difusa con nódulos microgliales miliares y focos de inflamación perivascular.¹³ Se forman abscesos cerebrales, localizados en su mayoría en la corteza cerebral (cerca de la unión de la materia gris y la blanca) los núcleos grises profundos; y con menos frecuencia en el cerebelo y tronco cerebral, rara vez en la médula espinal (figura 8).¹⁴ Las calcificaciones son más evidentes en la zona periventricular, en la corteza y la sustancia blanca subcortical (figura 8-C).²² Las lesiones agudas presentan focos centrales de necrosis, hemorragias petequiales rodeadas por inflamación aguda y crónica, infiltración de macrófagos y proliferación vascular.^{14,26} Los taquizoítos libres y bradizoítos enquistados se pueden encontrar en la periferia de los focos necróticos (figura 8-B).¹⁴ Los microorganismos se observan con las tinciones de hematoxilina y eosina o de Giemsa, pero son más fácilmente reconocidos por técnicas inmunohistoquímicas. Los vasos sanguíneos en las proximidades de estas lesiones muestran una marcada proliferación de la íntima o incluso una franca vasculitis con necrosis fibrinoide y trombosis.¹⁴

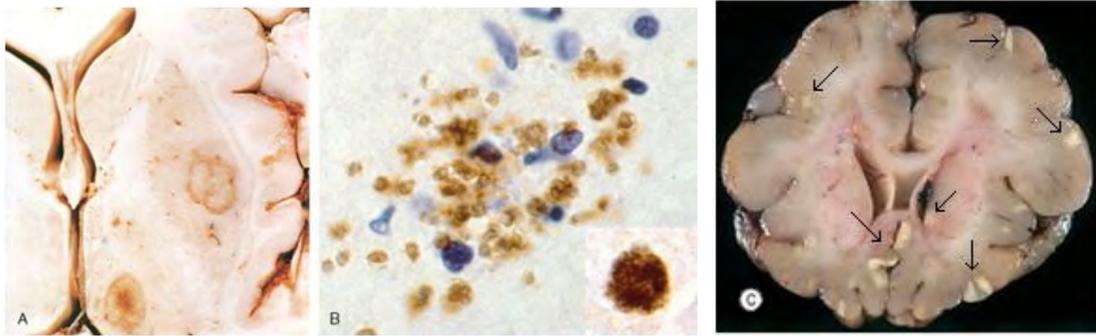


Figura 8. Lesiones cerebrales de toxoplasmosis. A, abscesos producidos por *T. gondii* en el putamen y el tálamo. B, taquizoitos libres demostrados por inmunotinción; la imagen pequeña muestra un pseudoquiste con bradizoítos destacados por inmunotinción. C, calcificaciones multifocales en toxoplasmosis congénita (señaladas con flechas). Tomado de las citas 14 y 22.

Después del tratamiento de la toxoplasmosis del SNC, resultan grandes áreas, bien demarcadas por necrosis coagulativa, rodeadas de macrófagos cargados de lípidos. Los quistes y taquizoitos libres se pueden encontrar adyacentes a estas lesiones, pero se reducen considerablemente en número o están ausentes si el tratamiento fue eficaz.^{14,22} Las lesiones crónicas consisten en pequeños espacios quísticos que contienen un número reducido de macrófagos cargados de lípidos y hemosiderina rodeados por gliosis. Los organismos son difíciles de detectar en estas lesiones antiguas.¹⁴

Los ganglios linfáticos agrandados en la infección adquirida aguda muestran hiperplasia folicular reactiva, histiocitos epitelioides que invaden y borran los márgenes de los centros germinales, y distensión de los senos subcapsulares y trabéculares por células monocíticas. Los taquizoitos y quistes rara vez se observan en estos lugares.^{7,13}

En el ojo, la retino-coroiditis activa inicia con inflamación grave, necrosis y exudados en el vítreo. Existen focos individuales o múltiples, y la participación secundaria de la coroides está siempre presente. Se han encontrado taquizoitos y quistes en estas lesiones.^{13,22} En la toxoplasmosis congénita se presenta retino-coroiditis en el 75% de los recién nacidos, además de pequeñas hemorragias retinianas o áreas focales de color amarillo-blanquecino con incrustaciones de pigmentación negra; también puede haber microftalmia, iridociclitis, cataratas, glaucoma y desprendimiento de retina. Los microorganismos se pueden encontrar dentro de las células endoteliales

de la retina, la coroides subyacente (con inflamación granulomatosa difusa secundaria) formando pseudoquistes, quistes verdaderos, o más raramente están libres en el tejido. *T. gondii* ingresa a la célula retiniana y se multiplica dentro de los confines de la membrana celular. La enfermedad bilateral se asocia a ceguera y atrofia óptica.^{1,22} Los niños mayores que adquirieron la infección congénita también pueden desarrollar retino-coroiditis.⁷

Durante la infección latente, *T. gondii* produce escasa o nula respuesta inflamatoria pero causa una enfermedad por recrudescencia en los pacientes inmunocomprometidos.⁷ En estos pacientes pueden verse lesiones necróticas generalizadas en el corazón, músculo, cerebro y otros órganos.¹³ En la toxoplasmosis congénita puede presentarse miocardiopatía dilatada con necrosis focal e inflamación, además de pseudoquistes llenos de microorganismos; pueden ocurrir nefrosis o glomerulonefritis focal, hepatitis de células gigantes, colestasis, y también afectar órganos endocrinos; sin embargo, el pulmón y el tracto gastrointestinal rara vez están involucrados.²²

La secuencia de eventos que llevan a la toxoplasmosis congénita se resume en (1) la infección primaria de la madre gestante, (2) parasitemia, (3) placentitis, y (4) diseminación hematogena hacia el feto.²⁶ La infección puede transmitirse al feto también durante el parto vaginal. Las diferencias en las tasas de transmisión y las consecuencias se deben probablemente al flujo sanguíneo placentario, a la virulencia del *T. gondii* y a la capacidad inmunológica de la madre para limitar la parasitemia.⁷

La placenta de los recién nacidos infectados puede lucir hidrópica con aumento de tamaño, inflamación crónica y pseudoquistes.^{7,22} Se pueden observar taquizoítos con las tinciones de Wright o Giemsa, pero se detectan mejor con inmunohistoquímica. Los quistes tisulares se tiñen bien con el reactivo de Schiff y con tinciones de plata.⁷

Esencialmente todas las características neuropatológicas en la toxoplasmosis congénita están relacionadas con la inflamación y la destrucción del tejido cerebral.²⁶ La meningoencefalitis en la toxoplasmosis congénita presenta necrosis multifocal granulomatosa caracterizada por: (1) células inflamatorias en meninges,

especialmente en las lesiones focales; (2) infiltrados perivasculares con células inflamatorias, a menudo incluyendo eosinófilos; (3) necrosis multifocal y difusa del parénquima cerebral, afectando cerebro, tronco cerebral y médula espinal, a menudo asociada con calcificaciones, (4) proliferación microglial y astrogliosis reactiva; y (5) granulomas miliares, que contienen células epiteloideas y microorganismos intracelulares, libres o enquistados. Posteriormente se desarrollan quistes o pseudoquistes cerebrales e hidranencefalia.²⁶ Las áreas de inflamación ganglionar basal y periventricular pueden calcificarse en el feto.^{1,13} La inflamación periventricular y la necrosis son causantes de hidrocefalia, complicación común.^{1,13,22,26} La microcefalia es consecuencia de la encefalitis necrotizante multifocal, en particular de los hemisferios cerebrales, presentándose en el 15% de los niños afectados.²⁶ No se ha podido explicar completamente la causa de las afectaciones predominantes del SNC, coroides y retina en la infección congénita.⁷

Cuadro clínico

La clínica de la infección aguda primaria por *T. gondii* es muy variada la cual depende de la inmunocompetencia y genética del paciente e incluso el lugar geográfico, el tamaño del inóculo, el estadio infectivo (por ejemplo, el ooquiste frente al quiste) y la genética de la cepa infectante.^{7,19} Puede no haber signos ni síntomas de enfermedad grave. Las manifestaciones se pueden clasificar en cuatro grupos: infección adquirida aguda, reactivación de la infección crónica por *Toxoplasma gondii* en pacientes inmunodeprimidos, toxoplasmosis ocular y toxoplasmosis congénita.^{1,7,13,19}

Infección adquirida aguda

En el caso de la infección adquirida aguda, los individuos inmunológicamente normales que adquieren la infección después del nacimiento generalmente no presentan algún síntoma clínicamente reconocible; sólo el 10 al 15% de las personas infectadas tienen síntomas y signos clínicos.^{7,13} Los hallazgos más comunes son linfadenopatía y fatiga sin fiebre. Los grupos de ganglios más comúnmente involucrados son los localizados en cuello y las regiones suboccipital, supraclavicular, axilar e inguinal, pudiendo encontrarse en forma localizada o implicando varias áreas.^{13,19} Los ganglios linfáticos mediastínicos, mesentéricos y

retroperitoneales también pueden afectarse. La afección de los ganglios intraabdominales puede asociarse con fiebre y simular apendicitis.⁷ Puede haber dolor ganglionar pero éstos no supuran. La linfadenopatía puede aumentar y disminuir en un periodo de 1 a 2 años. La mayoría de los pacientes con linfadenopatía se recuperan espontáneamente sin tratamiento.^{7,19}

Otras manifestaciones menos frecuentes son rigidez de nuca, mialgias, artralgias, erupción maculopapular que respeta palmas y plantas, hepatomegalia, hepatitis, linfocitosis reactiva, meningitis, abscesos cerebrales, epilepsia (secundaria a calcificaciones) encefalitis, confusión, neumonía, polimiositis, pericarditis, derrame pericardico y miocarditis.^{1,7,19} La retino-coroiditis, generalmente es unilateral, y se presenta en el 1% de los casos. Los síntomas pueden presentarse algunos días o persistir meses.⁷ Es poco habitual encontrar afectación orgánica significativa en las personas inmunológicamente normales; sin embargo, la morbilidad es alta.^{7,19}

Toxoplasma gondii puede afectar a niños mayores inmunocomprometidos por diferentes causas, como SIDA, neoplasias, tratamiento con citotóxicos, uso de corticoides o fármacos inmunosupresores en pacientes postrasplantados; involucrando al SNC hasta en el 50% de los casos, pudiendo afectar también corazón, pulmones y tubo digestivo.^{7,19} La toxoplasmosis en pacientes postrasplantados es casi siempre consecuencia de la transmisión de *T. gondii* de un donador seropositivo a un receptor seronegativo; no es poco común que haya coinfección con Citomegalovirus.^{7,33}

El tratamiento antirretroviral y la profilaxis con trimetoprim-sulfametoxazol han disminuido la incidencia de toxoplasmosis en pacientes con VIH. El 20% debuta con encefalitis cuyos síntomas incluyen: fiebre, cefalea, alteración del estado de conciencia, psicosis, deterioro cognitivo, convulsiones, déficits focales, hemiparesia, afasia, ataxia, pérdida de la visión, parálisis de los pares craneales y dismetrías. Las lesiones retinianas son grandes, con necrosis difusa y con muchos organismos presentes pero escaso infiltrado inflamatorio. El diagnóstico probable de encefalitis toxoplásmica por estudios neurorradiológicos exige el inicio empírico de tratamiento; si hay mejoría clínica en 7 a 14 días y de los signos radiológicos en 3 semanas, se apoya el diagnóstico definitivo.⁷ Antes del advenimiento de los trasplantes y la

pandemia de infección por VIH, los casos clínicos más graves de toxoplasmosis sólo se observaban en niños con infección congénita.¹

Reactivación de la infección crónica por *T. gondii* en inmunodeprimidos

La reactivación de la infección crónica en personas inmunodeprimidas puede manifestarse con la presencia de múltiples abscesos cerebrales, encefalitis, retino-coroiditis difusa, fiebre de origen desconocido, neumonía, miocarditis, hepatoesplenomegalia, linfadenopatías y erupción cutánea. La fiebre, neumonía o ambas pueden ser las únicas manifestaciones. La deficiencia significativa de la función o número de los linfocitos T está presente en los pacientes con reactivación de la infección por *T. gondii* debida a inmunosupresión, como los pacientes con SIDA o trasplante de células progenitoras hematopoyéticas alogénico. Sin embargo, los niños infectados por el VIH (a diferencia de los adultos) desarrollan encefalitis toxoplásmica en menor frecuencia.¹⁹

Toxoplasmosis ocular

Se estima que *T. gondii* es la causa del 35% de los casos de retino-coroiditis en Estados Unidos de América y en Europa Occidental (figura 9).^{7,8} La retino-coroiditis toxoplásmica, incluso en niños mayores y adultos, por lo general se considera que es resultado de una infección congénita. Un informe de 38 niños diagnosticados con síntomas de retino-coroiditis entre 2002 y 2004 en el Reino Unido confirmó que el 58% de los casos fueron el resultado de una infección congénita. En algunos estudios, la infección por *T. gondii* ha representado el 5% de los problemas visuales graves en los niños.¹³

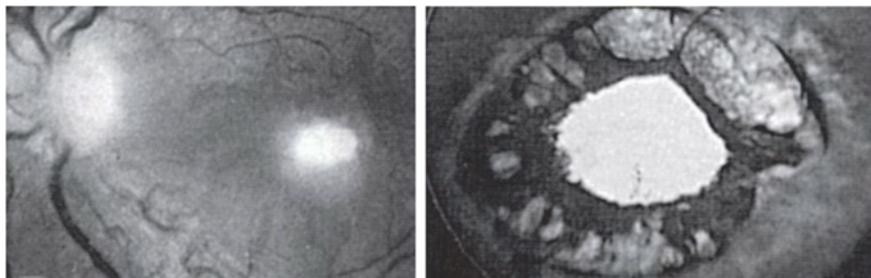


Figura 9. Retino-coroiditis toxoplásmica. Del lado izquierdo: lesión aguda activa por oftalmoscopia indirecta. Del lado derecho: los focos ya curados de retino-coroiditis toxoplásmica pueden ser semejantes a un coloboma. Tomado de la cita 8.

Las lesiones activas en el fondo de ojo aparecen como focos de color blanquecino o amarillento, con márgenes elevados y edematosos rodeados por una zona de hiperemia (figura 10).¹⁵ Las células y el exudado fibrinoso en el vítreo pueden oscurecer el fondo de ojo. Las lesiones más antiguas aparecen como cicatrices gliales, y en las zonas en las que la retina se ha destruido, la coroides y la esclerótica son visibles. Alrededor de las áreas despigmentadas, está presente la deposición del pigmento de la retina destruida. La posición de la lesión puede ser macular, yuxtapapilar, o periférica.¹³

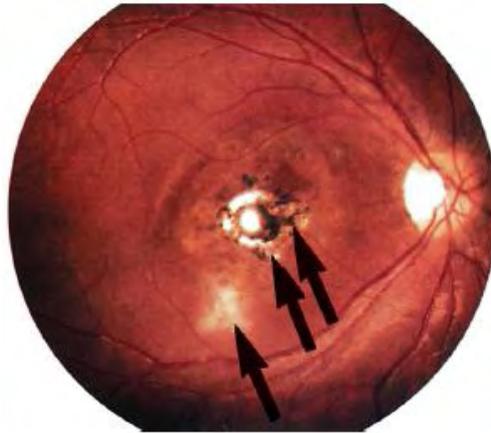


Figura 10. Coriorretinitis activa y antigua causadas por toxoplasmosis congénita en un paciente de 12 años. La lesión activa (flecha única) es una satélite de una antigua cicatriz coriorretiniana (dos flechas). Tomado de la cita 15.

Las manifestaciones clínicas incluyen visión borrosa (causada por exudados acumulados) miodesopsias (causadas por la reactivación de focos periféricos) fotofobia, epifora y, si se afecta la mácula, se presenta pérdida de la visión central.^{7,13} Los signos oculares en la toxoplasmosis congénita también incluyen estrabismo, microftalmia, microcórnea, cataratas, anisometropía, nistagmo, glaucoma, neuritis óptica y atrofia óptica.⁷ La presencia de estrabismo y nistagmus en un niño de cualquier edad plantea la posibilidad diagnóstica de toxoplasmosis congénita.¹³

La aparición de lesiones en el fondo de ojo no asegura el diagnóstico específico de infección por *T. gondii*, ya que pueden ocurrir lesiones similares en otras enfermedades granulomatosas menos comunes del ojo, como toxocariasis, enfermedad por arañazo de gato y tuberculosis.¹³ La retino-coroiditis puede ser

recurrente, por lo general con reactivación en los márgenes de las lesiones preexistentes, pero no se han definido los factores precipitantes.⁷

Toxoplasmosis congénita

Los casos clínicamente asintomáticos de toxoplasmosis congénita superan en número a los casos sintomáticos. Sin embargo, se puede detectar una proporción mayor de recién nacidos con toxoplasmosis congénita que con infección congénita por Citomegalovirus clínicamente en el período neonatal.²⁶ Habitualmente la toxoplasmosis congénita se produce cuando una mujer adquiere la infección por primera vez durante el embarazo.¹³ La mayor parte de las veces, la infección materna es asintomática o no presenta signos ni síntomas específicos; siendo las adenopatías el síntoma más común, aunque sólo se observan en un pequeño número de madres.⁷ La tríada clásica de retino-coroiditis, hidrocefalia y calcificaciones cerebrales es sugerente de toxoplasmosis y sobre todo se presenta en los recién nacidos cuyas madres no recibieron tratamiento durante el embarazo.¹⁹

Si ocurre infección fetal por *T. gondii* durante el primer trimestre de gestación las consecuencias para el feto regularmente son graves e incluso fatales llegando al aborto.¹ Durante el segundo trimestre, los neonatos infectados suelen nacer prematuramente o con problemas graves; desarrollando hepatoesplenomegalia, trombocitopenia, erupción cutánea maculopapular, eritrodermia e ictericia.¹ En el 85% de ellos están involucrados el SNC y la retina. En el tercer trimestre la mayoría de los recién nacidos son asintomáticos y a término. El gran problema de estos casos es que posteriormente desarrollarán secuelas neurológicas, oftalmológicas o auditivas hasta en un 90% de ellos y en un tiempo que puede ser de tres meses a 20 años.^{1,6,7,13} Si se trata de manera precoz a los niños afectados, los signos y síntomas pueden resolverse y el desarrollo incluso puede ser normal.⁷

El siguiente cuadro presenta el espectro y la frecuencia de las manifestaciones clínicas de 210 neonatos con toxoplasmosis congénita identificada a través de un programa de rastreo serológico en mujeres embarazadas (cuadro 1).^{7,9}

Cuadro 1. Signos en 210 lactantes con infección congénita por T. gondii

Hallazgos	n examinados	n positivos (%)
Prematurez	210	
Peso al nacer <2500 g		8 (3.8)
Peso al nacer 2500 a 3000 g		5 (7.1)
Retraso del crecimiento intrauterino	201	13 (6.2)
Ictericia	210	20 (10)
Hepatoesplenomegalia	210	9 (4.2)
Púrpura trombocitopénica	210	3 (1.4)
Anomalías en el recuento sanguíneo (anemia, eosinofilia)	102	9 (4.4)
Microcefalia	210	11 (5.2)
Hidrocefalia	210	8 (3.8)
Hipotonía	210	12 (5.7)
Convulsiones	210	8 (3.8)
Retraso psicomotor	210	11 (5.2)
Calcificaciones en la radiografía	210	24 (11.4)
Intracraneal		
En la ecografía	49	5 (10.0)
En la tomografía computada	13	11 (84.0)
Electroencefalograma anómalo	191	16 (8.3)
Líquido cefalorraquídeo anómalo	163	56 (34.2)
Microftalmia	210	6 (2.8)
Estrabismo	210	111 (5.2)
Retino-coroiditis	210	
Unilateral		34 (16.1)
Bilateral		12 (5.7)

Tomado de la cita 9

En este estudio, el 10% de los casos presentaban toxoplasmosis congénita grave con afectación del SNC, lesiones oculares y manifestaciones sistémicas; 34% tenían afectación leve con exploración clínica normal, excepto la presencia de cicatrices retinianas o calcificaciones intracraneales aisladas; el 55% no presentaba manifestaciones. Lo anterior puede representar una subestimación de la incidencia de infección congénita grave, que se debe a varias razones: los casos más graves, entre ellos los pacientes que murieron, no están incluidos; con frecuencia se realizaba un aborto terapéutico cuando se diagnosticaba una infección aguda en las primeras etapas del embarazo; el uso de espiramicina *in utero* pudo disminuir la gravedad de la enfermedad; sólo se realizó tomografía computada (TC) cerebral en 13 lactantes y en un 23% no se realizó examen de líquido cefalorraquídeo (LCR).^{7,9}

Hay también un espectro amplio de signos de toxoplasmosis congénita no tratada que aparecen durante el primer año de vida (cuadro 2).^{7,10} Más de un 80% de los niños sobrevivientes mostró puntuaciones del coeficiente intelectual menores a 70.⁷ La tasa de letalidad fue del 12%. Se presentaron varias secuelas, incluidas retraso

mental en un 86%; convulsiones, espasticidad y parálisis en casi un 75%, y deterioro grave de la visión en un 60%. Otros hallazgos ocasionales incluyeron dermatosis, miocarditis, dificultad respiratoria y neumonía, defectos en la audición, eritroblastosis fetal con coombs negativo, trombocitopenia, linfocitosis, monocitosis y síndrome nefrótico. Estos signos actualmente suelen presentarse en las formas graves de la infección en ausencia de tratamiento.¹³

Cuadro 2. Signos observados antes del diagnóstico o durante el curso de toxoplasmosis congénita aguda no tratada en 152 lactantes (A) y en 101 de estos mismos niños seguidos durante 4 años o más (B).

Frecuencia de aparición de enfermos con:		
Signos y síntomas	Enfermedad del SNC no diagnosticada el 1er año de vida	Enfermedad sistémica (no SNC) sin diagnosticar en los 2 primeros meses
A. Lactantes	108 enfermos (%)	44 enfermos (%)
Retino-coroiditis	102 (94)	29 (66)
LCR anómalo	59 (55)	37 (84)
Anemia	55 (51)	34 (77)
Convulsiones	54 (50)	8 (18)
Calcificación intracraneal	54 (50)	2 (4)
Ictericia	31 (29)	35 (80)
Hidrocefalia	30 (28)	0 (0)
Fiebre	27 (25)	34 (77)
Esplenomegalia	23 (21)	40(90)
Linfadenopatía	18 (17)	30 (68)
Hepatomegalia	18 (17)	34 (77)
Vómitos	17 (16)	21 (48)
Microcefalia	14 (13)	0 (0)
Diarrea	7 (6)	11 (25)
Cataratas	5 (5)	0 (0)
Eosinofilia	6 (4)	8 (18)
Sangrado anómalo	3 (3)	8 (18)
Hipotermia	2 (2)	9 (20)
Glaucoma	2 (2)	0 (0)
Atrofia óptica	2 (2)	0 (0)
Microftalmia	2 (2)	0 (0)
Exantema	1 (1)	11 (25)
Neumonitis	0 (0)	18 (41)
B. Niños ≥4 años	70 Enfermos (%)	31 Enfermos (%)
Retraso mental	62 (89)	25 (81)
Convulsiones	58 (83)	24 (77)
Espasticidad y parálisis	53 (76)	18 (58)
Visión gravemente afectada	48 (69)	13 (42)
Hidrocefalia o microcefalia	31 (44)	2 (6)
Sordera	12 (17)	3 (10)
Normales	6 (9)	5 (15)

Tomado de la cita 10

La toxoplasmosis congénita en lactantes infectados por VIH es rara, pero clínicamente grave y fulminante con afectación importante del SNC; aunque en ocasiones puede ser más indolente, con déficit neurológico focal o neumonitis.⁷ El advenimiento de la terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA) ha reducido en gran medida la frecuencia de encefalitis clínica por *Toxoplasma* en niños con VIH.¹³

Signos sistémicos en toxoplasmosis congénita

Entre un 25 y 50% de los lactantes con enfermedad clínicamente evidente al nacer son prematuros.^{7,13} Además de los signos previamente mencionados, pueden presentarse también bandas radiolúcidas en las metáfisis óseas e irregularidad de las líneas de calcificación provisional de las epífisis, sin reacción perióstica en costillas, fémures y vértebras.⁷

Entre las manifestaciones cutáneas se encuentran erupciones, petequias, equimosis o hemorragias secundarias a trombocitopenia. La erupción puede ser fina, puntiforme, maculopapular, lenticular, rojo oscura, macular muy definida o papular azul difusa. Se han descrito lesiones maculares sistémicas que no respetan palmas ni plantas, además de dermatitis exfoliativa y calcificaciones cutáneas. La ictericia e hiperbilirrubinemia pueden persistir meses.⁷

Las afectaciones endócrinas pueden ser secundarias a la afectación hipotalámica o hipofisaria. Las endocrinopatías incluyen mixedema, hipernatremia persistente con diabetes insípida sensible a vasopresina, pubertad precoz e hipopituitarismo parcial anterior.⁷

Las manifestaciones neurológicas de la toxoplasmosis congénita varían desde una encefalopatía aguda masiva hasta síndromes neurológicos sutiles. Se debe considerar la posibilidad de toxoplasmosis como causa potencial de cualquier trastorno neurológico no diagnosticado en un niño menor de 1 año, especialmente si presenta lesiones retinianas.^{7,19} Al menos el 90% de estos pacientes exhiben retino-coroiditis típicamente bilateral y prominente.²⁶ La hidrocefalia puede ser la única manifestación de toxoplasmosis, pudiendo ser compensada o requerir la colocación de una derivación. Puede presentarse en el periodo perinatal y progresar después del mismo o, con menos frecuencia, podría aparecer a una edad más tardía. Los patrones de convulsiones son muy variados. La afectación medular o bulbar puede ponerse de manifiesto por parálisis de las extremidades, dificultad para tragar y distrés respiratorio.^{7,18} La microcefalia suele ser reflejo de daño cerebral grave, pero algunos niños tratados presentan una función cognitiva normal.^{7,26}

La toxoplasmosis congénita sintomática no tratada, durante el primer año de vida puede causar un deterioro importante de la función cognitiva. Algunos niños con infección subclínica presentan alteraciones intelectuales a pesar del tratamiento con pirimetamina y sulfadiazina.⁷ Casi todos los lactantes con toxoplasmosis congénita no tratada desarrollan lesiones coriorretinianas antes de la edad adulta, y un 50% tendrá alteraciones graves.^{7,13} Al principio, las lesiones retinianas tienen aspecto de manchas algodonosas blanco amarillentas con márgenes poco definidos; las cuales se delimitan en los meses siguientes ahora en forma de sacabocados con pigmentación y a menudo acompañadas de atrofia óptica.²⁶ *Toxoplasma gondii* causa una retinitis necrosante focal, pudiendo haber desprendimiento de retina. Cualquier parte de la retina puede afectarse, incluso pudiendo haber daño de las vías visuales en el cerebro y la corteza visual. También se presentan las vitritis y el daño a la úvea anterior, dando lugar a eritema en el ojo externo.⁷

Otros hallazgos oculares son células y proteínas en la cámara anterior, grandes precipitados queratínicos, sinequias posteriores, nódulos en el iris y formaciones neovasculares en la superficie de éste, a veces con aumento de la presión intraocular y glaucoma.^{7,13} También los músculos extraoculares pueden afectarse directamente. Otras manifestaciones incluyen estrabismo, nistagmo, alteraciones visuales y microftalmia. En ocasiones ha sido necesaria la enucleación de un ojo ciego, doloroso y disminuido de tamaño. El diagnóstico diferencial incluye coloboma congénito, lesiones inflamatorias por Citomegalovirus, *Treponema pallidum*, *Mycobacterim tuberculosis* o vasculitis. La toxoplasmosis ocular es una enfermedad recurrente y progresiva que requiere muchos ciclos de tratamiento. La aparición de lesiones oculares en los primeros años de vida puede prevenirse usando tratamiento antimicrobiano con pirimetamina y sulfonamidas.⁷

Puede producirse una pérdida auditiva neurosensorial tanto leve como grave. No se sabe si es un proceso estático o progresivo. El tratamiento durante el primer año de vida se asocia con una menor frecuencia de pérdida auditiva.⁷

Diagnóstico

El diagnóstico es uno de los aspectos más importantes de la infección por *T. gondii*. Esto se debe a que un resultado específico puede tener un significado clínico distinto dependiendo del tipo de caso que se esté estudiando y el propósito del análisis. En el caso de pruebas para estudios epidemiológicos o de tamizaje se requiere de una prueba que demuestre la presencia de la infección en los individuos bajo estudio, y para ello una sola muestra es útil. Las pruebas inmunológicas que detectan la presencia de anticuerpos siguen siendo la base del diagnóstico de la infección.¹

Métodos directos: aislamiento del organismo e histología

Los métodos no serológicos se utilizan con menos frecuencia para establecer el diagnóstico de infección por *T. gondii* porque no están ampliamente disponibles y requieren muestras de tejidos en la mayoría de las ocasiones.¹³ El diagnóstico de infección aguda por *Toxoplasma* puede ser establecido cultivando al parásito de sangre o fluidos corporales en cultivos de células de mamíferos, como por la presencia de taquizoítos en cortes o preparaciones de tejidos y líquidos corporales, la identificación de quistes en la placenta, tejidos del feto o del recién nacido, y también por las características histológicas típicas de los ganglios linfáticos afectados.^{7,13}

En lo que respecta a los cultivos, los parásitos se aíslan mediante la inoculación de líquidos corporales, leucocitos, o muestras de tejido en ratones o cultivos tisulares. Los fluidos corporales deben ser procesados e inoculados inmediatamente, pero *T. gondii* se ha aislado en tejidos y sangre que se ha almacenado durante una noche o incluso durante 4 o 5 días a 4 °C. La congelación o el tratamiento de las muestras con formol mata a *T. gondii*. De 6 a 10 días después de la inoculación en ratones, o antes si los ratones mueren, el líquido peritoneal debe ser examinado en búsqueda de taquizoítos.^{7,13} Si los ratones inoculados sobreviven por 6 semanas y muestran seroconversión, se sugiere fuertemente el diagnóstico, si bien el definitivo se realiza mediante la visualización de quistes en el cerebro del ratón. Si no se observan quistes, se realizan subinoculaciones de tejido del ratón en otros ratones.⁷

El examen microscópico del cultivo de células inoculadas con *T. gondii* muestra células necróticas densamente infectadas con numerosos taquizoítos extracelulares (figura 11). A excepción del feto y del recién nacido, por lo general no es posible distinguir la infección aguda de la crónica aislando *T. gondii* de tejidos tales como músculo esquelético, pulmón, cerebro, u ojo obtenidos por biopsia o autopsia, pues los bradizoítos de los quistes, una vez extraídos del individuo infectado original, se reactivan, convirtiéndose en taquizoítos.⁷

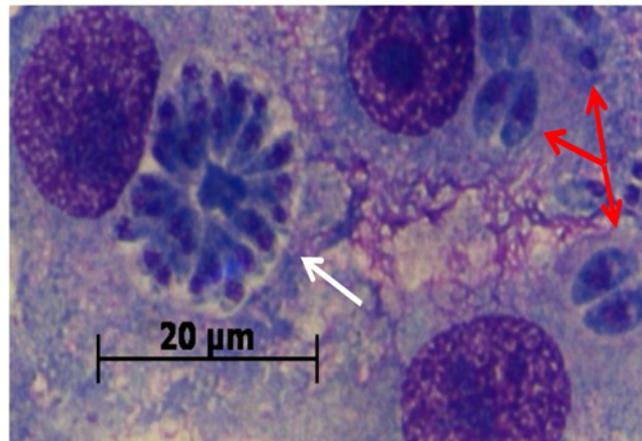


Figura 11. Micrografía de células Vero en cultivo infectadas con taquizoítos de *Toxoplasma gondii*. La flecha blanca señala una "roseta" de parásitos dentro de una vacuola; las flechas rojas muestran parejas de taquizoítos con una sola replicación. Tinción de Giemsa. Foto cortesía de Lic. Héctor Luna-Pastén.

El diagnóstico de infección se puede establecer mediante la demostración de taquizoítos en secciones de tejidos de biopsias, aspirados de médula ósea, o líquidos corporales tales como el LCR o líquido amniótico.¹³ Pueden necesitarse técnicas de tinción como inmunofluorescencia o inmunoperoxidasa, ya que a menudo es difícil distinguir los taquizoítos usando tinciones ordinarias.⁷ En los niños mayores, los cambios histopatológicos en la linfadenitis por *Toxoplasma gondii* son suficientemente distintivos para que los patólogos hagan un diagnóstico presuntivo de toxoplasmosis aguda adquirida.¹³ La presencia de muchos quistes en los tejidos sugiere una infección aguda.⁷

Métodos directos: pruebas moleculares

Se utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la amplificación del DNA del gen B1 de *T. gondii*, que luego puede ser detectado mediante sondas de DNA.¹³ La detección de genes repetitivos, como el gen B1 o de la secuencia de 529 pares de bases (pb) con más de 300 copias en el genoma de *T. gondii*, presentes en diversos tejidos y fluidos, incluido el amniótico, son el objetivo de la PCR para establecer el diagnóstico de infección congénita por *Toxoplasma* en el feto.^{7,13}

La sensibilidad y la especificidad de la PCR en el líquido amniótico obtenido para diagnosticar las infecciones adquiridas entre las semanas 17 y 21 de gestación son de aproximadamente de un 85%. Antes y después de ese momento, la PCR que detecta la secuencia de 529-pb del genoma de *T. gondii*, tiene un 92% de sensibilidad y una especificidad del 100%.^{7,19} Se ha reportado una mejor tasa de detección de la PCR dirigida a la secuencia de 529-pb que la PCR dirigida al gen *B1* en el contexto diagnóstico de la toxoplasmosis congénita; y una mayor sensibilidad de la PCR en el diagnóstico durante el período prenatal que el período neonatal cuando se examinó el líquido amniótico versus la sangre del producto.²⁹ Se ha utilizado la PCR del humor vítreo o del humor acuoso para el diagnóstico de toxoplasmosis ocular.⁷ También se ha empleado la PCR de leucocitos de sangre periférica, del LCR, y de la orina para la detección de la toxoplasmosis congénita y adquirida.^{7,23}

Métodos indirectos: pruebas serológicas

Pueden ser necesarias varias pruebas serológicas para confirmar el diagnóstico de infección congénita o adquirida aguda por *Toxoplasma gondii* (cuadro 3).^{7,16} Cada laboratorio deberá establecer los valores de referencia que diagnostiquen la infección en contextos clínicos específicos, interpretar los resultados y garantizar un control de calidad adecuado antes de que se inicie el tratamiento con base en los resultados de sus pruebas serológicas.⁷

Cuadro 3. Directrices para la interpretación de las pruebas serológicas en toxoplasmosis

IgG	IgM	Avidez de IgG	Interpretación
Positivo	Negativo	–	<ul style="list-style-type: none"> • Infección crónica en adultos. La prueba de avidéz de IgG se utiliza cuando la IgG e IgM son positivas, y es crucial conocer el momento de la infección. • Se producen falsos negativos de IgM en el 25% de los recién nacidos. Si se sospecha de infección son necesarias otras pruebas específicas.
Positivo	Positivo o zona gris	Alta	<ul style="list-style-type: none"> • Infección de hace más de 12 semanas. En un embarazo > 3 meses, considerar repetir la avidéz de IgG e IgM-EIA, IgA-EIA, IgE-EIA/ISAGA. • Aumento de títulos de anticuerpos igual o mayor a 4 veces en 2 a 4 semanas.
Positivo	Positivo o zona gris	Baja	<ul style="list-style-type: none"> • Infección en las últimas 12 semanas. Considerar determinar el tiempo de infección con precisión en el embarazo (repetición de la avidéz de IgG e IgM-EIA, IgA-EIA, IgE-EIA/ISAGA).
Zona gris	Negativo	–	<ul style="list-style-type: none"> • Indeterminado. Examinar una nueva muestra o realizar un examen distinto (IFA o ELISA).
Zona gris	Zona gris	–	<ul style="list-style-type: none"> • Indeterminado. Examinar una nueva muestra o realizar un examen distinto (IFA o ELISA).
Zona gris	Positivo	–	<ul style="list-style-type: none"> • Infección aguda o IgM falsa positiva. Examinar una segunda muestra, si la IgG es positiva o permanece en zona gris, determinar el momento de la infección con mayor precisión durante el embarazo (avidéz de la IgG, IgM-EIA, IgA-EIA, IgE-EIA/ISAGA).
Negativo	Negativo	–	<ul style="list-style-type: none"> • No hay evidencia de infección por <i>T. gondii</i>
Negativo	Zona gris	–	<ul style="list-style-type: none"> • IgM falsa positiva o una posible infección reciente. Obtener una nueva muestra y repetir la prueba. Si la infección es reciente, la IgM e IgG deben ser positivas, con baja avidéz de IgG. • Si la repetición de la prueba se mantiene con una IgG negativa e IgM en zona gris, el paciente probablemente no esté infectado.
Negativo	Positivo	–	<ul style="list-style-type: none"> • Infección aguda o IgM falsa positiva. Repetir la prueba con una nueva muestra. Si los resultados continúan iguales, probablemente se trate de una IgM falsa positiva.

AC/HS: prueba de aglutinación diferencial; **EIA ó ELISA:** inmunoensayo enzimático, **IFA:** ensayo de inmunofluorescencia indirecta; **ISAGA:** análisis de aglutinación e inmunoabsorción; **PCR:** reacción en cadena de la polimerasa. **Tomado de la cita 16.**

Mediciones de anticuerpos totales y de clase IgG

La prueba de la tinción de Sabin-Feldman es sensible y específica. Mide anticuerpos totales. Los resultados deben expresarse en unidades internacionales (UI/ml), basadas en sueros de referencia estándar internacionales disponibles de la OMS.⁷ Esta prueba está disponible sólo en pocos laboratorios de referencia.¹³

La prueba de anticuerpos fluorescentes indirectos IgG (IgG-IFA) (inmunofluorescencia indirecta; los títulos en esta prueba tienden a ser paralelos a los de la de Sabin-Feldman.^{7,13} Estos anticuerpos suelen aparecer 1 a 2 semanas después de la infección, y alcanzan sus títulos más altos ($\geq 1:1000$) a las 6 a 8 semanas, y luego disminuyen en meses, años o indefinidamente.^{6,7} Regularmente

persisten títulos bajos (1:4 - 1:64) de por vida. El título de anticuerpos no se correlaciona con la gravedad de la enfermedad.⁷ Aproximadamente la mitad de los kits de IFA comercializados para *T. gondii* no están correctamente estandarizados y pueden arrojar un número importante de resultados falsos positivos y negativos.^{7,13}

Una prueba de aglutinación está disponible comercialmente en Europa y utiliza parásitos completos conservados en formalina o partículas de látex recubiertas de antígeno, para detectar anticuerpos IgM o IgG. Esta prueba es precisa, simple de realizar y de bajo costo.^{7,13}

Los títulos de IgG-ELISA (Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) se expresan en términos diferentes para diferentes kits comerciales, lo que impide una comparación de los títulos en relación con el diagnóstico de la infección aguda. En estas pruebas, los anticuerpos IgG aparecen dentro de la primera semana de la infección primaria y alcanzan títulos máximos (en general $\geq 1:500$) dentro de 1 a 2 meses; los títulos detectables generalmente persisten durante toda la vida.¹³

La prueba de avidez de anticuerpos IgG al antígeno de *T. gondii* con urea, puede ser útil para establecer el momento de la infección. Inicialmente, después de que ocurre la infección primaria, la avidez es baja. La urea disocia anticuerpos de baja avidez, la prueba determina el porcentaje de anticuerpos resistentes a la elución de 6 M de urea. Esta prueba es útil en las primeras 12 semanas de gestación en el que la presencia de anticuerpos de alta avidez excluye la adquisición de la infección en los 3 meses previos.¹³

Otras pruebas varían en su confiabilidad. La hemaglutinación indirecta está ampliamente disponible, pero los resultados con frecuencia son negativos en los recién nacidos con infección congénita. No se debe utilizar para el cribado de mujeres embarazadas, ya que los aumentos detectables en los títulos se retrasan en comparación con los aumentos detectados por ELISA, la prueba de tinción de Sabin-Feldman, la IFA, y las pruebas de aglutinación.¹³

Mediciones de anticuerpos IgM

Los anticuerpos IgM específicos aparecen en la primera semana después de la infección primaria, su pico se produce en el primer mes y habitualmente son indetectables en 6 a 9 meses. Dependiendo de la sensibilidad del método utilizado, pueden ser demostrables de 2 a 3 meses, y en no raras ocasiones hasta dos años o incluso más tiempo, lo que dificulta la diferenciación entre una infección aguda y la pasada.^{6,13}

La prueba de IgM-IFA es útil para el diagnóstico de infección aguda en los niños mayores ya que los anticuerpos IgM aparecen antes, a menudo 5 a 7 días después de la infección, y desaparecen antes que los anticuerpos IgG. En la mayoría de los casos, los anticuerpos IgM se elevan rápidamente (1:50 a <1:1000) y luego caen a títulos bajos (1:10 o 1:20) o desaparecen después de semanas o meses. Sin embargo, algunos pacientes siguen presentando resultados positivos de IgM con títulos bajos durante varios años.⁷ La prueba de IgM-IFA detecta IgM específica anti-*T. gondii* en aproximadamente el 25% de los recién nacidos con infección congénita al nacer por lo que no es confiable para el diagnóstico de infección congénita.^{6,7} Los anticuerpos IgM pueden no estar presentes en el suero de pacientes inmunodeprimidos con toxoplasmosis aguda, ni en pacientes con toxoplasmosis ocular. La prueba de IgM-IFA puede mostrar resultados falsos positivos en presencia del factor reumatoide o anticuerpos antinucleares.^{7,13} Un resultado de IgM-IFA negativo, no es confiable para descartar la infección recientemente adquirida.

El ELISA de captura de IgM (IgM-ELISA) es más sensible y específico que la IFA para la detección de anticuerpos IgM anti-*T. gondii*.^{6,7} En el niño mayor de un año e inmunológicamente normal, los anticuerpos IgM antitoxoplasma detectados en plasma por IgM-ELISA, indican con un alto porcentaje de probabilidad de que la infección se ha adquirido postnatalmente.^{7,13} El IgM-ELISA identifica al 50 a 75% de los lactantes con infección congénita y evita tanto los resultados falsos positivos por el factor reumatoide, como los falsos negativos causados por la competencia de los niveles altos de anticuerpos IgG maternos transferidos a través de la placenta, como puede ocurrir en la IgM-IFA.^{7,13} Los resultados obtenidos con los kits comerciales deben ser interpretados con cautela, ya que los falsos positivos son frecuentes.

También se debe tener cuidado y determinar si los equipos se han estandarizado para el diagnóstico de infección en contextos clínicos específicos, como en los recién nacidos.⁷

El análisis de aglutinación e inmunoabsorción (ISAGA) se utiliza ampliamente en Europa. Combina la captura de IgM del paciente en una superficie sólida y el uso de parásitos fijados con formalina o partículas de látex recubiertas de antígeno de *Toxoplasma*. Se interpreta como una prueba de aglutinación.^{7,13} No hay resultados falsos positivos por factor reumatoide o por anticuerpos antinucleares. El IgM-ISAGA se encuentra disponible de forma comercial y es más sensible que el IgM-ELISA, pudiendo detectar anticuerpos IgM específicos antes y durante períodos más largos.⁷

Mediciones de anticuerpos IgA e IgE

El IgA-ELISA es una prueba sensible para la detección de la infección materna y congénita; los resultados pueden ser positivos aunque no lo sean los de IgM-ELISA.⁷ La demostración de anticuerpos IgA e IgE en el feto o el recién nacido por ELISA e ISAGA parece ser comparable a la de anticuerpos IgM en sensibilidad para el diagnóstico de toxoplasmosis congénita. La prueba de IgA también parece ser más sensible que la prueba de IgM para la detección de la infección adquirida. Sin embargo la especificidad sigue siendo un problema, por lo que ni el IgA-ELISA, el IgE-ELISA ni el IgA-ISAGA o el IgE-ISAGA han superado a la prueba de IgM para el diagnóstico de la infección adquirida. Los anticuerpos IgA e IgE persisten más tiempo que los IgM y pueden ser útiles en casos de enfermedad subaguda o cuando los títulos de IgM son bajos.¹³

En la actualidad, el IgM-ISAGA, el IgA-ISAGA y el IgA-ELISA son las mejores pruebas para el diagnóstico de la infección congénita en el recién nacido. El IgE-ELISA e IgE-ISAGA también son útiles en ocasiones para establecer el diagnóstico de toxoplasmosis congénita o infección adquirida aguda. La presencia de anticuerpos IgM en el niño mayor o en el adulto no puede ser utilizada por sí sola para el diagnóstico de infección aguda adquirida.⁷

El análisis de inmunofiltración ligado a enzimas (ELIFA) utilizando membranas microporosas permite el estudio simultáneo de anticuerpos específicos mediante inmunoprecipitación y caracterización de los isotipos de anticuerpos mediante inmunofiltración con anticuerpos marcados con enzimas. Este método es capaz de detectar un 85% de los casos de infección congénita en los primeros días de vida.⁷

Finalmente, la comparación del patrón de anticuerpos del suero de una madre con los de su hijo por *Western blot* permiten el diagnóstico de toxoplasmosis congénita. La infección se sospecha cuando aparecen bandas en el suero del bebé que no aparecen en el de la madre, esto es, cuando hay “neoanticuerpos”. La ventaja de este método es que permite sospechar de casos a los pocos días del nacimiento.¹ (figura 12)

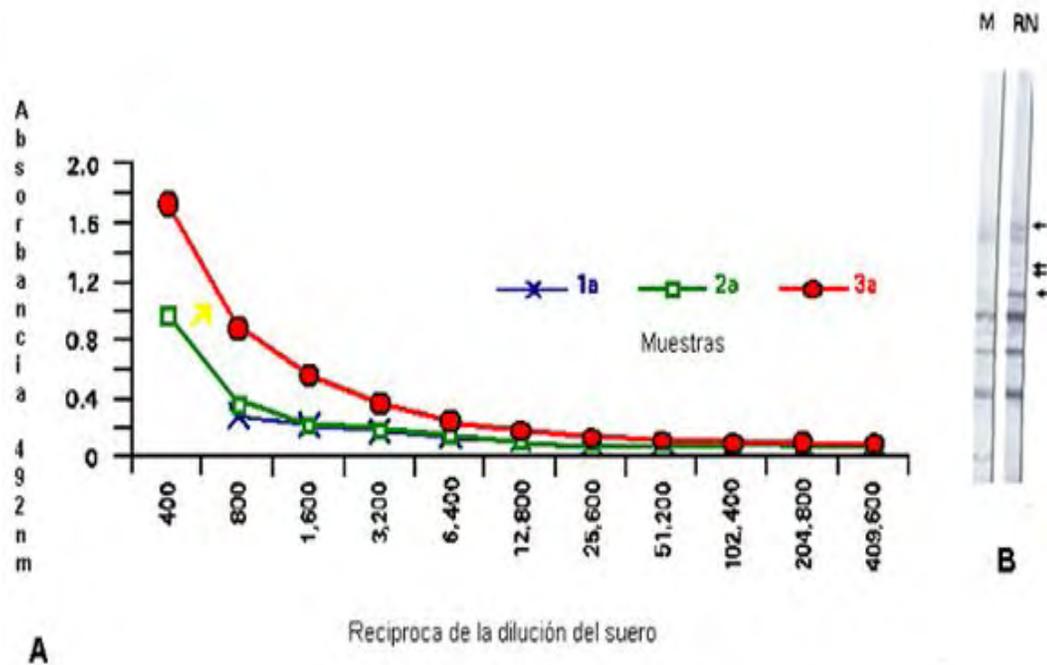


Figura 12. Métodos de confirmación de infección aguda en recién nacidos. A, mediante ELISA se pueden titular los anticuerpos de la clase IgG en muestras seriadas. B, Mediante Western blot comparativo de la respuesta IgG de una madre y su recién nacido, se pueden observar antígenos reconocidos únicamente por el recién nacido (RN) o que reaccionan con mayor intensidad con los anticuerpos de éste que con los de la madre (M) (flechas). Estas bandas se consideran de respuesta nueva del neonato y son por lo tanto confirmatorias de infección aguda. Tomado de la cita 1.

Anticuerpos en otros fluidos

Un nivel relativamente alto de anticuerpos anti-*T. gondii* en el humor acuoso o en el LCR, demuestra producción local de anticuerpos durante la toxoplasmosis ocular activa o del SNC.⁷ Se realiza esta comparación para humor acuoso o LCR y se calcula un coeficiente [C] como sigue en la siguiente fórmula:

$$C = \frac{\text{Título de anticuerpos en líquido corporal}}{\text{Título de anticuerpos en suero}} \times \frac{\text{Concentración de IgG en suero}}{\text{Concentración de IgG en líquido corporal}}$$

Los coeficientes significativos [C] son >8 para la infección ocular en humor acuoso, >4 en la infección del SNC congénita en LCR, y >1 en la infección del SNC en pacientes con SIDA también en LCR. Si el título obtenido durante la prueba en suero de Sabin-Feldman es >300 UI/ml, lo más frecuente es que no sea posible demostrar una producción local de anticuerpos significativa usando esta fórmula, ya sea con la prueba de Sabin-Feldman o con la IgM-IFA. Los anticuerpos IgM pueden detectarse también en el LCR.⁷

Métodos indirectos: ensayos de proliferación

La blastogénesis de linfocitos ante antígenos de *Toxoplasma gondii* es un indicador específico y sensible para el diagnóstico de infección antigua en los adultos, y es utilizada en los niños mayores de 2 meses para el diagnóstico de toxoplasmosis congénita cuando el diagnóstico es dudoso y los resultados de otras pruebas son negativos.¹³ Sin embargo, un resultado negativo no excluye el diagnóstico debido a que muchos recién nacidos infectados no responden eficientemente a los antígenos de *T. gondii*.⁷

Diagnóstico en situaciones clínicas específicas

Diagnóstico de infección adquirida aguda por Toxoplasma

Si los anticuerpos IgM e IgG no son detectables, prácticamente se excluye el diagnóstico de una infección aguda por *T. gondii* en un niño inmunocompetente.¹³ El diagnóstico de infección aguda adquirida, se realiza por seroconversión, desde un título negativo de anticuerpos IgG a un título positivo o con una elevación del cuádruple (en ausencia de transfusión) en el título de IgG *Toxoplasma*-específico en dos muestras seriadas, obtenidas con un intervalo de 2 a 4 semanas y analizados simultáneamente.^{7,13} Los pacientes deben ser sometidos a detección de anticuerpos IgM *Toxoplasma*-específicos junto con la positividad de otras pruebas, pero nunca de forma aislada.^{6,7}

Se debe determinar si los pacientes inmunocomprometidos o aquellos a punto de serlo, corren el riesgo de reactivación de una infección latente por *T. gondii* o la adquisición de una infección primaria por vía oral o por un órgano trasplantado (que puede probarse directamente por PCR o bioensayo en ratón o cultivo celular). Al establecer la presencia de infección crónica en estos pacientes (IgG positiva, IgM negativa) se puede implementar entonces la profilaxis anti-*Toxoplasma*.¹⁹ En los pacientes inmunocomprometidos, receptores de un trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH), los títulos de IgG pueden ser bajos, y la IgM *Toxoplasma*-específica puede estar ausente.^{7,13} Los casos de toxoplasmosis en estos pacientes suelen deberse a reactivaciones de una infección adquirida anteriormente.¹ La demostración de antígenos o DNA de *Toxoplasma* por medio de la PCR, en sangre o LCR puede diagnosticar toxoplasmosis diseminada en personas inmunocomprometidas.^{7,19} La prueba de avidéz no ha sido evaluada en estos casos, pero como presentan una infección crónica, los anticuerpos presentes probablemente ya son de alta afinidad, por lo que este ensayo podría no ser de utilidad.¹ La resolución de las lesiones del SNC durante un ensayo terapéutico con pirimetamina y sulfadiazina, ha sido de gran utilidad para el diagnóstico de encefalitis toxoplásmica en pacientes con SIDA. Las biopsias cerebrales se han utilizado para

establecer el diagnóstico cuando no hay respuesta al ensayo terapéutico y para excluir otros diagnósticos posibles tales como linfoma del SNC.⁷

Los pacientes con infección por VIH e infección latente por *T. gondii*, tienen títulos variables de anticuerpos IgG contra *T. gondii* pero rara vez tienen anticuerpos IgM. Aunque puede haber seroconversión y elevaciones al cuádruple en los títulos de la IgG, la posibilidad de diagnosticar una enfermedad activa en los pacientes con SIDA disminuye debido a la inmunosupresión. El diagnóstico presuntivo de toxoplasmosis en los pacientes con VIH que son seropositivos para IgG *Toxoplasma*-específica se basa en la presencia de hallazgos clínicos y radiológicos característicos. Si la infección no responde al tratamiento empírico puede requerirse la demostración de *T. gondii*, de antígenos o de DNA en biopsias de tejidos, sangre o LCR para confirmar el diagnóstico.⁶ A menudo es necesaria la tinción con inmunoperoxidasa para establecer el diagnóstico. La PCR puede ser una valiosa ayuda en estas situaciones, aunque la inmunoperoxidasa sigue siendo la prueba más confiable.¹³

Diagnóstico de toxoplasmosis ocular

La mayoría de los casos de toxoplasmosis ocular se cree que son el resultado de una infección congénita, que se hace clínicamente evidente hasta su reactivación. Este evento se produce con mayor frecuencia en la adolescencia.^{13,19} Además, la infección adquirida aguda por lo general no se acompaña de retino-coroiditis. Aunque la presencia de retino-coroiditis debe motivar la búsqueda de la infección por *T. gondii* como causa, a menudo resulta insuficiente.¹³

En la toxoplasmosis ocular, son habituales los títulos de anticuerpos IgG de 1:4 a 1:64 en niños mayores con retino-coroiditis activa. La presencia de anticuerpos medibles cuando el suero se analiza sin diluir, son útiles para sospechar el diagnóstico.⁷ Sin embargo, el título de anticuerpos en el suero no se correlaciona con la presencia de lesiones activas en el fondo de ojo. Títulos bajos de anticuerpos IgG son un hallazgo común en pacientes con reactivación de retino-coroiditis toxoplásmica. Los anticuerpos IgM generalmente están ausentes.¹³

El diagnóstico es muy probable si existen lesiones retinianas características y pruebas serológicas positivas.⁷ Si las lesiones retinianas son atípicas y los resultados de las pruebas serológicas son positivas, el diagnóstico de retino-coroiditis por *T. gondii* es menos seguro debido a la creciente prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma* con la edad en la población normal.¹³ La PCR del humor vítreo o del humor acuoso se ha utilizado para el diagnóstico, pero se realiza con poca frecuencia debido a los riesgos asociados con su obtención.⁷

El análisis del coeficiente de Goldmann-Witmer del humor acuoso se calcula como sigue:

$$\frac{\text{IgG-Toxoplasma específico en humor acuoso}}{\text{IgG total en el humor acuoso}} \div \frac{\text{IgG-Toxoplasma específico en suero}}{\text{IgG total en suero}}$$

Un valor ≥ 2 es considerado por algunos investigadores como una prueba de la síntesis de anticuerpos intraoculares en respuesta a la replicación de los taquizoítos.¹⁹

*Diagnóstico de infección por *T. gondii* en la embarazada, el feto y el recién nacido*

El diagnóstico prenatal de la infección congénita permite detectar a las madres infectadas y probablemente evitar la transmisión al feto. La conversión de una mujer seronegativa durante el embarazo, es considerada confirmatoria de infección aguda; siendo la mayoría de los casos positivos desde la primera muestra. En países de baja prevalencia se hace una prueba tamiz buscando anticuerpos IgG y en las mujeres positivas se buscan los de clase IgM, más relacionados a una infección reciente, y de mayor peligro para el producto.¹

Si una prueba de detección de anticuerpos IgM adecuada no está disponible, y el suero original contiene anticuerpos IgG, la prueba de detección de anticuerpos IgG se debe repetir en 3 semanas, en paralelo con el suero original, para determinar si el título se mantiene estable o se incrementó.¹³ Cerca del 40% de las mujeres siguen

siendo positivas a IgM dos años después de la infección primaria. Por lo tanto, es importante determinar si los títulos de los anticuerpos de clase IgG están aumentando, o si son de alta o baja avidéz, antes de decidir si se realizan procedimientos invasivos, como una amniocentesis, o dar tratamiento, pues la terapia para el feto es altamente tóxica y la transmisión vertical no es del 100%.¹

Si la IgM-ELISA o IgM-ISAGA son negativas, y el título de anticuerpos IgG es estable y $< 1:500$, no es necesaria otra evaluación ya que no existe infección aguda. Los títulos de IgG por lo general se estabilizan en niveles altos (con las pruebas de Sabin-Feldman o de IFA con títulos $\geq 1:500$), 6 a 8 semanas después de la adquisición de la infección; si los títulos de las pruebas en una nueva determinación son $\leq 1:500$ y estables (independientemente del título de anticuerpos IgM), significa que la infección fue adquirida unas 4 u 8 semanas antes de que se obtuviera el suero. Sin embargo, sí los títulos de la prueba de Sabin-Feldman o IFA son de $\geq 1:500$ después de 6 a 8 semanas, la IgM-ELISA o IgM-ISAGA son negativas, y no hay ningún aumento significativo en el título de cualquier prueba, es muy probable que la infección fue adquirida antes de la concepción. En las mujeres con títulos de IgM elevados o con incremento gradual de los títulos en las pruebas de IgG, la infección posiblemente fue adquirida durante el embarazo.¹³

En caso de que se confirme infección aguda en una embarazada, se intentará la demostración de la infección fetal, para decidir junto con los padres si se prefiere interrumpir el embarazo o el tratamiento de la infección fetal según los protocolos existentes.^{1,13} La documentación de la infección se realiza mediante el hallazgo del parásito en el líquido amniótico, su aislamiento en ratones o en cultivo de tejidos, o bien por PCR.^{1,4,18} También puede documentarse la presencia de anticuerpos IgM o IgA contra *T. gondii* en la sangre fetal. Si estos procedimientos son positivos, se confirma la transmisión vertical.⁶

Para el diagnóstico prenatal también se utiliza la exploración bisemanal con ecografía fetal, para detectar cualquier aumento del tamaño de los ventrículos laterales cerebrales u otros signos de infección fetal, iniciando la monitorización al momento del diagnóstico de infección aguda en la mujer embarazada.⁶ *Toxoplasma gondii* también puede ser aislado de la placenta al parto.^{7,18}

La infección congénita por *T. gondii* se evalúa posnatalmente con la detección de IgM específica, ya que esta clase de anticuerpos no cruza la placenta, y por lo tanto es de origen fetal.¹ La vida media de la IgM es de aproximadamente 2 días, así que si existen pérdidas placentarias, el nivel de IgM en el plasma del recién nacido disminuye significativamente, por lo general al cabo de una semana.⁷

Los anticuerpos IgG maternos transferidos pasivamente al feto pueden requerir de varios meses a un año en desaparecer del plasma del niño, dependiendo de la magnitud de la titulación inicial.^{7,13} Si el lactante no recibe tratamiento, se demuestra síntesis de anticuerpos IgG antitoxoplasma al tercer mes de vida. Si el niño es tratado, la síntesis se puede retrasar hasta el noveno mes, y en raras ocasiones puede no producirse en absoluto.⁷

Cuando un lactante comienza a sintetizar anticuerpos IgG, la infección puede diagnosticarse serológicamente, incluso sin demostrarse elevación de IgM, por un aumento en la relación del título de anticuerpos IgG específicos/IgG total, mientras que esta razón disminuye si los anticuerpos IgG específicos se deben a la transferencia pasiva desde la madre.^{7,19} El incremento de los títulos de anticuerpos IgG en muestras seriadas con intervalos de 2 a 4 semanas, o su persistencia en la sangre del bebé durante más de diez meses, se consideran confirmatorios.^{1,7,19} Otra opción diagnóstica es el Western blot antes mencionado.¹

Los recién nacidos de mujeres con infección simultánea por VIH y *T. gondii* deben ser evaluados para diagnosticar o descartar toxoplasmosis congénita, debido a la alta probabilidad de una reactivación en este contexto.⁶

Los neonatos con sospecha de toxoplasmosis congénita deben ser evaluados meticulosamente como lo indica el siguiente cuadro número 4.^{6,7,17}

Cuadro 4. Evaluación de un recién nacido cuando la serología de la madre o la enfermedad del recién nacido indican probabilidad diagnóstica de toxoplasmosis congénita.

Además de una exploración general cuidadosa , el niño será examinado según lo siguiente:

- **Evaluación clínica y pruebas no específicas.**
 - Evaluación por un oftalmólogo pediatra.
 - Evaluación por un neurólogo pediatra.
 - Realización de TC cerebral (datos sugieren una excelente concordancia entre la TC y la ecografía, la cual se puede realizar con mayor rapidez y sin la necesidad de sedación).
 - Análisis de sangre.
 - Biometría hemática completa con conteo diferencial.
 - Determinación de IgM sérica total, IgG, IgA, y albúmina.
 - Medición sérica de alanino aminotransferasa, bilirrubina total y bilirrubina directa.
 - Recuento de células en el LCR, además de glucosa, proteínas e IgG total.

- **Pruebas específicas para *Toxoplasma gondii*.**
 - Análisis del suero del recién nacido para la detección de anticuerpos mediante la prueba de Sabin-Feldman, IgM-ISAGA, EIA-IgA, EIA-IgE/ISAGA. (0.5ml de suero).
 - Obtención de sangre del recién nacido para su inoculación en ratones (colocar de 1-2 ml de sangre total en un tubo cubierto con tapa roja).
 - Punción lumbar para la realización de la prueba de Sabin-Feldman e IgM-EIA del LCR (0.5 ml de LCR); considerar la realización de PCR (1 ml de LCR congelado).
 - Obtención de tejido placentario estéril (100 g de tejido en solución salina, tomado del lado fetal de la placenta cerca de la inserción del cordón umbilical, sin colocarla en formol y enviar al laboratorio para subinoculación en ratones).
 - Analizar el suero materno para la detección de anticuerpos mediante la prueba de Sabin-Feldman, IgM-EIA, IgA-EIA, IgE-EIA/ISAGA y AC/HS.

AC/HS: prueba de aglutinación diferencial; **EIA o ELISA:** inmunoensayo enzimático, **IFA:** ensayo de inmunofluorescencia indirecta; **ISAGA:** análisis de aglutinación e inmuoabsorción; **PCR:** reacción en cadena de la polimerasa.

Aproximadamente un tercio de los niños con toxoplasmosis congénita presentan anormalidades del LCR. Una cifra de de proteínas $\geq 1\text{g/dl}$ en el LCR es característica de toxoplasmosis grave del SNC, acompañada habitualmente de eosinofilia y linfocitosis leve a moderada.^{7,13,19} Se puede demostrar la producción local de anticuerpos específicos IgG e IgM antitoxoplasma en el LCR.

La tomografía computada cerebral detecta las calcificaciones, determina el tamaño ventricular y demuestra las estructuras porencefálicas quísticas (figura 13).^{7,11,18,27} La resonancia magnética y TC cerebral con contraste son útiles para detectar lesiones inflamatorias activas. La ecografía puede ser de utilidad para realizar un seguimiento del tamaño ventricular.⁷

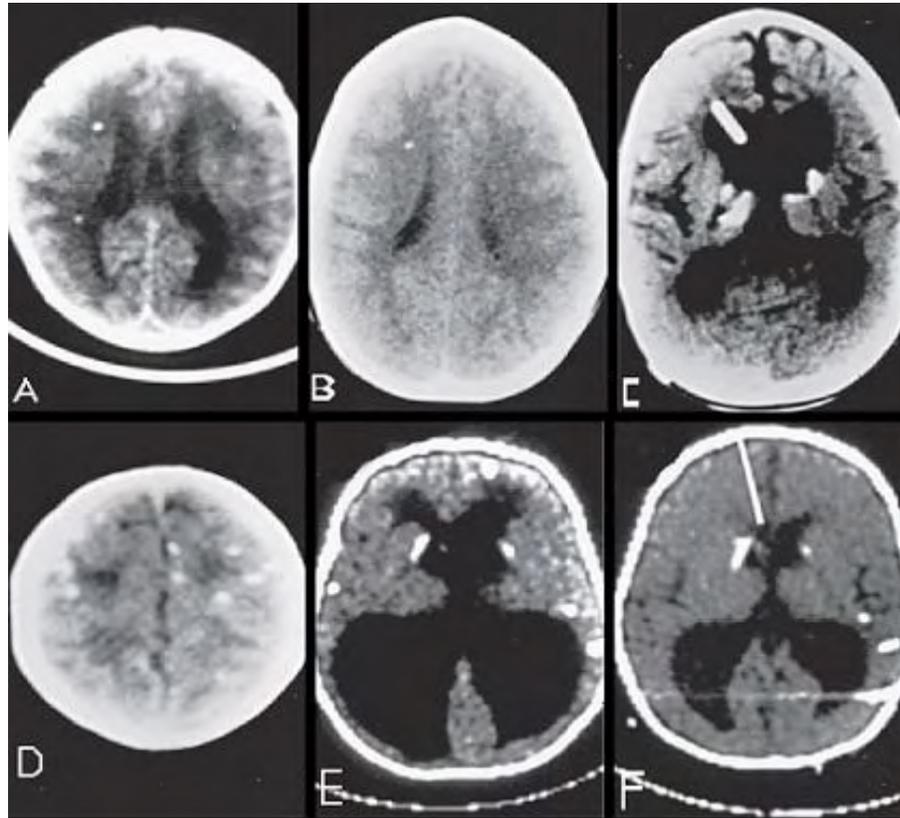


Figura 13. Tomografías de cráneo de niños con toxoplasmosis congénita. A; TC al nacimiento con áreas de hipolucencia, ventrículos levemente dilatados y pequeñas calcificaciones, B; TC del mismo paciente que en A durante el primer año de vida (después de recibir tratamiento antimicrobiano durante un año), donde se observan dos pequeñas calcificaciones siendo el resto normal. C; TC de un lactante de un año de edad normal al nacimiento, sin embargo a los 3 meses desarrolló hidrocefalia y retino-coroiditis macular bilateral diagnosticándose toxoplasmosis congénita, iniciándose tratamiento, la imagen muestra significativa atrofia residual y calcificaciones. D; TC obtenida durante el primer año de vida de un niño con microcefalia, se observan numerosas calcificaciones. E; TC con hidrocefalia por estenosis del acueducto antes de practicarse derivación; F; TC del mismo niño que en E, después de la derivación. Tomado de la cita 11.

La mayoría de los niños infectados que reciben tratamiento durante el primer año de vida tienen un aumento sustancial de los anticuerpos después de la finalización de la terapia ("rebote serológico"). Este fenómeno permite la confirmación del diagnóstico infeccioso por *T. gondii* en algunos casos inciertos.¹³ Muchas de las manifestaciones de la toxoplasmosis congénita aparecen también en otras infecciones perinatales. Ni las calcificaciones cerebrales ni la retino-coroiditis son patognomónicas. Algunos niños menores de 5 años de edad con retino-coroiditis adquieren la infección por *T. gondii* en el periodo postnatal.⁷

Diagnóstico diferencial

La toxoplasmosis congénita puede imitar o coexistir con la infección por otros organismos.¹³ El diagnóstico diferencial de todo recién nacido con hepatomegalia, esplenomegalia, ictericia y petequias, así como con anemia y trombocitopenia debe incluir la infección congénita por Citomegalovirus, virus de la Rubéola, Sífilis, infección diseminada por virus del Herpes simple, virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 1 (VIH-1), ciertas bacterias (por ejemplo *Listeria*) e incluso sepsis.¹² Las infecciones por Herpesvirus, Citomegalovirus, Sífilis y Rubéola pueden causar retino-coroiditis; además, el Citomegalovirus y el VIH-1 pueden causar encefalopatías asociadas a calcificaciones cerebrales.¹³

También debe hacerse diagnóstico diferencial con otras patologías como eritroblastosis fetal, enfermedades metabólicas, hemorragia intracraneana y enfermedad cardíaca.¹² Las encefalopatías degenerativas y enfermedades por almacenamiento en los niños mayores también pueden parecerse a la toxoplasmosis congénita.¹³

Tratamiento

El tratamiento de la infección por *T. gondii* es una de las áreas de mayor problema científico y médico, pues la infección sólo puede ser controlada médicamente durante la etapa aguda, ya que los bradizoítos contenidos en los quistes tisulares de la fase crónica son de difícil acceso a las drogas, y por ende, no se ha descrito tratamiento químico o inmunológico alguno que erradique la infección: La terapéutica específica actúa principalmente contra la forma de taquizoíto.¹ El tratamiento necesario y su duración se determinan por la naturaleza y la gravedad de la enfermedad clínica y por el estado inmune del paciente infectado.¹³ Los fármacos utilizados interfieren con la replicación del parásito, pero también afectan la hematopoyesis, por lo que deben acompañarse de ácido fólico, además, suelen ser prolongados y tienen efectos colaterales. La gama de medicamentos disponibles no es amplia, pues prácticamente se restringen a la espiromicina¹ (o clindamicina si no hay tolerancia a la sulfadiazina⁶) o una combinación de pirimetamina y sulfadiazina. La dosis depende del objetivo del tratamiento, preventivo o curativo y, en este caso, del órgano blanco

y el grado de lesión.¹ Los títulos de anticuerpos no son indicadores útiles de la respuesta terapéutica.¹³

Los agentes terapéuticos

Espiramicina

La espiramicina es un macrólido que se ha utilizado para reducir la transmisión de la infección por *T. gondii*, de una madre embarazada con infección aguda hacia el feto.^{7,13} Se une de manera reversible a la subunidad 50S de los ribosomas del microorganismo inhibiendo la síntesis proteica y el crecimiento celular. Administrado por vía oral se absorbe por vía intestinal, con una biodisponibilidad del 33 al 39%, la cual se reduce en un 50% si se administra con los alimentos; atraviesa la placenta pero su concentración en la sangre fetal es sólo del 50%, no atraviesa la barrera hematoencefálica; se metaboliza en el hígado y su excreción es por vía biliar en el 80%; tiene una vida media de 5 a 10 horas dependiendo de la edad. Al concentrarse en la placenta se ha informado una reducción de la transmisión de *T. gondii* de un 50 a 60%. Reduce el aislamiento del organismo de las placentas de recién nacidos infectados en un 80 a 95%. Es menos eficaz que la pirimetamina más sulfadiazina en el tratamiento de la toxoplasmosis congénita y la encefalitis toxoplásmica. La toxicidad incluye manifestaciones alérgicas, intolerancia gastrointestinal y parestesias.¹³

La espiramicina al parecer no trata las manifestaciones de la toxoplasmosis fetal *in utero*. Su uso se encuentra limitado por la FDA en los Estados Unidos, por lo que se requiere autorización para su uso en ese país.¹³

Pirimetamina

La pirimetamina ha demostrado ser eficaz contra *T. gondii*. Cuando se utiliza junto con sulfadiazina, se obtiene un efecto sinérgico.¹³ La terapia combinada está indicada para la mayoría de las formas de toxoplasmosis.⁶ Sin embargo el uso de pirimetamina está contraindicado durante el primer trimestre del embarazo.⁷ Su farmacocinética se ha estudiado en niños y adultos.¹³ Inhibe la enzima dihidrofolato reductasa (DHFR), y por lo tanto la síntesis del ácido fólico, útil para la síntesis de bases púricas y pirimídicas.^{7,24} Se absorbe adecuadamente a nivel intestinal, con

una concentración máxima en plasma de 2 a 4 horas, el 87% se une a proteínas plasmáticas, tiene una vida media de 111 horas, se metaboliza en el hígado y se elimina por vía renal y leche.^{24,25} Su farmacocinética no se ve alterada por la presencia de insuficiencia renal, pero se ve afectada por otros fármacos administrados de forma concomitante (por ejemplo, fenobarbital). Sus efectos adversos incluyen: hiporexia, náuseas, vómito, depresión reversible de la médula ósea (siendo la neutropenia la más común), anemia megaloblástica, glositis atrófica y alergia.^{13,24} Otros efectos tóxicos también descritos son: anemia aplásica, hepatotoxicidad y síndrome de Stevens-Johnson.¹³

A todos los pacientes tratados con pirimetamina se les debe hacer una biometría hemática dos veces por semana. Se pueden presentar convulsiones con la sobredosis de pirimetamina.⁷ Siempre se debe administrar conjuntamente con ácido fólico para evitar la depresión medular, ya que las células humanas pueden utilizarlo para la síntesis de ácidos nucleicos, lo cual no sucede en el caso de *T. gondii*.¹³

Ácido fólico

El ácido fólico es un derivado del ácido tetrahidrofólico por lo que no requiere de la actividad de la dihidrofolato reductasa para su activación, lo que permite la síntesis de purina y timidina en presencia de la inhibición de la enzima dihidrofolato reductasa.²⁵ Se debe administrar vía oral junto con la pirimetamina. Tiene un efecto protector para las células humanas que no tienen el ácido fólico. En el caso de supresión de la médula ósea se aumenta la dosis. Debido a la vida media prolongada de la pirimetamina, se recomienda la continuación del tratamiento con ácido fólico hasta una semana después de interrumpir la pirimetamina.¹³

Sulfadiazina

Antibiótico derivado de sulfonamida, inhibe la síntesis de ácido fólico mediante antagonismo competitivo con el ácido para-aminobenzoico. Se absorbe adecuadamente por vía oral, distribuyéndose en la mayoría de los tejidos corporales; se une a proteínas en un 32 a 56%, se metaboliza por N-acetilación en el hígado, teniendo una vida media de 10 horas; su excreción es por vía renal. Tiene actividad

contra *T. gondii*, haciendo sinergismo con la pirimetamina.²⁵ Su dosificación debe ajustarse en pacientes con insuficiencia renal. Puede causar litiasis renal en niños mayores y adultos. El riesgo de desarrollar litiasis en estos pacientes puede reducirse con la administración de una mayor cantidad de líquidos (de 1 a 2 litros por arriba de los líquidos de mantenimiento) y la alcalinización urinaria.¹³ Otros efectos tóxicos de la sulfadiazina incluyen náuseas, vómito, dolor abdominal, reacciones de hipersensibilidad (por ejemplo, el síndrome de Stevens-Johnson y el síndrome de DRESS [síndrome de erupción cutánea con eosinofilia y síntomas sistémicos]), supresión de la médula ósea, y hepatotoxicidad.^{7,13} Su farmacocinética ya ha sido estudiada en los niños.¹³

Trimetoprim con sulfametoxazol.

Debido a que la actividad del sulfametoxazol es menor que la de sulfadiazina, el trimetoprim-sulfametoxazol ha sido considerado menos eficaz como tratamiento para la toxoplasmosis. Sin embargo, algunos médicos lo han utilizado con éxito, para tratar la encefalitis toxoplásmica en adultos con SIDA.¹³ El sulfametoxazol inhibe la síntesis de ácido dihidrofólico a partir del ácido para-aminobenzoico interfiriendo con la síntesis de ácido fólico.²⁵ El trimetoprim bloquea la dihidrofolato reductasa e impide la reducción del ácido dihidrofólico hasta ácido tetrahidrofólico; lo anterior inhibe la formación de folatos y por consecuencia la síntesis de proteínas, causando lisis del microorganismo.²⁴ Las farmacocinéticas del trimetoprim y sulfametoxazol son semejantes, se absorben en la primera porción intestinal, se unen a proteínas plasmáticas en el 40 y 70% respectivamente, atraviesan la barrera placentaria, la mayor parte de su excreción es por vía renal. Los efectos adversos se deben en su mayoría al sulfametoxazol y son náuseas, diarrea, y menos comunes el eritema multiforme, síndrome de Steven Johnson, necrosis epidérmica, hematuria, proteinuria, neuritis periférica, alucinaciones y en el 5% de las veces se presenta pancitopenia y aplasia medular.²⁴

Las dosis de trimetoprim-sulfametoxazol, que se usa como profilaxis de una neumonía por *P. jiroveci* en el contexto de la infección por el VIH, también parecen prevenir los episodios de reactivación de toxoplasmosis. Un ensayo controlado aleatorizado demostró que el trimetoprim-sulfametoxazol es tan eficaz como la

pirimetamina-sulfadiazina en el tratamiento de la toxoplasmosis ocular aislada en adultos jóvenes.¹³

Clindamicina

Es una lincosamida de origen semisintético, derivada de la lincomicina; se liga de forma reversible a las subunidades 50S de los ribosomas, evita que se formen enlaces peptídicos e inhibe la síntesis de proteínas por el microorganismo. Tiene absorción adecuada por vía oral; atraviesa la placenta, no así la barrera hematoencefálica, tiene una vida media de 2 a 3 horas, se metaboliza a nivel hepático y el 90% se elimina por vía biliar. Su toxicidad incluye: mareo, cefalea, náuseas, vómito; también hipotensión, arritmias, exantema, neutropenia, trombocitopenia y reacciones de hipersensibilidad.²⁵ Se ha encontrado que la eficacia de la clindamicina es comparable con la de la sulfadiazina para el tratamiento de la encefalitis toxoplásmica en pacientes adultos con SIDA, cuando se usa en un régimen de altas dosis combinada con pirimetamina. La pirimetamina sola en altas dosis también es eficaz en dicha patología.¹³

Otros agentes antimicrobianos

Numerosos agentes antimicrobianos han demostrado ser eficaces *in vitro* o en modelos animales contra los taquizoitos, pero su papel en el tratamiento de la infección en humanos está por definirse todavía. La atovaquona (5-hidroxi-naftoquinona) es eficaz contra los bradizoítos enquistados *in vitro*. Sin embargo, el 40% de los pacientes con SIDA tuvieron una recaída de encefalitis toxoplásmica, durante el tratamiento con este agente. Otros agentes antimicrobianos con efecto sobre *T. gondii in vitro* o *in vivo* incluyen cicloguanil, artemisinina, pirimetamina-sulfadoxina, rifabutina y macrólidos recientes como claritromicina, azitromicina y roxitromicina.¹³

Tratamiento en entornos clínicos específicos

Toxoplasmosis aguda adquirida

Los pacientes con toxoplasmosis aguda adquirida y adenopatías no necesitan tratamiento específico, a menos que tengan síntomas graves y persistentes o

evidencia de daño en órganos vitales.^{7,13} Si se presentan estos signos y síntomas, debe iniciarse el tratamiento con pirimetamina, sulfadiazina y ácido folínico.⁷ Los pacientes que parecen ser inmunocompetentes pero tienen síntomas graves y persistentes o daño a órganos vitales (por ejemplo, retino-coroiditis, miocarditis) necesitan tratamiento específico hasta dos semanas después de que los síntomas se resuelvan.^{7,13} Este tratamiento suele administrarse de 4 a 6 semanas. Sin embargo, la duración óptima no es bien conocida.^{7,13} Los niños mayores reciben una dosis de carga de pirimetamina de 2 mg/kg/día (máximo 75 mg/día), que se da los dos primeros días de tratamiento. La dosis de mantenimiento es de 1 mg/kg/día (máximo 50 mg/día). La sulfadiazina se administra a los niños >1 año de edad a una dosis de 75 a 100 mg/kg/día (máximo 4 g/día) dividido en dos dosis al día. El ácido folínico se administra por vía oral a dosis de 5 a 20 mg, tres veces a la semana (o incluso diariamente, dependiendo del recuento de leucocitos).^{7,23}

La evidencia serológica de infección aguda en un paciente inmunocomprometido, independientemente de que existan signos y síntomas de infección o se demuestre la presencia de taquizoítos en los tejidos, es una indicación para recibir un tratamiento similar al descrito para las personas inmunocompetentes con síntomas de afección a órganos blanco. Es importante establecer el diagnóstico de manera rápida e instituir un tratamiento oportuno. En los pacientes inmunocomprometidos que no tengan SIDA, el tratamiento debe mantenerse por lo menos 4 a 6 semanas tras la resolución de los signos y síntomas de la enfermedad activa.⁷ Es básico un seguimiento de estos pacientes ya que puede haber recaídas, lo que requiere pronta reinstauración del tratamiento.^{7,13}

Las recaídas son frecuentes en pacientes con SIDA, por lo que la terapia con pirimetamina y sulfadiazina o con trimetoprim-sulfametoxazol, tradicionalmente se continúan de por vida.^{6,7} Es posible interrumpir la terapia de mantenimiento cuando el recuento de células CD4+ se mantiene >200 células/ μ l durante 4 a 6 meses y todas las lesiones se han resuelto.^{7,13} La terapia generalmente induce una respuesta clínica benéfica, pero no erradica los quistes. El tratamiento de los pacientes con SIDA y seropositividad para *T. gondii* se continua siempre que los recuentos de células CD4+ sean <200 células/ μ l.⁷ Los datos actuales son insuficientes para

formular las pautas específicas en los niños; en algunas circunstancias debe considerarse la quimioprofilaxis.⁶

Toxoplasmosis en embarazadas

Sí una embarazada inmunológicamente normal adquiere la infección por *T. gondii* antes de la concepción, regularmente será asintomática y no precisará tratamiento para prevenir la infección congénita.¹ Por otro lado aunque no se dispone de datos para permitir un intervalo de tiempo definitivo, si la infección ocurre 6 meses antes de la concepción, es razonable documentar la fase de infección en la madre (antes de decidir realizar una amniocentesis con PCR del líquido amniótico, que resulta peligrosa para el producto) y evaluar al feto mediante ecografía; tratando de prevenir la infección congénita de la misma forma que en la embarazada con infección aguda.⁷

El tratamiento de una mujer con infección aguda durante el embarazo puede prevenir la transmisión a su feto. La razón de tal tratamiento deriva de la observación de que el período de retraso entre el inicio de la infección materna y la adquisición de la infección fetal puede ser significativo.¹³ Para la profilaxis de la infección fetal cuando la madre desarrolla toxoplasmosis aguda durante el embarazo, se recomienda la espiramicina (dosis de 1 g cada 8 horas vía oral sin alimentos) la cual atraviesa la placenta en bajas concentraciones y no es teratogénica.^{1,7} Las reacciones adversas son poco frecuentes e incluyen parestesias, erupciones cutáneas, náuseas, vómitos y diarrea. Se ha sugerido que la espiramicina debe continuarse durante todo el embarazo, incluso si la PCR del líquido amniótico obtenido más allá de las 18 semanas de gestación es negativa (debido a la preocupación teórica de infección/transmisión placentaria más adelante en la gestación).¹⁹

En la toxoplasmosis fetal confirmada o probable, se recomienda el tratamiento con pirimetamina (100mg al día en dos dosis durante dos días y posteriormente 50 mg una vez al día, vía oral), más sulfadiazina (1.5 a 3 g dos veces al día vía oral) y ácido fólico (de 5 a 20 mg una vez al día vía oral) excepto en el primer trimestre.^{7,13} Cuando existe infección definida en el primer trimestre, la sulfadiazina administrada de manera individual ésta recomendada, debido a que la pirimetamina es

potencialmente teratogénica en este periodo.⁷ El tratamiento con espiramicina se recomienda en la gestación antes de las 21 semanas, cuando no se sabe si existe infección fetal.⁶ El tratamiento de la madre de un feto infectado, con pirimetamina y sulfadiazina reduce la infección en la placenta y la gravedad de la enfermedad en el recién nacido, pero no previene las secuelas en el feto una vez que se ha producido la toxoplasmosis congénita.^{6,7,13} El retraso en el tratamiento materno durante la gestación conduce a un mayor daño cerebral y ocular en el niño.⁷

El Estudio Europeo Multicéntrico de Toxoplasmosis Congénita (EMSCOT) publicado en 2010, mostró que el tratamiento prenatal con espiramicina y/o pirimetamina, sulfadiazina y ácido fólico reduce el riesgo de secuelas neurológicas graves o la muerte en un 76% (razón de momios: 0.24; IC_{95%}: 0.07 a 0.71) (figura 14).^{19,21}

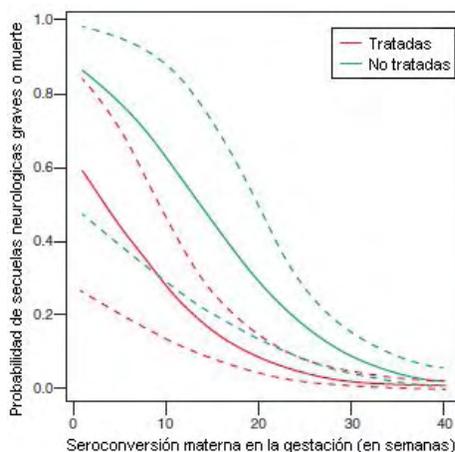


Figura 14. Probabilidad de secuelas neurológicas graves o muerte (PSNGM) del producto, de acuerdo al estado del tratamiento materno. Las líneas continuas muestran la relación entre la edad gestacional de la seroconversión materna y la PSNGM del producto, en las pacientes tratadas y no tratadas. Las líneas punteadas muestran el 95% de los límites Bayesianos. Tomado de la cita 21

Las mujeres embarazadas con infección crónica que están inmunocomprometidas deben ser tratadas con espiramicina durante toda la gestación. No se conoce el tratamiento óptimo para la prevención de la toxoplasmosis congénita de los fetos de una embarazada con infección por VIH e infección inactiva por *T. gondii*. Algunos investigadores sugieren que si no se interrumpe el embarazo, se debe tratar a la madre con espiramicina durante las primeras 14 semanas de gestación y posteriormente, con pirimetamina y sulfadiazina hasta el término. No existen pautas aceptadas de tratamiento. En un estudio de pacientes adultos con SIDA, la

pirimetamina (a dosis de 75 mg una vez al día vía oral) combinada con altas dosis de clindamicina (1200 mg cada 6 horas por vía intravenosa) presentaban la misma eficacia que la sulfadiazina y pirimetamina para el tratamiento de la encefalitis toxoplásmica.⁷

Toxoplasmosis ocular

Los pacientes con toxoplasmosis ocular se tratan generalmente con pirimetamina (dosis inicial de 2mg/kg/día dividida en dos dosis por 2 días y después 1mg/kg/día dividida en 2 dosis diario [dosis máxima de 50mg/día]), más sulfadiazina (dosis de 75 a 100mg/kg/día dividida en dos dosis al día [máximo 4gr al día]) y ácido fólico (dosis de 5 a 20mg/día tres veces por semana) por 4 a 6 semanas o hasta aproximadamente 2 semanas después de que la lesión desarrolla un aspecto quiescente (es decir, bordes bien definidos y resolución del infiltrado inflamatorio en el vítreo), que por lo general se produce de las 2 a las 4 semanas.^{7,13} En 7 a 10 días de iniciado el tratamiento los bordes de las lesiones retinianas se definen y la agudeza visual vuelve al estado previo antes del desarrollo de la lesión aguda.⁷

Los corticosteroides sistémicos se han administrado de forma concomitante con el tratamiento antimicrobiano cuando las lesiones activas involucran a la mácula, la cabeza del nervio óptico, o al haz maculopapilar; incluso cuando las proteínas del LCR son >1000 mg/dl al nacimiento.^{7,13} Los corticosteroides nunca se administran solos y se inician después de la dosis de carga de pirimetamina y sulfadiazina.⁷ La dosis diaria inicial de prednisona es de 1 mg/kg/día vía oral dividida en dos dosis, con una dosis máxima de 75 mg en 24 horas. Se puede administrar una dosis equivalente de otro corticoide. Posteriormente la dosis del corticosteroide se debe reducir gradualmente cuando la lesión parece estar bien delimitada, la pigmentación haya comenzado y la cifra de proteínas en LCR haya disminuido.¹³ La mayoría de las lesiones nuevas aparecen junto a las antiguas. En muy raras ocasiones, la vitrectomía y extracción del cristalino son necesarias para restaurar la agudeza visual.⁷

Las membranas neovasculares coroideas activas debidas a la retino-coroiditis toxoplásmica han sido tratadas con éxito en niños con inyección intravítrea de anticuerpos anti-VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular).⁷

Toxoplasmosis congénita

Todos los recién nacidos infectados con *T. gondii* deben ser tratados, tengan o no manifestaciones clínicas ya que la terapéutica es eficaz en la interrupción de la infección aguda que daña a los órganos vitales.⁷ Los signos de infección activa se resuelven en semanas de iniciado el tratamiento. En algunos niños tratados con los fármacos actualmente disponibles no se erradican los quistes que contienen bradizoítos.¹³ Los neonatos deben recibir tratamiento durante un año mediante una combinación de pirimetamina (dosis de carga de 2 mg/kg/día durante 2 días, y posteriormente 1 mg/kg/día durante 2 o 6 meses, y a continuación 1 mg/kg los días lunes, miércoles y viernes [o incluso más a menudo], por vía oral), más sulfadiazina (dosis de 100 mg/kg/día vía oral en 2 dosis diarias) y ácido fólico (dosis de 5 a 10 mg vía oral, administrados los días lunes, miércoles y viernes, o con más frecuencia dependiendo del recuento de neutrófilos).^{6,7}

Se recomienda que los niños infectados tengan un examen de la retina de cada mes hasta 3 meses después de suspender el tratamiento alrededor de su primer año de vida, y luego cada 3 meses hasta que el paciente pueda describir los síntomas visuales con precisión, y posteriormente cada 6 meses.¹³ La decisión de interrumpir el tratamiento depende de la evolución del caso y la aparición de efectos colaterales.

Dos a tres meses después de iniciado el tratamiento, los anticuerpos séricos desaparecen, pero “rebotan”, apareciendo nuevamente unas semanas después de terminada la terapia (aproximadamente en 3 a 4 meses después).^{1,13} Se desconoce el significado de este hallazgo, pero puede estar relacionado con el efecto inhibitorio de la pirimetamina sobre la hematopoyesis, fuente principal de las células de la respuesta inmunitaria.¹ La eficacia relativa en la reducción de las secuelas de la infección y la seguridad del tratamiento con 2 meses frente a 6 meses recibiendo una

dosis más elevada de pirimetamina se está comparando en el U.S. National Collaborative Study.^{7,13}

Casos especiales son los recién nacidos que nacen asintomáticos. Como se comentó anteriormente, pueden desarrollar secuelas neurológicas, oftalmológicas o auditivas graves meses o años después. Por ello, en algunos países se tienen programas de tamiz neonatal y se da tratamiento a aquellos que estén cursando una infección aguda. Algunos científicos han estudiado cohortes de recién nacidos infectados y han observado que la frecuencia de casos con secuelas y la magnitud de las mismas, disminuye si proporcionan el tratamiento profiláctico tempranamente. Sin embargo, no existen estudios controlados, doble ciego, que demuestren el efecto protector de dicho tratamiento. Dado que la terapia es muy agresiva para el recién nacido este es un asunto de gran controversia.¹

El manejo francés de la toxoplasmosis congénita (país en donde hasta hace poco presentaba una incidencia muy elevada), incluye la detección serológica sistemática de todas las mujeres en edad fértil y durante la gestación de manera mensual; posteriormente al término, durante el parto y un mes después del mismo. Las madres con infección aguda se tratan con espiramicina, lo que disminuye la transmisión del 23 al 60%.⁷ Para el diagnóstico fetal se emplea la ecografía y la amniocentesis para realizar PCR del líquido amniótico.^{7,13} La toxoplasmosis fetal se trata con pirimetamina y sulfadiazina. La interrupción del embarazo es muy poco frecuente en la actualidad. La estrategia de tratamiento con pirimetamina y sulfadiazina durante el embarazo por lo general tiene un resultado excelente, con un desarrollo normal de los niños. Sólo el 19% tienen hallazgos sutiles de infección congénita, como calcificaciones intracraneales (13%) y cicatrices coriorretinianas (6%), aunque un 39% presenta cicatrices coriorretinianas que se detectan en el seguimiento durante la infancia tardía. Varios estudios han demostrado mejores resultados cuando hay un tiempo más corto entre el diagnóstico y el inicio del tratamiento.⁷

La toxoplasmosis y la infección coexistente por VIH en los niños, es cada vez menos frecuente desde la aparición del TARGA. La mayoría de los niños reportados con toxoplasmosis y VIH, han tenido toxoplasmosis congénita y han presentado síntomas. Para estos niños, se recomienda el tratamiento con pirimetamina,

sulfadiazina y ácido folínico a las dosis descritas anteriormente para la toxoplasmosis congénita. Posteriormente se puede optar por continuar la profilaxis secundaria sobre todo para evitar la encefalitis toxoplásmica, dicha profilaxis pudiera suspenderse sólo si los pacientes se mantienen asintomáticos con respecto a la encefalitis toxoplásmica, y mantienen un aumento sostenido de linfocitos T CD4+ >200 células/ μ L después de recibir TARGA (durante más de 6 meses) siendo la etapa de más riesgo los primeros 6 meses después de su suspensión. Algunos médicos prefieren realizar una resonancia magnética cerebral como parte de su evaluación, para determinar si la interrupción del tratamiento es adecuada.¹³

Pronóstico

La Instauración temprana de un tratamiento específico para los recién nacidos con toxoplasmosis congénita por lo general cura las manifestaciones activas, incluyendo la retino-coroiditis, la meningitis, la encefalitis, la hepatitis, la esplenomegalia y la trombocitopenia. En raras ocasiones, puede desarrollarse hidrocefalia o empeorar durante el tratamiento, el cual parece reducir la incidencia de algunas secuelas, tales como la disminución de las funciones cognitivas y motoras.⁷

Los niños con una amplia afectación al nacimiento pueden tener un desarrollo normal a futuro o presentar alteraciones leves a moderadas de la visión, audición, función cognitiva, y otras funciones neurológicas. El retraso en el diagnóstico y tratamiento, la hipoglucemia perinatal, la hipoxia, la hipotensión, las infecciones repetidas de la derivación, y la discapacidad visual severa se asocian con un peor pronóstico. El pronóstico es reservado, pero no es necesariamente malo para los recién nacidos infectados.⁷ Los estudios recientes en Lyon y París, Francia, indican que el tratamiento de la toxoplasmosis fetal tratada, aun cuando se adquiriera al inicio de la gestación, suele ser favorable si no se detecta hidrocefalia en la ecografía, y que además se haya iniciado con prontitud el esquema de pirimetamina y sulfadiazina.⁷

El estudio SYROCOT en Europa indicó que el resultado es mejor cuando se acorta el tiempo entre el diagnóstico y el inicio del tratamiento de la toxoplasmosis fetal. Un trabajo en Lyon, Francia, ha indicado una baja incidencia de enfermedad ocular recurrente en niños con toxoplasmosis congénita que fueron tratados *in utero* y en su primer año de vida.⁷ En el estudio The National Collaborative Chicago-Based Congenital Toxoplasmosis Study (NCCCTS) (1981-2004) efectuado en los Estados Unidos se observó que los resultados neurológicos, del desarrollo, auditivos y oftalmológicos son mucho mejores para la mayoría de los niños (aunque no todos) que habían sido tratados durante su primer año de vida con pirimetamina y sulfadiazina (más ácido fólico) en comparación con niños que, en décadas anteriores, no habían sido tratados o que recibieron terapéutica sólo durante un mes. La edad media de los niños de este estudio fue de 10.8 años al momento del análisis, y la mayoría no habían llegado todavía a la adolescencia, que es cuando puede aumentar la tasa de la enfermedad recurrente.⁷

Prevención

Las medidas que se deben tomar para prevenir la infección por ingestión de carne y leche contaminados son: cocer la carne adecuadamente a más de 65.5°C, ahumarla o salarla; no tocar las mucosas de la boca o de los ojos mientras se manipula la carne cruda, lavarse las manos adecuadamente tras manipular carne, limpiar las superficies de la cocina que hayan estado en contacto con carne cruda y no beber leche sin pasteurizar.^{7,13}

Para la prevención de la infección que se puede adquirir con ooquistes excretados por los gatos se deben: lavar frutas y verduras antes de consumirlas; evitar el acceso de moscas, cucarachas, hormigas y otros insectos a los alimentos; evitar el contacto con materiales potencialmente contaminados con heces de gatos o utilizar guantes cuando se manipulen dichos materiales o se trabaje el jardín, desinfectar las cajas donde defecan los gatos. En cuanto a la prevención de la infección por transfusión sanguínea o trasplante de órganos no se deben utilizar derivados hematológicos ni órganos de donantes seropositivos para receptores seronegativos.^{6,7} Los receptores seronegativos de un trasplante de órgano sólido que reciben un aloinjerto de un

donante seropositivo, deben recibir profilaxis con trimetoprim-sulfametoxazol durante al menos 6 meses o pirimetamina por 6 semanas.¹⁹

La prevención de la toxoplasmosis congénita se basa en dar la información sobre las medidas de prevención primaria a las mujeres, el diagnóstico serológico y los tratamientos de la embarazada y del niño en caso necesario.²⁸ Existen muy pocos estudios de intervención que demuestren que la educación prenatal resulte eficaz en la reducción de la incidencia de toxoplasmosis congénita, aunque la evidencia de estudios observacionales sugiere que lo es.³⁰ La transmisión vertical de *T. gondii* es la más importante por las posibles implicaciones clínicas para el recién nacido. La prevención de la infección congénita se lleva a cabo en algunos países de Europa por norma mediante un tamiz prenatal. Las madres se estudian por serología, y si son positivas, se determina si se encuentran en fase aguda; si son seronegativas, son vigiladas mensualmente para determinar si hay seroconversión. En ambos casos se da tratamiento o se interrumpe el embarazo en caso de que los padres acepten, y las leyes y los comités de ética lo permitan.¹

Para prevenir la infección, disminuir la incidencia o reducir las manifestaciones de la toxoplasmosis congénita se deben: identificar a las mujeres de riesgo por rastreo serológico (tamizaje serológico), prevenir la infección de la madre, tratar a las madres con infección aguda durante el embarazo para reducir la transmisión fetal en un 60%; identificar a los fetos infectados por ecografía, amniocentesis y muestras de sangre fetal; tratar al feto intrauterino para reducir la gravedad de la enfermedad.^{7,13}

Las mujeres que no tienen anticuerpos específicos contra *T. gondii* antes del embarazo sólo deben comer carne bien cocida durante el embarazo y evitar el contacto con oocistos excretados por los gatos. Los gatos que se mantienen dentro de las casas, que comen alimentos preparados y no carne cruda, presentan bajo riesgo de excretar oocistos.⁷ En la actualidad no existe una vacuna protectora disponible, por lo que se considera una estrategia preventiva aun en estudio. Quizá el grupo de riesgo que valdría la pena considerar para un programa preventivo basado en vacunación, lo forman las mujeres seronegativas en edad reproductiva, previo a cada uno de sus embarazos.^{1,7}

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En un estudio piloto realizado en el 2005, se encontró una frecuencia aproximada de 2 casos de toxoplasmosis congénita por cada 1000 recién nacidos en la Ciudad de México, pero el intervalo de confianza al 95% fue 0.24–7.18, por lo que hace falta afinar este valor⁵. Asimismo, se desconoce cuáles otras infecciones podrían coexistir con la ocasionada por *Toxoplasma gondii*.

JUSTIFICACIÓN

El 80% de los pacientes con toxoplasmosis congénita son asintomáticos al nacimiento, pero de éstos, el 80% desarrollarán complicaciones como: crisis convulsivas o retino-coroiditis posteriormente. El diagnóstico temprano por tamiz neonatal permitiría iniciar tratamiento temprano a los pacientes infectados. El conocimiento de la prevalencia de la infección congénita por *T. gondii*, con o sin signos clínicos permitirá contar con información para realizar estudios de costo-beneficio, que su vez, permitan proponer un programa de control.

OBJETIVOS

Objetivo

Determinar la frecuencia de infección congénita por *Toxoplasma gondii* en niños de la ciudad de México detectados por tamiz neonatal.

Objetivos específicos

Determinar la proporción de casos asintomáticos en niños con toxoplasmosis congénita de la Ciudad de México.

Determinar las principales manifestaciones clínicas de niños de la Ciudad de México con toxoplasmosis congénita.

HIPÓTESIS

HA. La frecuencia de casos en una población de niños infectados congénitamente por *Toxoplasma gondii* en la Ciudad de México será de 0.2%.

H0. La frecuencia de casos en una población de niños infectados congénitamente por *Toxoplasma gondii* en la Ciudad de México será de 0.1%.

MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Por intervención: observacional.

Por muestreo y asignación: sistemático.

Por seguimiento: transversal

Por dirección del seguimiento: prospectivo.

Por fuente de datos: prolectivo.

Por evaluación de los datos: abierto.

Estrategia del estudio

Esta tesis forma parte del proyecto “Tamiz pre y neonatal de infecciones congénitas en la Ciudad de México” con número de registro 02/2008 y apoyado por CONACyT (convenio 69666). La estrategia consistió en probar muestras de sangre de cordón umbilical o talón de pacientes sospechosos de infección congénita con una prueba “multiespectro”. Aquellos que fueron positivos, se examinaron clínicamente en los servicios de Infectología, Audiología, Oftalmología y en caso necesario, Neurología y Seguimiento del Neurodesarrollo del INP; se tomó sangre periférica para determinar varias etiologías infecciosas. El diagnóstico de toxoplasmosis se realizó por medio de la detección de anticuerpos específicos por ELISA y Western blot, y de DNA del parásito por PCR en tiempo real, así como confirmación por seguimiento serológico y clínico.

Se consideró como caso aquel que presentó alguno o varios de los siguientes marcadores: anticuerpos IgM anti-Toxoplasma específicos, DNA parasitario en sangre mediante PCR en cualquier muestra, retino-coroiditis patognomónica de toxoplasmosis, aumento de título de anticuerpos IgG en 2-4 semanas o persistencia por más de 10 meses después del nacimiento, o presencia de neoanticuerpos. Con base a los casos confirmados se calculó la frecuencia de toxoplasmosis congénita.

Tamaño de la muestra

Como se mencionó este protocolo forma parte del proyecto “Tamiz pre y neonatal de infecciones congénitas en la ciudad de México” para el cual se hizo el cálculo del tamaño muestral con base en frecuencia estimada mínima y máxima de cada etiología (incluyendo toxoplasmosis pero no siendo exclusiva para éste). Tomando en cuenta una frecuencia de 1.0% de infección congénita, los parámetros diagnósticos de las pruebas específicas de cada enfermedad y el número de casos que se podían atender por mes en el INP, se calculó un tamaño de muestra entre 5000 y 20000 tarjetas Guthrie de cordón. Sin embargo la frecuencia de positivos encontrada en la prueba multiespectro fue de 6.2% con lo que se rebasó la capacidad de atención, por lo que hasta la fecha de corte de esta tesis se reclutaron 1606 muestras.

Población elegible

Recién nacidos vivos del día de nacimiento, de ambos sexos y nacidos en Hospital General Manuel Gea González de la Ciudad de México y área con-urbada.

Criterios de selección

1. Criterios de inclusión

Se incluyeron muestras de sangre tanto de cordón umbilical como periférica en papel filtro que se recibieron para el tamiz neonatal de desórdenes metabólicos de niños vivos menores de 5 días, provenientes del Hospital General Manuel Gea González de la Ciudad de México. Para el estudio clínico también se estudiaron casos de bebés de hasta 30 días de vida, que llegaron al Servicio de Neonatología del INP o que nacieron con toxoplasmosis congénita sintomática o de madres con toxoplasmosis aguda durante el embarazo.

2. Criterios de exclusión

No se procesaron casos que tuvieron muestra escasa de sangre para confirmación o repetición de pruebas.

Los resultados de la prueba tamiz que no pudieron ser confirmados debido a que no se presentó la madre con el bebé, fueron excluidos del análisis.

Diagnóstico clínico y seguimiento

Cuando hubo sospecha de infección congénita (figura 15) debido a que se obtuvo un resultado positivo en la prueba tamiz multiespectro, se solicitó a los familiares proceder a la toma de una segunda muestra sanguínea por medio de punción venosa, someterse a un examen clínico y en su caso, tratamiento. Se llenó la encuesta correspondiente a factores de riesgo, todo lo anterior con un consentimiento informado. Los niños que tuvieron niveles anormales de alguna de las dos inmunoglobulinas (IgM o IgA) fueron examinados clínicamente llenando un formato, además de la realización de un examen oftalmológico y auditivo; y de la intervención de otros servicios en caso de haberse considerado necesario (Infectología, Neonatología, Neurología, Laboratorio de Neurodesarrollo) del Instituto Nacional de Pediatría.

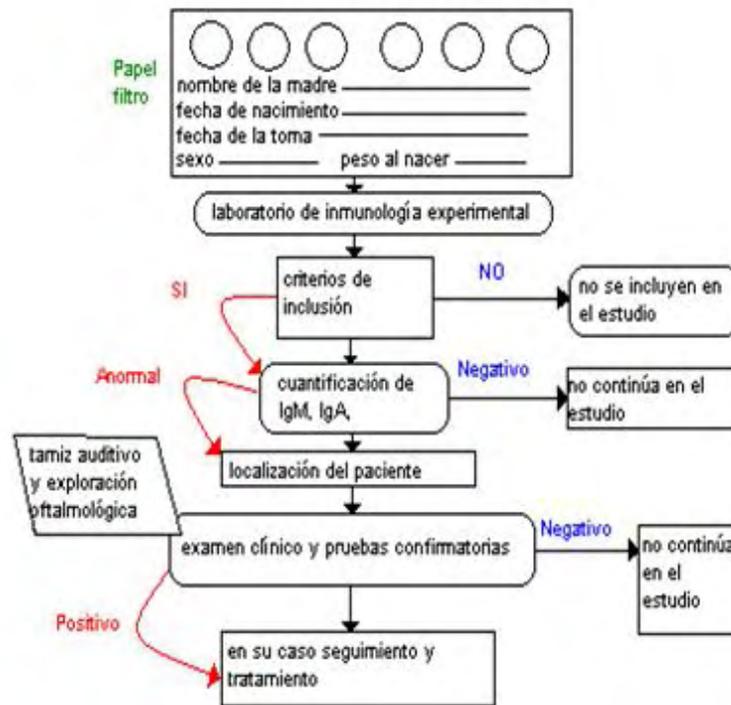


Figura 15. Diagrama de flujo que demuestra la captación, tamizaje, diagnóstico y seguimiento de los recién nacidos del grupo de riesgo habitual.

Definición de casos de toxoplasmosis congénita

Para poder confirmar si existe o no infección congénita por *Toxoplasma gondii*, se siguió el siguiente algoritmo diagnóstico. En todos aquellos neonatos en quienes se obtuvo un resultado positivo de anticuerpos IgM y/o IgA específicos frente a *T. gondii* mediante ELISA; o un resultado positivo de PCR en tiempo real se consideraron como caso de toxoplasmosis congénita, sobre todo si el paciente presentaba síntomas y/o signos sugerentes de infección por *T. gondii*, por lo que se canalizaron al servicio de Infectología del Instituto para iniciar el tratamiento específico. En el caso de que el resultado de una o varias de estas pruebas fueran positivas, pero si el paciente se encontraba asintomático, también se consideraron infectados por lo que fueron referidos al servicio de Infectología donde se indicó tratamiento profiláctico,

Al obtener un resultado positivo de IgG específica para el diagnóstico de toxoplasmosis mediante ELISA y negativo para IgA e IgM específicas, se debe actuar con cautela ya que únicamente se trata de una sospecha diagnóstica de infección congénita, por lo que se realizaron otras pruebas para confirmarlo: (1) Western blot, en la cual se compara el patrón de bandas del recién nacido con el de su madre y si el primero presenta bandas que no se encuentran en el de la madre (neoanticuerpos) se considera caso de toxoplasmosis congénita; (2) búsqueda de aumento de títulos de anticuerpos en dos o más determinaciones de IgG específica mediante ELISA cada 2-4 semanas. Si se encuentra un incremento en el título de anticuerpos IgG se considera caso de toxoplasmosis congénita, por el contrario si se encuentra una disminución del título de anticuerpos IgG, se descarta la infección congénita. En caso de que los títulos de anticuerpos no se incrementen o disminuyan, se deben seguir tomando muestras seriadas hasta que esta diferencia de anticuerpos sea perceptible. (3) cuando un paciente cuenta con síntomas y signos que sugieran el diagnóstico de infección congénita, pero sin un examen de laboratorio específico que la pueda confirmar o descartar, debe considerarse el diagnóstico de toxoplasmosis congénita, debiendo hacer diagnóstico diferencial con otras infecciones congénitas además de valorar inicio de tratamiento específico por el servicio de Infectología contra *Toxoplasma gondii* (figura 16).

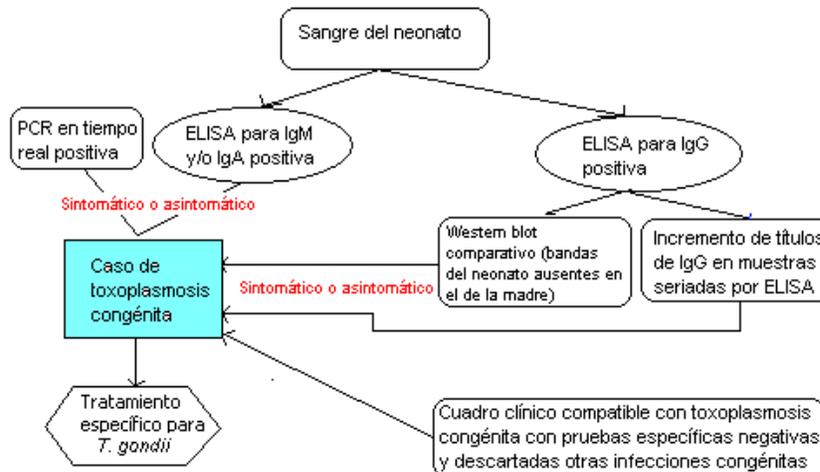


Figura 16. Algoritmo que muestra la definición de casos de toxoplasmosis congénita.

Métodos de laboratorio

Prueba de tamiz

Se realizó el inmunoensayo enzimático (ELISA) de captura de antígenos, siendo la IgA y la IgM los antígenos. La prueba se basa en la unión de anticuerpos de cabra contra la inmunoglobulina a analizar en placas de ELISA NUNC MaxiSorp de 96 pozos de fondo plano, incubándolas en solución de boratos 0.1M, a un pH de 8.6 durante toda la noche a 4°C; y posteriores lavados con solución salina 0.15M amortiguada con fosfatos 0.01M, a un pH 7.2 que contiene detergente Tween 20 al 0.05% (PBS-T). Se bloquearon los sitios libres con albúmina de bovino al 0.1% disuelta en PBS-T. Luego de lo anterior se colocó la muestra problema. La interacción antígeno-anticuerpo se evidenció con un conjugado de anticuerpo anti-IgM o anti-IgA acoplado a peroxidasa, la cual catalizó una reacción de óxido-reducción que permite que un cromógeno incoloro e inerte se oxide dando un producto colorido; para ello se usó la diamino-bencidina y como donador de electrones el H₂O₂. La reacción se reveló con la lectura en un espectrofotómetro diseñado para placas de ELISA, que mide la absorbancia, relacionado a la concentración del colorante transformado. En la palca se incluyen concentraciones conocidas de la inmunoglobulina en cuestión, para usarlas después en la determinación de la concentración. Los valores de absorbancia de cada muestra se intrapolaron en una línea construida con pozos incubados con concentraciones

conocidas de las inmunoglobulinas puras, y multiplicando el factor de dilución de la muestra, lo que permitió reportar la concentración en microgramos por mililitro ($\mu\text{g/mL}$) (figura 17).

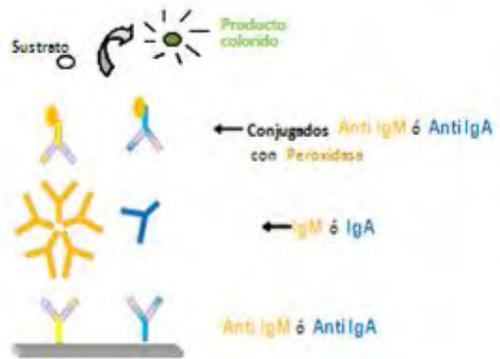


Figura 17. ELISA de captura de antígenos (IgA o IgM)

Pruebas confirmatorias

El diagnóstico de laboratorio de toxoplasmosis se realizó con una combinación de pruebas, previamente estandarizadas y de uso rutinario en el laboratorio de Inmunología Experimental del Instituto Nacional de Pediatría.

1) *ELISA indirecto para la determinación de anticuerpos de tipo IgG contra *T. gondii*.* En el caso de pacientes con valores de inmunoglobulinas anormales en la primera muestra sanguínea tomada en tarjeta Guthrie, se localizó a la madre y se solicitó una muestra de sangre periférica de ella y una segunda del neonato como ya se había mencionado en párrafos anteriores. A estas muestras de suero primero se les determinó la presencia de anticuerpos de clase IgG contra el extracto crudo de *T. gondii* mediante ELISA indirecto. Los casos negativos se descartaron como sospechosos.

La prueba de ELISA indirecto para la determinación de anticuerpos de tipo IgG contra *T. gondii* se basa en la unión de antígenos de extracto crudo de *T. gondii* con los anticuerpos del paciente a analizar en pozos de placas de poliestireno (Nunc), las cuales se sensibilizaron con 100 μL de extracto crudo de *T. gondii* a una concentración de 2 $\mu\text{g/ml}$ en amortiguador de carbonatos 15 mM, pH 9.6 y se incubaron a 4°C durante toda una noche. Los pozos se lavaron 5 veces con solución salina 0.15 M amortiguada con fosfatos 10 mM (PBS) adicionada con 0.05% de

Tween 20 (-T) y posteriormente los sitios inespecíficos de unión se bloquearon con 200 μ L de albumina sérica bovina al 0.1% y se incubaron durante 30 minutos a 37°C. Se realizaron nuevamente los lavados y se colocaron los sueros de los pacientes diluidos 1:500 en PBS-T, incubándolos 2 horas a 37°C. Se repitieron los lavados. Se adicionaron 100 μ L de conjugado anti IgG de humana diluido 1:2000 en PBS-T y se incubaron durante 2 horas a 37°C. Se repitieron los lavados y se reveló con 100 μ L por pozo de una solución de sustrato/cromógeno (5 ml de citrato de sodio 0.1M y 5 ml de ácido cítrico 0.1M más 5 mg de ortofenilendiamina, adicionada con 4 μ L de peróxido de hidrógeno al 30%). Después de 10-20 minutos de incubación, la reacción se detuvo con 50 μ L de ácido sulfúrico 1N. Los valores de absorbancia se obtuvieron mediante un lector de ELISA (Turner Biosystems 9300-010) a 490 nm de longitud de onda y se capturaron a través del programa ModulusTM Microplate Reader. Este ensayo fue validado para diagnóstico de toxoplasmosis en personas de 1 a 45 años de todo México y demostró tener una sensibilidad de 98% y una especificidad de 65% (figura 18).^{34,35}

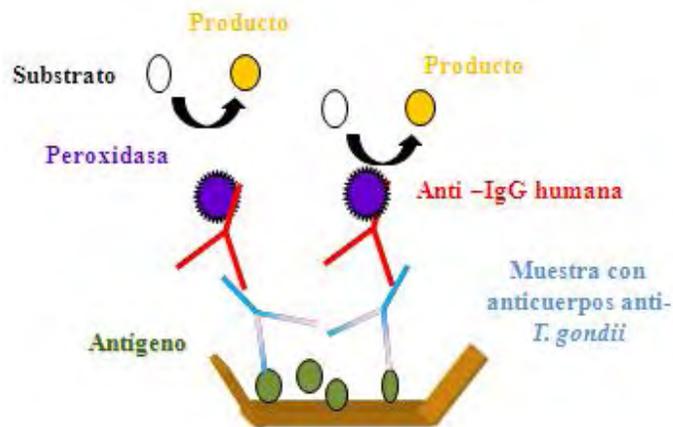


Figura 18. ELISA indirecto. Determinación de anticuerpos IgG presentes en el suero de los pacientes contra extracto crudo de *Toxoplasma gondii*.

En todos los casos de ELISA positivos a IgG se tomó una segunda muestra, no antes de las tres semanas de edad y en algunos una tercera muestra, para comparar los títulos de anticuerpos por ELISA. En caso de que éstos aumentaran, se consideró que el neonato estaba infectado congénitamente (Figura 19).

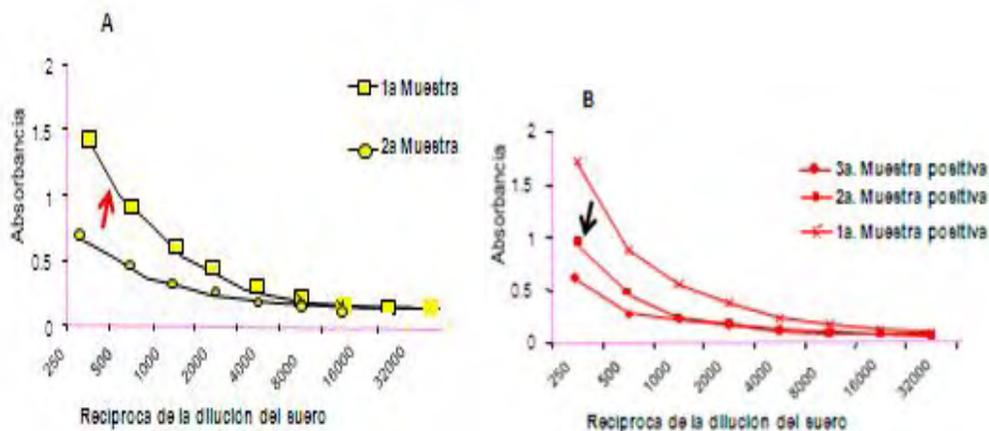


Figura 19. Comparación de los títulos de anticuerpos IgG anti-Toxoplasma por ELISA. En la figura A se observa un incremento del título de anticuerpos (flecha roja) comparados entre la primera y segunda muestras de suero de un paciente con sospecha de toxoplasmosis congénita lo que confirma el diagnóstico. En la figura B se observa una disminución del título de anticuerpos (flecha negra) entre tres muestras de suero del mismo neonato tomadas en diferentes momentos, lo que descarta el diagnóstico.

2) *Western blot*. Con el fin de apoyar la confirmación de la infección congénita los casos positivos reportados por ELISA indirecta para la determinación de anticuerpos de tipo IgG contra *T. gondii* se examinaron mediante *Western blot* para la detección de anticuerpos específicos de clase IgM e IgG. Si el recién nacido presentara un resultado positivo de anticuerpos específicos de clase IgM, se confirmó la infección congénita. En caso de que fuera negativo para IgM pero positivo para IgG, se comparó el patrón de bandas del recién nacido con el de su madre y si el primero presentara bandas ausentes en el de la madre, se consideró como infectado congénitamente (presencia de “neoanticuerpos” de clase IgG) (Figura 20).

Brevemente la técnica del *Western blot* es la siguiente, 1.5×10^7 taquizoitos de la cepa RH >95% puros se sometieron a electroforesis en geles de poliacrilamida-SDS en condiciones reductoras y se transfirieron a membranas de nitrocelulosa. Las membranas fueron bloqueadas con la leche descremada al 2% durante 1 hora, lavadas tres veces con PBS-T e incubadas con las muestras de suero diluidas 1:200. Después de más lavados, se incubaron con el anticuerpo anti IgG o IgM humana-peroxidasa diluido 1:2500 en la PBS-T. Los complejos inmunes fueron revelados con 60 mg de 4-chloro-1-naphthol en 10 mL de metanol y 10 mL de PBS más 100 μ L de H₂O₂ al 30%. Esta prueba fue validada para IgG e IgM y presenta valores por arriba de 90% en ambos casos de sensibilidad y especificad.^{34,35}

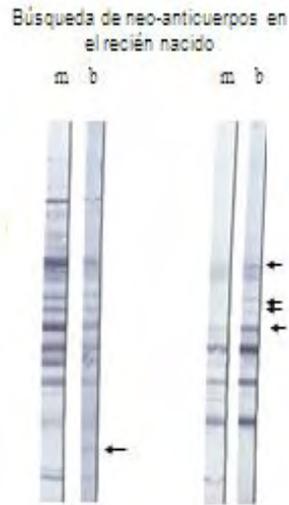


Figura 20. Western blot para anticuerpos IgM e IgG anti-Toxoplasma gondii. Comparación del patrón de bandas de la madre (m) con el del bebé (b). Las flechas muestran las bandas presentes en el patrón del recién nacido pero ausentes en el de la madre.

3) *Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real.* La infección por *T. gondii* fue confirmada por la amplificación del gen *B1* de *T. gondii* mediante la técnica de PCR en tiempo real. Se utilizó un par de oligonucleótidos y una sonda TaqMan para la amplificación específica de un fragmento de 62 pb del gen multicopia B1.^{36,37}

La reacción de PCR se llevó a cabo en un volumen final de 25 μ L, conteniendo la mezcla universal de reacción, 0.90 μ M de ambos oligonucleótidos, 0.25 μ M de la sonda marcada y 30 ng de la muestra de DNA (DNA de la cepa RH de *T. gondii* o DNA de la muestra biológica).

Las muestras se probaron por triplicado y en cada reacción se incluyó un control interno. La amplificación se realizó en un termociclador Step One de 48 pozos (Applied Biosystems). Un resultado positivo en la sangre del neonato se considera confirmación de infección congénita y amerita tratamiento aun sin que haya síntomas (profiláctico) (Figura 21).



Figura 21. PCR en tiempo real. En la figura se señala mediante una flecha roja la banda que identifica la presencia de DNA de *Toxoplasma gondii* presente en la muestra de suero del neonato, lo que confirma la infección congénita. Cortesía de M en C Claudia Rico Torres.

Análisis de resultados y pruebas estadísticas

La frecuencia de infección por toxoplasmosis congénita en general, se calculó para la población abierta, proveniente del tamiz neonatal con base en el número de casos confirmados por cada 1000 recién nacidos vivos, y un intervalo de confianza del 95%.

Los resultados de las encuestas de tamiz, o en su caso de primera visita o de los expedientes clínicos (INP) fueron capturados en una base de datos en el programa Excel, la cual fue transferida al programa SPSS v.21 para su análisis. Se determinó la frecuencia de positivos a la prueba de tamiz así como al diagnóstico final de toxoplasmosis incluyendo las pruebas específicas de laboratorio.

RESULTADOS

En el presente estudio se tamizaron 1734 neonatos, de los cuales 153 corresponden a pacientes atendidos en el INP (8.8%) y cuatro en el INPER (0.2%); el resto corresponden a pacientes del Hospital General Manuel Gea González (90.9%) del Distrito Federal. En la figura 22 se puede observar la distribución de la edad gestacional al nacimiento, siendo la más frecuente de 39 semanas.

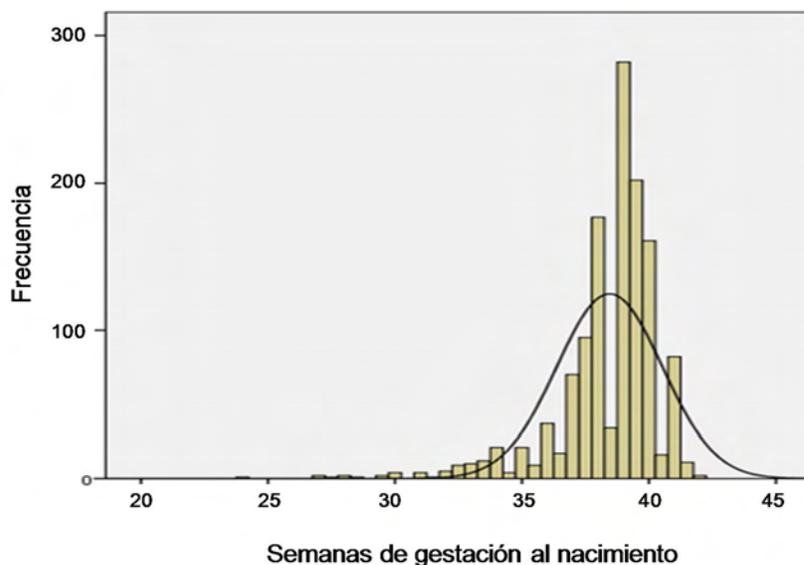


Figura 22. Distribución de la edad gestacional al nacimiento.

Del total de recién nacidos, 1144 fueron producto de embarazo único (96.8%), 35 de embarazo gemelar (3%) y 3 nacieron de un solo embarazo (0.2%). En cuanto al género, 904 neonatos fueron del sexo masculino (52.1%) y 777 fueron del sexo femenino (44.8%). El peso promedio fue de 2944 (\pm 578) gramos y la talla de 48.6 (\pm 3.4) cm. La edad materna más frecuente fue 19 años, aunque el promedio fue de 24.5 (\pm 6.5) años, sin observarse distribución normal.

De 1371 mujeres que respondieron a la pregunta, 790 (60.1%) tuvieron algún problema durante la gestación (cuadro 5). Como puede observarse la mayoría tuvieron infección de vías urinarias o cervicovaginitis. De relevancia son las otras infecciones (cuadro 7) que incluyeron algunas que pueden transmitirse verticalmente, como la toxoplasmosis o la sífilis.

Cuadro 5. Enfermedades de las madres durante el embarazo

Enfermedades	n	%
Fetales*	10	1.3
Obstétricas	44	5.6
Amenaza de aborto/óbito	35	4.4
Hipertensivas	87	11.0
Diabetes mellitus	33	4.2
Infecciones vaginales	299	37.8
Infecciones de vías urinarias	481	60.9
Otras infecciones*	38	4.8
Otras**	31	3.9
TOTAL	790	100.0

*Ver detalles en cuadros siguientes; **Incluyen enfermedades poco comunes como trombofilia, cirrosis o epilepsia.

Cuadro 6. Problemas fetales diagnosticados *in utero*

Enfermedades del producto diagnosticadas in utero	n	%
Gastrosquisis	2	20.0
Mielomeningocele	1	10.0
Hidrocefalia	2	20.0
Masa abdominal	1	10.0
Retraso del crecimiento intrauterino	2	20.0
Cardiopatía congénita	2	20.0
Total	10	100.0

Cuadro 7. Infecciones durante el embarazo*

Tipo de infección	n	%
Caries	2	5.3
Sífilis	1	2.6
Toxoplasmosis	3	7.9
Herpes	1	2.6
Infecciones de vías aéreas superiores	6	15.8
Molusco contagioso	3	7.9
Varicela	2	5.3
Gastroenteritis infecciosa	2	5.3
Infección por virus de hepatitis C	1	2.6
Infección por virus de hepatitis A	2	5.3
Infección por virus del papiloma humano	12	31.6
Infección por virus de inmunodeficiencia humana	6	15.8
Total	38	100

*Excluyendo infecciones de vías urinarias y cervicovaginitis.

La gran mayoría de los neonatos estudiados eran productos de un primer o segundo embarazo (44.9 y 28.4%, respectivamente) y las madres vivían en el Distrito Federal (77%) o el Estado de México (3.5%). El 87% de los niños provenían de las Delegaciones del sur de la ciudad de México (Tlalpan, Coyoacán, Xochimilco, Iztapalapa, Tláhuac, Magdalena Contreras y Milpa Alta). Por otra parte, fueron 7 madres a quienes se les practicó un perfil de TORCH (0.4%), sin embargo no se mencionó el resultado de dicha prueba. No se encontró asociación entre la toxoplasmosis congénita y enfermedad materna durante el embarazo, sufrimiento fetal, contacto de la madre con gatos, consumo de carne cruda o mal cocida o lugar de origen/nacimiento.

Los resultados mostraron que 99 neonatos tuvieron valores positivos de IgA y 14 dudosos (cuadro 8). Asimismo la IgM se encontró positiva en 35 pacientes, con valores dudosos en 79. No hubo diferencia significativa en el porcentaje de niños con valores anormales de alguna de estas dos inmunoglobulinas. Se identificaron 113 casos con valores de IgM o IgA anormalmente altos. A estos neonatos se les hizo el diagnóstico confirmatorio de toxoplasmosis congénita mediante pruebas de laboratorio específicas y examen clínico. Se confirmó el diagnóstico en cuatro pacientes, pero se encontraron otros ocho con sospecha.

Cuadro 8. Frecuencia de recién nacidos positivos para IgA, IgM, alguna de las dos o ambas, de acuerdo al Hospital donde fueron atendidos

Unidad hospitalaria	n	IgA		IgM		IgA ó IgM	IgA e IgM
		n confirmados (%)	n conf+dudos * (%)	n confirmados (%)	n conf+dudos * (%)	n confirmados (%)	n confirmados (%)
INP	140	11 (7.9)	11 (7.9)	5 (3.6)	17 (12.1)	16 (11.4)	0 (0.0)
H. Gea González	1466	88 (6.0)	102 (7.0)	30 (2.0)	97 (6.6)	97 (6.6)	21 (1.4)
Total	1606	99 (6.1)	113 (7.0)	35 (2.2)	114 (7.1)	113 (7.0)	21 (1.3)

* Conf+dudos= Casos con valores positivos y dudosos.

En el cuadro 9 se puede observar que el reclutamiento de neonatos a través de sus valores anormales de IgM o IgA aumenta la detección de casos de toxoplasmosis congénita de 0.25% a 4.7%, esto es 18.8 veces. De los cuatro casos confirmados con toxoplasmosis congénita, el 50% de ellos fueron positivos y el 25% dudosos a IgM; mientras que el 50% fueron positivos a IgA (cuadro 10).

Cuadro 9. Casos de toxoplasmosis congénita

Unidad	Casos de toxoplasmosis congénita (%)			
	n	Confirmado [∞]	Sospechoso ^Ω	Probable [¥]
INP	2	0 (0.0)	1 (50.0)	0 (0.0)
Hospital Gea Glez.	84	4 (4.8)	7 (8.3)	11 (13.1)
Total de los citados	86*	4 (4.7)	8 (9.3)	11 (12.8)
Total tamizado	1606	4 (0.25)	8 (0.50)	11 (0.68)

*De los 101 casos citados, sólo se pudo realizar diagnóstico de toxoplasmosis a 86. [∞] PCR positiva, IgM anti-*Toxoplasma gondii*, presencia de neoanticuerpos en cualquier muestra sanguínea o aumento de títulos de anticuerpos entre dos muestras. ^Ω Con evidencia serológica de permanencia de anticuerpos IgG de baja avidéz por más de un mes, pero que requieren seguimiento para confirmación de infección congénita. [¥] Con presencia de anticuerpos de clase IgG de alta avidéz, probablemente de origen materno, sin exclusión de infección congénita.

Cuadro 10. Casos de toxoplasmosis congénita confirmada y sus resultados de IgM e IgA

Caso	IgM	IgA
1	Positivo	Negativo
2	Dudoso	Negativo
3	Positivo	Positivo
4	Negativo	Positivo

Descripción clínica de los pacientes con toxoplasmosis congénita confirmada

Se describen los cuatro pacientes quienes tuvieron diagnóstico confirmado de toxoplasmosis congénita, siendo previamente tamizados mediante la prueba Multiespectro para su detección; dos de los cuales actualmente se encuentran en tratamiento.

1) El primero es un paciente masculino cuya familia es originaria y residente de Xochimilco en el Distrito Federal; nació el 7 de julio del 2013 quien fue producto de

la gesta uno de una madre de 17 años dedicada a la venta de papas fritas y legumbres en la vía pública, las cuales manipulaba con las manos. Llevó su control prenatal en un centro de salud, tomo ácido fólico y hierro desde el primer mes de gestación. Presentó un episodio de vaginosis a los 7 meses tratada con óvulos no especificados. El producto nació a las 39 semanas de gestación por parto vaginal en el Hospital General Manuel Gea González, recibiendo sólo pasos iniciales de reanimación neonatal; con un peso de 3180 gramos y una talla de 45 cm. Se calificó con un Apgar de 7/9 al minuto y a los cinco minutos respectivamente. Al nacimiento se tomó muestra sanguínea de cordón umbilical la cual fue embebida en una tarjeta Guthrie para la determinación de inmunoglobulinas obteniendo una IgA de 49.4 µg/mL (positiva) y una IgM de 22.6 µg/mL (negativa), por lo que se citó para completar su abordaje del paciente. Alimentado al seno materno exclusivo desde el nacimiento, con aplicación de vacunas BCG y anti Hepatitis B también al nacer. El paciente se encontró asintomático y a la exploración física inicial presentaba adecuada coloración de tegumentos; normocefalia, fontanela anterior normotensa de 2 por 2 cm, fontanela posterior puntiforme, adecuada implantación de pabellones auriculares, con membranas timpánicas sin alteraciones, ojos simétricos con pupilas isocóricas normorreflecticas, narinas permeables, cavidad oral bien hidratada sin alteraciones, faringe normal; presentó algunas lesiones papulares en cara sugestivas de miliaria. Cuello cilíndrico sin adenomegalias, tráquea central, tiroides normal. Tórax simétrico con adecuados movimientos de amplexión y amplexación, campos pulmonares bien ventilados sin agregados anormales, ruidos cardiacos rítmicos sin soplos ni otros agregados anormales. Abdomen blando depresible no doloroso, peristalsis normal, sin hepatomegalia ni esplenomegalia. Genitales fenotípicamente masculinos Tanner I, con testículos en bolsas escrotales, pene sin alteraciones, ano perforado. Extremidades inferiores y superiores simétricas con arcos de movilidad conservados, tono y fuerza conservados. Reflejos primitivos presentes (moro, paracaídas, succión, búsqueda, presión palmo-plantar). Al confirmarse el diagnóstico de toxoplasmosis congénita asintomática (IgG específica positiva, PCR positiva en tres muestras, respuesta celular frente a *T. gondii* positiva), fue valorado por el servicio de Infectología quienes indicaron tratamiento en el mes de agosto del 2013 consistente en pirimetamina 1mg/kg/día vía oral, trimetoprim con sulfametoxazol 15mg/kg/día dividido cada 12 horas por vía oral, ácido folínico 0.7 mg/kg/día tres veces por semana vía oral. La duración del tratamiento será de 12

meses. Fue evaluado por el servicio de Oftalmología el 21 de octubre del 2013 encontrando al paciente ocularmente sano. El día 20 de septiembre del 2013 se realizó una tomografía computarizada de cráneo la cual fue valorada por el servicio de Neurología encontrando adecuada diferenciación de la sustancia gris y blanca, núcleos de la base con densidad normal, sin calcificaciones; tercer, cuarto ventrículos y cisternas de la base de tamaño normal. Sin embargo Neurología diagnosticó el 23 de octubre del 2013 síndrome piramidal y detención del crecimiento de la circunferencia cefálica, por lo que se da seguimiento al paciente en consulta externa además de terapia de rehabilitación física. Cuenta con un ultrasonido abdominal del septiembre del 2013 sin alteraciones. Los exámenes de laboratorio de octubre del 2013 mostraron únicamente una aspartato aminotransferasa (AST) de 67 UI/L, alanino aminotransferasa (ALT) de 46 UI/L ligeramente elevados y una anemia normocítica hipocrómica con hemoglobina de 10.9 g/dL, hematocrito de 32.8 %, concentración media de hemoglobina de 26.9 pg; el resto sin alteraciones. Le fue indicado tratamiento con hierro vía oral.

2) La segunda es una paciente femenina cuya familia es originaria y residente de Coyoacán en el Distrito Federal; nació el 27 de junio del 2013, quien fue producto de la primera gesta de una madre de 30 años quien tiene diagnóstico de síndrome de ovarios poliquísticos e hipotiroidismo en tratamiento con levotiroxina, se dedica al hogar. Llevó su control prenatal con médico, tomo ácido fólico y fumarato ferroso desde el primer mes de gestación además de que a los seis meses de embarazo se realizó TORCH el cual fue negativo. Le diagnosticaron oligohidramnios por ultrasonido al séptimo mes de embarazo además de aparente retraso en el crecimiento intrauterino al producto. Nace a las 36 semanas de gestación mediante cesárea en el Hospital General Manuel Gea González, indicada por el diagnóstico de preclampsia grave; al nacer la paciente recibió solo pasos iniciales de reanimación neonatal; con un peso de 1615 gramos y una talla de 45 cm. Se calificó con un Apgar de 8/9 al minuto y a los cinco minutos respectivamente. Posteriormente se tomó una muestra sanguínea del cordón umbilical la cual fue embebida en una tarjeta Guthrie para la determinación de inmunoglobulinas obteniendo una IgA 89.7 µg/mL (positiva) y una IgM de 130.6 µg/mL (positiva). Permaneció hospitalizada durante 23 días por los diagnósticos de prematuridad y peso bajo al nacer, donde cursó de manera favorable sin complicaciones ni infecciones. Alimentada con fórmula para prematuro,

fórmula de inicio y seno materno, no se aplicaron vacunas al nacimiento. A la exploración física presentaba adecuada coloración de tegumentos, sin lesiones; normocefalia, fontanela anterior normotensa de 3.5 por 2.5 cm, fontanela posterior puntiforme, adecuada implantación de pabellones auriculares, con membranas timpánicas sin alteraciones, ojos simétricos con pupilas isocóricas normorreflecticas, narinas permeables, cavidad oral bien hidratada sin alteraciones, faringe normal, presentó algunas lesiones papulares en cara sugestivas de miliaria. Cuello cilíndrico con dos adenomegalias de menos de 1cm móviles en región retroauricular bilateral, tráquea central, tiroides normal. Tórax simétrico con adecuados movimientos de amplexión y amplexación, campos pulmonares bien ventilados sin agregados anormales, ruidos cardiacos rítmicos sin soplos ni otros agregados anormales. Abdomen blando depresible no doloroso, peristalsis normal, sin hepatomegalia ni esplenomegalia. Genitales fenotípicamente femeninos, Tanner I, sin alteraciones, ano perforado. Extremidades inferiores y superiores simétricas con arcos de movilidad conservados, tono y fuerza conservados. Reflejos primitivos presentes (moro, paracaídas, succión, búsqueda, prensión palmo-plantar). Al confirmarse el diagnóstico de toxoplasmosis congénita asintomática mediante las pruebas específicas, fue valorada por el servicio de Infectología quienes indicaron tratamiento el 20 de septiembre del 2013 a los tres meses de edad, consistente en pirimetamina 1mg/kg/día vía oral, trimetoprim con sulfametoxazol 10 mg/kg/día dividido cada 12 horas por vía oral, ácido folínico 1 mg/kg/día tres veces por semana vía oral. La duración del tratamiento será de 12 meses. Fue evaluada por el servicio de Oftalmología encontrando a la paciente ocularmente sana. En septiembre del 2013 se realizó una tomografía computarizada de cráneo la cual presentó tejidos blandos y extracraneales sin alteraciones, componentes óseos de adecuada densidad identificándose huesos Wormianos en la fontanela posterior y tendencia a la turricefalia, se identificó prominencia de los espacios subaracnoideos de la región frontal y temporal bilateral, las cisternas de la base y el sistema ventricular conservando morfología y amplitud. Parénquima cerebral con asimetría de densidad, con existencia de calcificaciones puntiformes en los ganglios basales, tálamos sin alteraciones, línea media en central. Dentro de los exámenes de laboratorio de octubre del 2013 cuenta con una biometría hemática con hemoglobina de 12.1 g/dL, hematocrito de 37.1%, leucocitos 6300/mm³, neutrófilos 24%, linfocitos 65%, plaquetas 475 mil/mm³.

3) El tercero es un paciente masculino cuya familia es originaria de Veracruz y actualmente residente de Coyoacán en el Distrito Federal, cuenta con fecha de nacimiento del 2 de agosto del 2012, quien fue producto de la primera gesta de una madre de 21 años quien es aparentemente sana, inició vida sexual a los 18 años y cuenta con una pareja sexual. Llevó su control prenatal con médico. Le diagnosticaron oligohidramnios por ultrasonido. El producto nació a las 41.1 semanas de gestación por cesárea en el Hospital General Manuel Gea González, indicada por el diagnóstico de oligohidramnios; al nacer la paciente recibió sólo pasos iniciales de reanimación neonatal; con un peso de 2838 gramos y una talla de 49 cm. Se calificó con un Apgar de 8/9 al minuto y a los cinco minutos respectivamente, se aplicaron BCG y vacuna de hepatitis B. Se tomó una muestra sanguínea del cordón umbilical la cual fue embebida en una tarjeta Guthrie para la determinación de inmunoglobulinas obteniendo una IgA 0.8 µg/mL (negativa) y una IgM de 101.1 µg/mL (dudoso). Se inició seguimiento al paciente realizando una primera revisión clínica el 27 de agosto del 2012 encontrando a un paciente de 25 días de vida extrauterina, con 36.5°C de temperatura, frecuencia cardiaca de 160 x minuto y frecuencia respiratoria de 60 x minuto; peso de 3870 gramos, talla de 51.5 cm; a la exploración física presentaba adecuada coloración de tegumentos, sin lesiones; normocefalia, fontanela anterior normotensa de 3 por 2 cm, fontanela posterior puntiforme, adecuada implantación de pabellones auriculares, con membranas timpánicas sin alteraciones, ojos simétricos con pupilas isocóricas normorreflecticas, nariz en gancho, narinas permeables, cavidad oral bien hidratada sin alteraciones, faringe normal, aparente microrretrognatia. Cuello cilíndrico sin adenomegalias, tráquea central, tiroides normal. Tórax simétrico con adecuados movimientos de amplexión y amplexación, campos pulmonares bien ventilados sin agregados anormales, ruidos cardiacos rítmicos sin soplos ni otros agregados anormales. Abdomen blando depresible no doloroso, peristalsis normal, hepatomegalia con borde hepático debajo del borde costal de 6.5 cm, sin esplenomegalia. Genitales fenotípicamente masculinos, Tanner I, sin alteraciones, ano perforado. Extremidades inferiores y superiores simétricas con arcos de movilidad conservados, hipertonía de extremidades; cabeza en gota; se realizó exploración por oftalmólogo encontrando al paciente sano ocular y se tomó muestra sanguínea para la realización de pruebas confirmatorias. Se realizó nueva revisión clínica el 3 de septiembre del 2012 a los 32

días de vida encontrando al paciente con peso de 4160 gramos y borde hepático de 6.5 por 6 por 5cm sin más cambios con respecto a la revisión previa. Nueva revisión clínica el 20 de diciembre del 2012 a los 4 meses y 18 días de vida con 36.6°C de temperatura, frecuencia cardiaca de 131 por minuto, frecuencia respiratoria de 31 por minuto, peso de 8060 gramos, talla de 43 cm, perímetro cefálico de 43 cm, fontanela anterior de 1 por 1 cm, a la exploración física normocefalia, no se observaron dismorfias faciales, tampoco hepatomegalia con exploración neurológica normal, exploración oftalmológica normal. Se realizó diagnóstico de toxoplasmosis congénita asintomática mediante las pruebas específicas frente a *T. gondii*, siendo referida a hospital de origen para continuar su tratamiento y seguimiento.

4) La cuarta es una paciente femenina que es originaria de Veracruz y actualmente residente de la Delegación Miguel Hidalgo en el Distrito Federal con fecha de nacimiento del 2 de marzo del 2012, quien fue producto de la segunda gesta de una madre de 33 años quien tiene antecedente de comer alimentos en la vía pública a razón de 2 veces por semana, contacto indirecto con gatos, una transfusión a los 11 años de edad en 1989, además de dos cesáreas incluyendo el embarazo actual. Llevó su control prenatal con médico, le fue aplicada una dosis de toxoide tetánico en el embarazo, cursó con infección vaginal recibiendo tratamiento no especificado, se realizó TORCH el 11 de agosto del 2011 el cual fue positivo a infección materna por *T. gondii*. Nace a las 38 semanas de gestación mediante cesárea en el Hospital La Trinidad del Distrito Federal; al nacer la paciente recibió solo pasos iniciales de reanimación neonatal; con un peso de 2840 gramos y una talla de 50 cm. Se calificó con un Apgar de 8/9 al minuto y a los cinco minutos respectivamente, exploración neurológica normal. Posteriormente se tomó una muestra sanguínea la cual fue embebida en una tarjeta Guthrie, obteniéndose una IgA 0.7 µg/mL (negativa) y una IgM de 131 µg/mL (positiva) además de muestra sanguínea en tubo de EDTA. No se realizó exploración de fondo de ojo por oftalmólogo ni tamiz auditivo. Se realizó diagnóstico de toxoplasmosis congénita asintomática mediante las pruebas específicas frente a *T. gondii*, siendo referida a hospital de origen para continuar su tratamiento y seguimiento.

DISCUSIÓN

El objetivo principal de la presente tesis fue determinar la frecuencia de toxoplasmosis congénita en pacientes tamizados mediante una prueba para la detección de una infección congénita inespecífica de agente etiológico. Si combinamos los resultados de ambos hospitales de procedencia de los pacientes tamizados (Instituto Nacional de Pediatría y Hospital General Manuel Gea González), la frecuencia fue de 0.25% para la infección congénita por *T. gondii*; la cual fue de las más altas reportadas a nivel mundial (que va de 0.01 a 0.3% variando según el área geográfica) y un poco mayor que la del estudio piloto previo realizado en México en el 2005 en el cual se encontró una frecuencia de 0.2% en una población no sesgada de neonatos del Distrito Federal.⁵

El hecho de que se haya presentado elevación de alguna o ambas de las inmunoglobulinas (IgM y/o IgA) en los cuatro pacientes con infección congénita por *T. gondii* confirmada, es significativo para el proyecto (sobre todo para IgM), ya que el reclutamiento de neonatos a través de sus valores anormales de IgM o IgA aumenta la detección de casos de toxoplasmosis congénita de 0.25% a 4.7%, esto es 18.8 veces; a partir de esta elevación anormal se inició el abordaje de los pacientes tamizados (se identificaron 113 casos con valores de IgM o IgA anormalmente altos y 21 casos con IgM e IgA anormalmente altos), sin embargo no podemos ignorar la posibilidad de que la elevación anormal de éstas inmunoglobulinas en el resto de los pacientes tamizados sea por otras causas como lo son otras infecciones congénitas, sepsis, alergias, o problemas inmunológicos o de otro tipo. A pesar de lo anterior, no se encontró una relación estadísticamente significativa entre el diagnóstico de toxoplasmosis congénita y sufrimiento fetal, enfermedades fetales diagnosticadas *in utero*, alergia materna, vacunación materna, o alguna de las enfermedades en el embarazo que fueron variables analizadas; por lo que convendría realizar más estudios para detectar la posible asociación entre éstas. Tampoco se encontró un relación estadísticamente significativa entre el diagnóstico de toxoplasmosis congénita y el sexo, la talla, el peso, la calificación de Apgar al minuto y a los cinco minutos, la edad gestacional de los neonatos; la edad materna, las enfermedades crónicas maternas, historial quirúrgico materno, número

de embarazo, sufrimiento fetal; factores de riesgo de infección por *T. gondii* como el contacto de la madre con gatos, consumo de carne cruda o mal cocida, consumo de alimentos en la vía pública, transfusiones o lugar de habitación de la madre en el periodo del embarazo. Esta falta de relación entre la infección y los factores comúnmente relacionados es poco común.

La literatura mundial menciona que al adquirir la infección por *T. gondii* durante el tercer trimestre la mayoría de los recién nacidos son asintomáticos y a término. El gran problema es que posteriormente desarrollarán secuelas neurológicas, oftalmológicas o auditivas hasta en un 90% de los casos y en un tiempo que puede ser de tres meses hasta 20 años.^{1,6,7,13} En la presente tesis las manifestaciones clínicas de los neonatos diagnosticados con toxoplasmosis congénita fueron variadas o incluso no se presentaron al nacimiento; en uno de los pacientes no existieron manifestaciones clínicas al nacimiento, sin embargo a los 3 meses de edad presentó síndrome piramidal y detención del crecimiento de la circunferencia cefálica. La madre del segundo neonato cursó con oligohidramnios y preclampsia grave y su producto tuvo prematuridad de 36 semanas de gestación y bajo peso al nacer permaneciendo hospitalizado por 23 días sin problemas clínicos aparentes; sin embargo 3 meses después se realizó TAC de cráneo encontrando calcificaciones puntiformes en los ganglios basales. La madre del tercer neonato presentó oligohidramnios, permaneciendo este asintomático al nacimiento, al mes de edad presentó hipertensión de extremidades y hepatomegalia, a los 6 meses no presentó manifestaciones clínicas. El cuarto paciente no presentó sintomatología clínica. La descripción clínica de los pacientes corresponde con la publicada en la literatura.

Uno de los problemas principales para la realización del proyecto fue la falta de disponibilidad de otros hospitales para la participación de otros pacientes en el estudio. Sin embargo pudo resolverse gracias al apoyo del Instituto Nacional de Pediatría, del Hospital General Manuel Gea González y con menor participación del INPER, pudiendo reclutar 1734 pacientes hasta el punto de corte de la presente tesis.

Como pediatra, la elaboración de esta tesis me enseñó la importancia de las manifestaciones clínicas y su adecuada interpretación, además de la relevancia que tiene la investigación en la práctica actual de la medicina, un campo de constantes cambios. El hecho de no sospechar la infección asintomática al nacimiento, retrasa

el envío de los pacientes a Hospitales de tercer nivel para su diagnóstico y tratamiento, por lo que si se trata de manera precoz a los niños afectados, los signos y síntomas pueden resolverse y el desarrollo incluso puede ser normal. Sin embargo, todavía falta mucho por conocer, empezando por identificar la frecuencia de este tipo de infecciones congénitas en nuestro medio, específicamente de *T. gondii* que es la segunda infección congénita más frecuente en la población mundial según la literatura, podremos idear sistemas de tamiz neonatal eficaces y de bajo costo a nivel nacional, para el diagnóstico temprano y evitar secuelas en la población infantil con este tipo de infecciones.

CONCLUSIONES

- La frecuencia de casos positivos entre los recién nacidos es consistente con la frecuencia de la infección congénita por *T. gondii* en el mundo y sobre todo la reportada en el estudio piloto del 2005 en la ciudad de México de 0.2%.
- La utilidad de la prueba de tamizaje neonatal fue la detección de valores positivos a IgM y/o IgA en aquellos pacientes con sospecha diagnóstica de toxoplasmosis congénita y que fueron asintomáticos al nacimiento, confirmándose más adelante el diagnóstico mediante las pruebas específicas para *T. gondii*.
- Las manifestaciones clínicas de los pacientes con infección congénita por *T. gondii* fueron las reportadas en la literatura, sin embargo se presentaron de manera diferente en los cuatro pacientes.
- En los pacientes con toxoplasmosis congénita confirmada no se encontró coinfección con otros agentes etiológicos causantes de infecciones congénitas como citomegalovirus. Sin embargo, se esperan resultados concluyentes al finalizar el proyecto.

PERSPECTIVAS

Esta tesis forma parte de un proyecto que actualmente se encuentra en proceso, en el cual se pretenden reclutar entre 5000 y 20000 neonatos nacidos en la ciudad de México para conocer la frecuencia y otros variables relacionadas a las infecciones congénitas no sólo de *Toxoplasma gondii*, sino de otras infecciones como citomegalovirus, sífilis, herpes y rubéola, por lo que se espera se conozca la frecuencia de infecciones individuales y coinfecciones en esta población de recién nacidos tamizada de la ciudad de México de los hospitales de la Secretaría de Salud participantes. Con lo anterior se podrá valorar la posibilidad de instaurar un sistema de tamizaje neonatal de infecciones congénitas favoreciendo la prevención de secuelas debidas a este tipo de infecciones muchas veces asintomáticas; además de un menor costo para el diagnóstico y tratamiento de estas enfermedades.

Por otra parte, de acuerdo a los resultados iniciales arrojados, se sugiere la realización de otros trabajos de investigación que puedan relacionar las causas de elevación anormal en los recién nacidos tanto de IgM como de IgA además de las causas infecciosas como por ejemplo la presencia de alergias maternas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Correa D., Coballase-Urrutia E., Cañedo I., Rico-Torres C. 2006. Toxoplasmosis. En: Flisser A, Pérez-Tamayo R (eds). Aprendizaje de Parasitología basado en problemas. Editores de Textos Mexicanos. México DF. pp.355-367.
2. Correa D., Cañedo-Solares I., Ortiz-Alegría L. B., Caballero-Ortega H., Rico-Torres C. P. 2007. Congenital and acquired toxoplasmosis: diversity and role of antibodies in different compartments of the host. *Parasite Immunol* 29:651-660.
3. Correa D., Caballero-Ortega H., Rico-Torres C. P., Cañedo-Solares I., Ortiz-Alegría L. B., Becerra-Torres E., Olmedo-Hernández M., Medina-Escutia M. E., Murrieta S., Hernández-Islas J. L. 2007. Immunobiology of congenital toxoplasmosis. En: Terrazas LI (ed.). *Advances in the Immunobiology of Parasitic Diseases*. ISBN: 81-308-0166-3. Research Signpost. Kerala, India. pp. 199-224.
4. Ambroise-Thomas P., Petersen E. 2000. Congenital toxoplasmosis. Scientific background, clinical management and control. Springer-Verlag, France.
5. Vela-Amieva M., Cañedo-Solares I., Gutiérrez-Castrellón P., Pérez-Andrade M., González-Contreras C., Ortiz-Cortés J., Ortega-Velázquez V., Galván-Ramírez M. L., Ruiz-García M., Saltigeral-Simentel P., Ordaz-Favila J. C., Sánchez C., Correa D. 2005. Neonatal screening pilot study of *Toxoplasma gondii* congenital infection in México. *Am J Trop Med Hyg* 72:142-144.
6. Pickerin L. K., Peter G., Baker C. J., Gerber M. A., MacDonald N. E., Orenstein W. A., Patriarca P. Red Book. Enfermedades Infecciosas en Pediatría: Informe del Comité de Enfermedades Infecciosas de la American Academy of Pediatrics. 25a ed., Editorial Médica Panamericana. Elk Grove Village, Illinois, USA. 2000. 3: 549-553.
7. Behrman R. E., Kliegman R. M., Jenson H. B. Nelson. Tratado de Pediatría. 19a ed., Mc Graw Hill. Barcelona, España. 2011; 287: 1208-1216.
8. Remington J. S., Klein J. O. Infectious Diseases of the Fetus and New Born Infant, 5th ed., WB Saunders. Philadelphia, USA. 2001; 31: 947-1091.
9. Couvreur J., Desmonts G., Tournier G., Szusterkac M. A homogeneous series of 210 cases of congenital toxoplasmosis in 0 to 11-month-old infants detected prospectively, *Ann Pediatr (Paris)*. 1984 Nov; 31(10):815–819.
10. Eichenwald H. A study of congenital toxoplasmosis. In Slim JC (ed): *Human Toxoplasmosis*. Copenhagen, Munksgaard, 1960, pp. 41 – 49.
11. McAuley J., Boyer K., Patel D., Mets M., Swisher CN., Roizen N., et. al. Early and longitudinal evaluations of treated infants and children and untreated historical

- patients with congenital toxoplasmosis: the Chicago Collaborative Treatment Trial. *Clin Infect Dis.* 1994 Jan; 18(1): 38–72.
12. González S. N., Torales T. A. N., Gómez B. D. *Infectología Clínica Pediátrica.* 7a ed., Mc Graw Hill, 2004; 39: 525-533.
 13. Fergin R. D., Cherry J. D., Harrison G. J., Kaplan S. L. *Text Book of Pediatric Infectious Diseases.* 6th ed., Saunders. Philadelphia, USA. 2009; section XXII; 235: 2954 – 2971.
 14. Kumar V., Abbas A. K., Fausto N., Aster J.C., Perkins J. A. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, Professional Edition.* 8th ed. Philadelphia, USA. Saunders, 2009, Chapter 28.
 15. Mets, M., Holfels, E., Boyer, K. M., Swisher CN., Roizen N., Stein L., Stein M., Hopkins J., Withers S., Mack D., Luciano R., Patel D., Remington JS., Meier P., McLeod R.: Eye manifestations of congenital toxoplasmosis. *Am. J. Ophthalmology.* 1996. 122: 309-324.
 16. Wilson, M., Jones, J. L., and McAuley, J. B.: *Toxoplasma.* In Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgenson, J. H., Pealler M. A., Tenover F.C., Tenover R.H.: (eds.): *Manual of Clinical Microbiology.* 8th ed. Washington, D.C., ASM Press, 2006, pp. 1970-1980.
 17. McLeod, R., Wisner, J., Boyer, K.: Toxoplasmosis. In Krugman, S., Katz, S. L., and Gershon, A. A. (eds.): *Infectious Diseases of Children.* St. Louis, Mosby-Year Book, 1992, p. 539.
 18. Steenhoff A. P., Plotkin S. A., Congenital Infections. In Bergelson J.M., Shah S. S., Zaoutis T.E. (eds): *Pediatric Infectious Diseases.* 1st ed., Mosby Elsevier. Philadelphia, USA. 2008; 30: 277–283.
 19. Contopoulos D., Montoya J. G. *Toxoplasma gondii* (Toxoplasmosis). In Long S. S., Pickering L. K., Prober C. G. (eds): *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases.* 4th ed., Elsevier Saunders. Philadelphia, USA. 2012, Part III; section D; 273: 1308-1317.
 20. Dunn D., Wallon M., Peyron F., Petersen E., Peckham C., Gilbert R. Mother to Child Transmission of Toxoplasmosis: Risk Estimates for Clinical Counselling, *Lancet* 1999 May 29; 353 (9167):1829–1833.
 21. Cortina-Borja M., Tan H.K., Wallon M., Paul M., Prusa A., Buffolano W., Malm G., Salt A., Freeman K., Petersen E., Gilbert R. E. (2010): Prenatal Treatment for Serious Neurological Sequelae of Congenital Toxoplasmosis: An Observational Prospective Cohort Study. *PLoS Med* 7(10): e1000351. doi:10.1371/journal.pmed.1000351.
 22. Barness E.G., Kapur R.P., Oligny L.L, Sibert J.R., Optiz J. M. *Potter's Pathology of the Fetus, Infant and Child.* 2nd ed., Mosby. Philadelphia, USA. 2007; 10: 406-408, 36:2068-2071.

23. Anderson B.L., Gonik B., Perinatal Infections. In Martin R. J., Fanaroff A. A., Walsh M. C. Neonatal-Perinatal Medicine Diseases of the Fetus and Infant. 9th ed., Mosby Elsevier. St Louis Missouri, USA. 2010; 23: 417- 418.
24. González S. N., Saltigeral S. S. Guía de antimicrobianos, antivirales, antiparasitarios, antimicóticos e inmunomoduladores, 8va ed., Nieto Editores. México, D.F. 2008; pp 91-93, 270.
25. Taketomo C. K., Hodding J. H., Kraus D. M., Manual de Prescripción Pediátrica. 16 ed. Lexi-Comp, Intersistemas Editores. México, D. F. 2010; pp 297-299, 775-776, 1163-1164, 1247-1248.
26. Volpe J.J. Neurology of the Newborn. 5th ed. Saunders Elsevier. Philadelphia, USA. 2008; 20: 851-869.
27. Barnes P. D., Brian Imaging. In Blickman J. G., Parker B. R., Barnes P. D. Pediatric Radiology-The Requisites. 3rd ed. Mosby Elsevier. Philadelphia, USA. 2009; 8: 227.
28. Carral L., Kaufer F., Olejnik P., Freuler C., Durlach R.: Prevention of congenital toxoplasmosis in a Buenos Aires hospital. Medicina (B Aires) 2013; 73 (3): 238-242.
29. Delhaes L., Yera H., Ache S., Tsatsaris V., Houfflin-Debarge V.: Contribution of molecular diagnosis to congenital toxoplasmosis. Diagn Microbiol Infect Dis. 2013 Jun; 76(2): 244-7.
30. Di Mario S., Basevi V., Gagliotti C., Spettoli D., Gori G., D'Amico R., Magrini N.: Prenatal education for congenital toxoplasmosis (Review). Cochrane Database of Syst Rev. 2013 Feb, 28;2:CD006171. DOI: 10.1002/14651858. CD006171.pub3.
31. Khan A., Fux B., Su C., Dubey J.P., Darde M.L., Ajioka J.W., Rosenthal B.M., Sibley L.D. Recent transcontinental sweep of *Toxoplasma gondii* driven by a single monomorphic chromosome. Proc Natl Acad Sci USA. 2007,104:14872-14877.
32. Caballero-Ortega H., Uribe-Salas F. J., Conde-Glez C. J., Cedillo-Pelaez C., Vargas-Villavicencio J. A., Luna-Pastén H., Cañedo-Solares I., Ortiz-Alegría L. B., Correa D. 2012. Seroprevalence and national distribution of human toxoplasmosis in Mexico: analysis of the 2000 and 2006 National Health Surveys. Trans Roy Soc trop Med Hyg 106: 653-659.
33. Galván Ramírez M. L., Castillo-de-Leon Y., Espinoza-Oliva M., Bojorques-Ramos M. C., Rodríguez-Pérez L. R., Bernal Redondo R., Cañedo-Solares I., Espinoza López L., Correa D. 2006. Acute infection of *Toxoplasma gondii* and cytomegalovirus reactivation in a pediatric patient receiving liver transplant. Transpl Infect Dis. 8:233-236.
34. Ortiz-Alegría L. B. (2004). Validation of laboratory tests for detection of anti-*T. gondii* IgG and IgM antibodies in pregnant women. Bachelor Thesis. National Autonomous University of Mexico. México DF, México.

35. Caballero-Ortega H., Castillo-Cruz R., Murrieta S., Ortíz-Alegría L. B., Calderón-Segura E., Conde-Glez C. J., Cañedo-Solares I., Correa D. Diagnostic-test evaluation of immunoassays for anti-Toxoplasma gondii IgG antibodies in a random sample of Mexican population. *J Infect. Dev. Ctries* (en prensa).
36. Kompalic-Cristo A., Frotta C., Suárez-Mutis M., Fernandes O., Britto C. 2007. Evaluation of a real-time PCR assay based on the repetitive B1 gene for the detection of *Toxoplasma gondii* in human peripheral blood. *Parasitol Res* 101:619-625.
37. Rico-Torres C. P., Figueroa-Damián R., López-Candiani C., Macías-Avilés H. A., Cedillo-Peláez C., Cañedo-Solares I., Luna-Pastén H., Tecuatli-Herrada B. L., Correa D. 2012. Molecular diagnosis and genotyping of human cases of perinatal toxoplasmosis in Mexico. *Ped. Infect. Dis. J.* 31:411-413.