



Evaluación de un test comercial de avidéz de IgG: Aporte al diagnóstico de primoinfección por *Toxoplasma gondii*

Marilena Canales R., Felipe Navia G., Marisa Torres H., Mónica Concha C., Ana M Guzmán D., Carlos Pérez C. y Patricia García C.

Evaluation of an IgG avidity commercial test: Contribution to diagnosis of primary infection caused by *Toxoplasma gondii*

Introduction: Toxoplasmosis (T) is a major chronic parasitic infection in immunocompromised patients and pregnant women. It is important to discriminate between acute phase (AT) and chronic phase (CT). Diagnosis is serological in immunocompetent patients (concentration of IgG and IgM). **Objective:** To evaluate the utility of an IgG avidity test (A-IgG) to identify the acute and chronic stage. Avidity is the strength of affinity between a specific immunoglobulin and the protein antigenic epitope of the infecting agent, an affinity that increases over time. **Patients and Methods:** We used a qualitative kit that measures the avidity of IgG, discriminating the two phases. In 35 patients with clinical diagnosis of AT and/or CT, IgG, IgM and IgG A (VIDAS®) were performed. **Results:** Patients with AT were positive for IgM and IgG, but presented weak avidity. In the 21 cases with CT, 52% (n: 11) were IgM positive and 100% (n: 21) had positive IgG with strong avidity. **Discussion:** The results confirm that the test of A-IgG may be useful in the diagnosis of AT, and has 100% concordance with reference test (qualitative IgM + quantitative IgG). The result is available within 24 hrs, and may be useful in diagnosis of AT in pregnant women.

Key words: Toxoplasmosis, serology, IgG avidity.

Palabras clave: Toxoplasmosis, serología, avidéz de IgG.

Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago
Servicio de Laboratorios Clínicos
Laboratorio de Microbiología (MCR, MCC).
Facultad de Medicina
Residente de Psiquiatría (FNG).
Departamento de Laboratorios Clínicos (AMGD, PGC).
Departamento de Medicina Interna (CPC).

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuentes de Financiamiento: Fondos del Departamento de Laboratorios Clínicos.

Recibido: 9 de mayo de 2010
Aceptado: 18 de octubre de 2010

Correspondencia a:
Patricia García Cañete
pgarcia@med.puc.cl

Introducción

La toxoplasmosis es una infección zoonótica parasitaria cosmopolita, de amplia distribución, producida por el protozoo tisular *Toxoplasma gondii*. En Chile se estima una prevalencia de infección en población adulta joven de 36,9%¹. Como parte de su historia natural, esta infección cursa con dos fases: toxoplasmosis aguda (TA) y toxoplasmosis crónica (TC). La primoinfección en pacientes inmunocompetentes se presenta en 90% en forma asintomática y en 10% en forma sintomática predominando el síndrome mononucleósico².

La primoinfección es particularmente importante durante el embarazo o cercano a él, con riesgo de transmisión transplacentaria³. En estos casos, es muy relevante el apoyo de técnicas de inmunodiagnóstico para realizar su confirmación precoz y la terapia oportuna. En pacientes inmunocomprometidos pueden observarse primoinfecciones y reactivaciones que están muy relacionadas al grado de compromiso del sistema inmune. La serología convencional en estos casos es de poca ayuda y son las técnicas de biología molecular como reacción de polimerasa en cadena para ADN las que pueden aportar al diagnóstico específico⁴⁻⁵.

Para realizar el diagnóstico oportuno de primoinfección durante el embarazo se requiere contar con técnicas confiables, rápidas y poco invasoras. Con este objeto algunos países realizan diagnóstico serológico de toxoplasmosis con determinación de IgM, y seroconversión de IgG (aparición de IgG en casos que no la tenían).

La detección de IgM en suero para *T. gondii* puede prolongarse por mayor tiempo de lo tradicionalmente descrito, hasta por más de un año⁶⁻⁷, lo que puede llevar a errores de interpretación diagnóstica. La IgG específica ha aportado al diagnóstico de la mujer embarazada especialmente a través de estudios de seroconversión. Algunos países han implementado estrategias de tamizaje poblacional pero presentan como gran limitante, el alto costo⁸⁻⁹.

Actualmente, se dispone de nuevas tecnologías diagnósticas basadas en el comportamiento de la inmunoglobulina G con el antígeno del agente infectante, determinando el grado de avidéz de la IgG mediante detección por fluorescencia ELFA, Vidas®, bioMérieux). Se reconoce como avidéz a la fuerza de afinidad que existe entre la IgG específica y el epítipo de la proteína de *T. gondii*.

De acuerdo a diferentes estudios, esta afinidad aumentaría con el tiempo, lo que permitiría discriminar si la infección es reciente (< 4 meses), o antigua (> 4 meses).



Se reconoce que poblaciones de IgG con alta y baja avidéz, existirían en forma concomitante e irían predominando según el período de la infección¹⁰⁻¹⁶. Entre las ventajas de la técnica de avidéz de IgG se encuentra la rapidez y ser una técnica operador independiente. Es relevante destacar que en el estudio de una muestra aislada se puede contar con el resultado en menos de 24 hrs, evitando así esperar dos semanas para conocer la tendencia de las inmunoglobulinas, tiempo necesario para realizar una curva serológica.

Este estudio tiene como objetivo evaluar la utilidad de la avidéz de IgG en el diagnóstico de TA en pacientes chilenos, mediante un test comercial y automatizado.

Material y Método

Se diseñó un estudio descriptivo del comportamiento del test en estudio (Toxo-IgG-Avidity®) en comparación con los tradicionales (ELFA IgG e IgM) en muestras de pacientes con TA y TC. Los pacientes fueron atendidos en el período de dos años en la Red Salud UC y las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Católica. Para el estudio se utilizó suero en un volumen no menor de 500 microlitros.

La avidéz de la IgG se realiza en un sistema totalmente automatizado (VIDAS®, bioMérieux) que utiliza urea como agente que disocia la unión IgG-antígeno. A mayor avidéz, existe menor disociación de la unión antígeno-anticuerpo. El resultado es un índice que relaciona el valor de fluorescencia obtenido en la muestra con agente disociante (avidéz de IgG) con el valor de fluorescencia sin agente disociante (IgG), recomendándose por el fabricante los siguientes puntos de corte:

- *Avidéz baja*: menor o igual a 200 UI/mL; en estos casos se trataría de casos agudos, en el cual la infección se adquirió en los últimos cuatro meses.
- *Avidéz intermedia*: de 200 a 300 UI/mL; este rango permite descartar infección reciente, y se sugiere repetir la muestra en quince días.
- *Avidéz fuerte*: mayor a 300 UI/mL; lo que indicaría que la infección se encuentra en fase crónica, y que el paciente la adquirió hace más de cuatro meses.

Las muestras fueron estudiadas con técnicas convencionales para determinar la presencia de IgG e IgM; el test para detectar IgM es cualitativo y el test para IgG entrega resultados cuantitativos. Cuando las muestras tenían presencia de IgG pasaban a la fase de estudio de avidéz de IgG. El procesamiento de esta técnica de avidéz dura aproximadamente 30 minutos y puede realizarse para una o varias muestras simultáneas, con un máximo de 36. Las técnicas tradicionales utilizadas fueron ELFA IgG, IgM en el Sistema VIDAS® (bioMérieux), las que utilizan enzimo-inmunoanálisis tipo *sandwich* con detección fluorométrica¹⁷⁻¹⁸.

Se estudiaron 35 muestras serológicas, que corresponden a 35 pacientes con diagnóstico clínico de TA y TC. De éstos, 14 correspondían a TA con cuadro clínico compatible (linfadenopatía y fiebre); 13 de ellos eran adultos inmunocompetentes, una mujer embarazada y un recién nacido con síndrome de TORCH. Como casos con TC ingresaron 21 pacientes: 2 niños y 19 adultos (2 mujeres embarazadas, 2 pacientes con infección por VIH/SIDA y 15 adultos inmunocompetentes). El diagnóstico de TC se basó en el hallazgo de IgG en concentraciones positivas menores y estables en el tiempo, en pacientes que tenían antecedentes de TA sintomática previa y que actualmente estaban asintomáticos.

Análisis estadístico: Los resultados de avidéz de IgG de los casos de TA se compararon con los de TC mediante un test no paramétrico de Wilcoxon. Se consideró significativo un valor $p < 0,05$.

Resultados

Para cada muestra se analizó la presencia de IgM, la concentración de IgG y frente a muestras con IgG positiva se determinó la avidéz de IgG.

Técnicas tradicionales. En 100% de las 35 muestras estudiadas se evidenció presencia de IgG, tanto en pacientes con TA (n: 14) como con TC (n: 21). 25 pacientes tuvieron IgM positiva, correspondiendo a 100% de las TA (14/14) y a 52 % (11/21) de las TC (Tabla 1 y Figura 1).

En los casos de TA las concentraciones de IgG fluctuaban entre 28 y 7.184 UI/mL, distribuyéndose 35,7% (5/14) con menos de 300 UI/mL, 7,1% (1/14) entre 300 y 700 UI/mL, y 57,1% con más de 700 UI/mL (8/14) (Tabla 2).

En los casos de TC, las concentraciones de IgG fueron menores a 300 UI/mL en 42,8% (9/21), entre 300-700 UI/mL en 14,2% (3/21) y mayores de 700 UI/mL en 42,8% (Tabla 3).

Avidéz de IgG. La avidéz de IgG permitió discriminar, en 100% de los casos, si se trataba de TA o TC. En esta serie se observó un caso de TA con 59 UI/mL de IgG con avidéz débil, y un caso de TC con IgG de 5.009 UI/mL con avidéz fuerte, en este último caso se encontró negativa la IgM.

De acuerdo a la distribución de los resultados según el índice de avidéz, considerando el punto de corte propuesto por el fabricante -0,3- se puede señalar que los pacientes con TA se distribuyen con una mediana de 0,1040 IC 95%; 0,0383-0,0143 y los pacientes con TC presentan una mediana de 0,5500 con IC 95%; 0,4874-0,5680. Test de Wilcoxon (no paramétrico) $p < 0,00001$ (Figura 2).



Tabla 1. Antecedentes clínicos y diagnósticos de los 14 pacientes con toxoplasmosis aguda (TA) y de los 11 pacientes con toxoplasmosis crónica (TC) que presentaron IgM positiva

Sexo	Edad (años)	IgM <i>T. gondii</i> (RFV)	IgG <i>T. gondii</i> (UI/mL)	Antecedentes	Diagnóstico
F	30	3,36	996	Adenopatías sin compromiso ocular	TA
F	41	3,84	28	Síndrome mononucleósico	TA
M	16	1,36	166	Síndrome mononucleósico	TA
F	47	4,39	505	Síndrome febril prolongado	TA
F	25	1,48	59	Síndrome mononucleósico	TA
M	37	3,08	7.184	Síndrome mononucleósico	TA
F	23	4,38	759		TA
F	38	8,43	237		TA
M	34	6,17	968	Síndrome mononucleósico	TA
F	45	7,62	1.212	Síndrome mononucleósico	TA
F	44	4,31	182	Síndrome mononucleósico	TA
F	28	1,82	1.596	Síndrome mononucleósico	TA
F	22	2,5	2.427	Poliadenopatías	TA
M	RN	5,96	2.595	Síndrome TORCH	TA
F	28	1,1	85	Embarazo con antecedente de aborto	TC
F	24	0,69	510	Antecedente de toxoplasmosis	TC
F	57	2,25	1.014	Antecedente de toxoplasmosis	TC
M	21	1,2	700	Antecedente de toxoplasmosis	TC
F	32	1,3	1.404	Antecedente de toxoplasmosis	TC
M	59	1,54	4.883	Antecedente de toxoplasmosis	TC
F	41	1,93	1.235	Antecedente de toxoplasmosis	TC
F	30	0,73	152	Tamizaje por embarazo	TC
M	20	1,37	2.916	Enfermedad por arañazo de gato, antecedentes de serología positiva para <i>T. gondii</i>	TC
F	54	1,41	85	Bloqueo completo de rama derecha	TC
F	43	0,72	643	Secuelas oculares	TC

IgM RFV (Valor de fluorescencia relativa) negativo: < 0,55; dudoso: 0,55-0,65; positivo > 0,65.
IgG UI/mL (Unidades Internacionales) negativo < 4; 4-8: dudoso; > 8 positivo.

Tabla 2. Distribución de la avidéz de IgG en 14 casos de toxoplasmosis aguda versus presencia de IgM y concentración de IgG

Resultados IgM (RFV)	Avidéz		
	Fuerte	Intermedia	Débil
IgM positiva	-	1	13
IgM negativa	-	-	-

Resultados IgG (UI/mL)	Avidéz		
	Fuerte	Intermedia	Débil
IgG < 300	-	-	5
IgG 300-700	-	-	1
IgG > 700	-	1	7

RFV (Valor de Fluorescencia Relativa)

Tabla 3. Distribución de la avidéz de IgG en los 21 casos de toxoplasmosis crónica versus presencia de IgM y concentración de IgG

Resultados IgM (RFV)	Avidéz		
	Fuerte	Intermedia	Débil
IgM positiva	11	-	-
IgM negativa	10	-	-

Resultados IgG (UI/mL)	Avidéz		
	Fuerte	Intermedia	Débil
IgG < 300	9	-	-
IgG 300-700	3	-	-
IgG > 700	9	-	-

RFV (Valor de Fluorescencia Relativa)

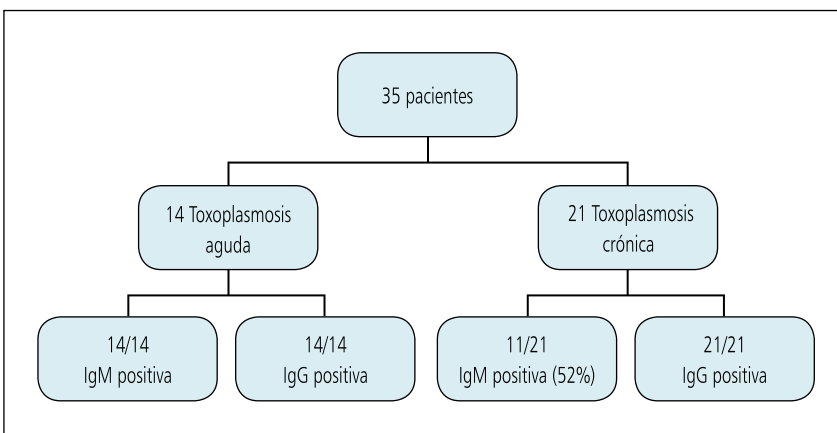


Figura 1. Resultados de IgM e IgG anti *Toxoplasma gondii* en los 35 pacientes según cuadro clínico.

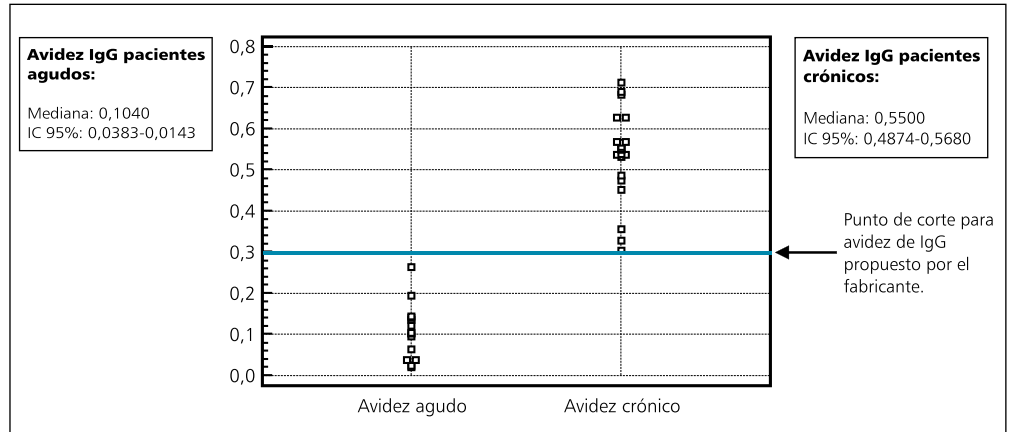


Figura 2. Distribución de la avidéz de IgG en pacientes con toxoplasmosis aguda versus toxoplasmosis crónica.

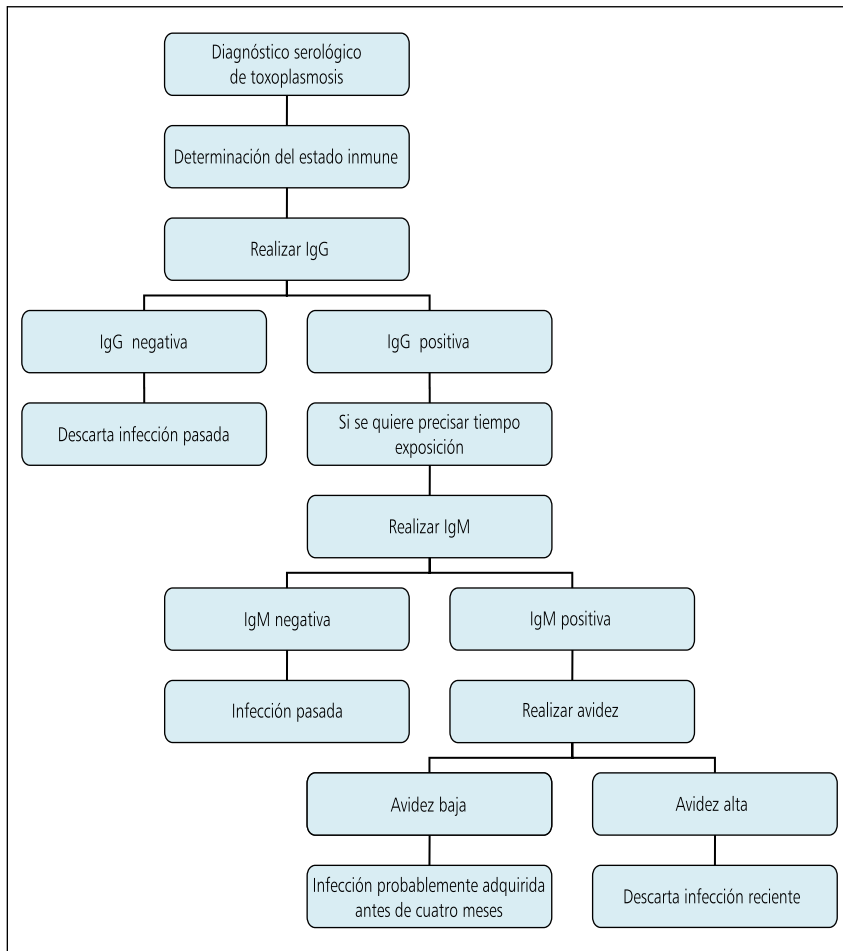


Figura 3. Algoritmo propuesto para la interpretación de los tests serológicos de toxoplasmosis en el caso de determinación del estado inmune.

Discusión

Considerando la importancia de contar con diagnósticos rápidos y oportunos de TA, los resultados de este estudio apoyan la utilización del test de avidéz de IgG como aporte al diagnóstico clínico, teniendo una excelente concordancia con los resultados de tests tradicionales (IgG + IgM), en la discriminación de fase aguda.

La avidéz de IgG presenta valores significativamente más bajos en TA versus TC ($p < 0,00001$). Un resultado de avidéz fuerte (índice $> 0,3$) permitiría descartar una infección reciente (< 4 meses) con bastante confiabilidad. El análisis de los resultados siempre debe ser evaluado a la luz de la clínica y de los test serológicos de apoyo, como se propone en el algoritmo (Figura 3 y 4) siguiendo las recomendaciones del CDC de Atlanta¹⁹.

Contreras y cols, el año 2000 realizó un estudio en Chile con un test de avidéz no comercial con antígenos autóctonos de *T. gondii*, demostrando su utilidad en el diagnóstico confirmatorio de TA¹³. El contar con un test disponible comercialmente que es operador independiente favorece una implementación rápida de la técnica ofreciendo ciertos estándares de calidad en laboratorios de menor tamaño.

En Francia, la tasa de infección durante el embarazo varía desde 6,1 a 7,2 por 1.000 según la edad de la mujer embarazada y aproximadamente 300 recién nacidos nacen con toxoplasmosis congénita por año²⁰. Considerando que en Chile la toxoplasmosis es una zoonosis prevalente, y que la población de mujeres embarazadas se encuentra en riesgo de tener primoinfección, es necesario contar con técnicas adecuadas para realizar un diagnóstico oportuno.

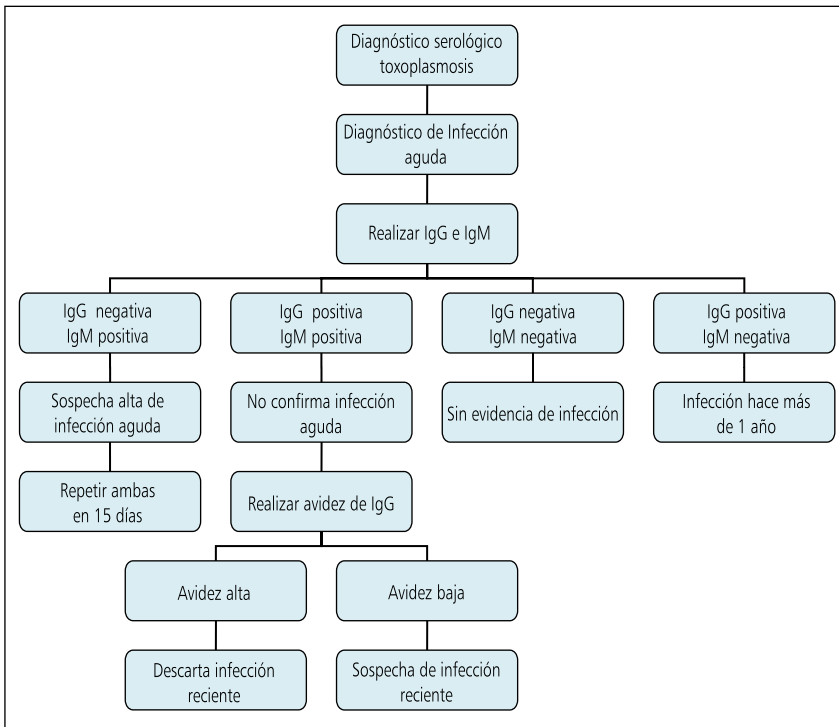


Figura 4. Algoritmo propuesto para el diagnóstico de infección aguda.

Resumen

Introducción: Toxoplasmosis (T) es una infección parasitaria crónica importante en pacientes inmunocomprometidos y mujeres embarazadas. Es relevante discriminar entre fase aguda (TA) y fase crónica (TC). Su diagnóstico es serológico en inmunocompetentes (detección de IgG e IgM). **Objetivo:** Evaluar la utilidad del test de avidéz IgG (A-IgG) para identificar la fase aguda y o crónica. Avidéz es la fuerza de afinidad entre una inmunoglobulina específica y el epítipo de la proteína antigénica del agente infectante, afinidad que aumenta con el tiempo. **Pacientes y Métodos:** Se usó un test cualitativo que mide la avidéz de IgG, discriminando las dos fases. A 35 pacientes con diagnóstico clínico de TA y o TC, se les realizó IgG, IgM e A-IgG en Equipo VIDAS®. **Resultados:** Los pacientes con TA fueron positivos para IgM e IgG y presentaron avidéz débil. Los 21 casos con TC 52% (n: 11) tuvieron IgM positivo y 100% (n: 21) tuvo IgG positiva con avidéz fuerte. **Discusión:** Los resultados confirman que el test de A-IgG puede ser de gran utilidad en el diagnóstico de TA, concordancia: 100 % con test de referencia (IgM cualitativa + IgG cuantitativa). El resultado está disponible en menos de 24 hrs, pudiendo ser útil en el diagnóstico de TA en mujeres embarazadas.

Referencias

- Contreras M, Schenone H, Salinas P. Seroepidemiology of human toxoplasmosis in Chile. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1996; 38 (6): 431-5.
- McCabe R E, Brooks R G, Dorfman R F, Remington J S. Clinical spectrum in 107 cases of toxoplasmic lymphadenopathy Rev Infect Dis 1987; 9 (4): 754-74.
- McLeod R, Kieffer F, Sautter M, Hosten T, Pelloux H. Why prevent, diagnose and treat congenital toxoplasmosis? Mem Inst Oswaldo Cruz 2009; 104 (2): 320-44.
- Montoya J G. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis. J Infect Dis 2002; 185 (Suppl 1): S73-82.
- Pinon J M, Dumon H, Chemla C, Franck J, Petersen E, Lebech M, et al. Strategy for diagnosis of congenital toxoplasmosis: evaluation of methods comparing mothers and newborns and standard methods for postnatal detection of immunoglobulin G, M, and A antibodies. J Clin Microbiol 2001; 39: 2267-71.
- Bobic B, Sibalic D, Djurkovic-Djakovic O. High levels of IgM antibodies specific for *Toxoplasma gondii* in pregnancy 12 years after primary toxoplasma infection. Gynecol Obstet Invest 1991; 31:182-4.
- Liesenfeld O, Press C, Montoya J G, Gill R, Isaac-Renton J L, Hedman K, et al. False-positive results in immunoglobulin M (IgM) toxoplasma antibody tests and importance of confirmatory testing: the Platelia Toxo IgM test. J Clin Microbiol 1997; 35: 174-78.
- Desmonts G, Naot Y, Remington J S. Immunoglobulin M-immunosorbent agglutination assay for diagnosis of infectious diseases: diagnosis of acute congenital and acquired *Toxoplasma* infections. J Clin Microbiol 1981; 14: 486-91.
- Liesenfeld O, Montoya J G, Tathinen N J, Davis M, Brown B W Jr, Cobb K L, et al. Confirmatory serologic testing for acute toxoplasmosis and rate of induced abortions among women reported to have positive *Toxoplasma* immunoglobulin M antibody titers. Am J Obstet Gynecol 2001; 184: 140-5.
- Liesenfeld O, Press C, Flanders R, Ramirez R, Remington J S. Study of Abbott Toxo IMx system for detection of immunoglobulin G and immunoglobulin M *Toxoplasma* antibodies: value of confirmatory testing for diagnosis of acute toxoplasmosis. J Clin Microbiol 1996; 34: 2526-30.
- Wilson M, Remington J S, Clavet C, Varney G, Press C, Ware D. Evaluation of six commercial kits for detection of human immunoglobulin M antibodies to *Toxoplasma gondii*. J Clin Microbiol 1997; 35: 3112-15.
- Hedman K, Lappalainen M, Seppala I, Makela O. Recent primary *Toxoplasma* infection indicated by a low avidity of specific IgG. J Infect Dis 1989; 159: 736-39.
- Contreras M, Sandoval L, Salinas P. Utilidad diagnóstica de ELISA IgG, IgM, IgA y ELISA avidéz de IgG en toxoplasmosis reciente y crónica. Bol. Chile. Parasitol 2000; 55: 16-24.
- Jenum P A, Stray-Pedersen B, Gundersen A-G. Improved diagnosis of primary *Toxoplasma gondii* infection in early pregnancy by determination of antitoxoplasma immunoglobulin G activity. J Clin Microbiol 1997; 35: 1972-77.
- Lappalainen M, Koskela P, Koskiniemi M, Ammälä P, Hiilesmaa V, Teramo K, et al. Toxoplasmosis acquired during pregnancy: improved serodiagnosis based on avidity of IgG. J Infect Dis 1993; 167: 691-7.
- Liesenfeld O, Montoya J G, Kinney S, Press C, Remington J S. Effect of testing for IgG avidity in the diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women: experience in a US reference laboratory. J Infect Dis 2001; 183: 1248-53.
- Montoya J G, Liesenfeld O, Kinney S, Press C, Remington J S. VIDAS test for avidity of *Toxoplasma*-specific immunoglobulin G for



- confirmatory testing of pregnant women. J Clin Microbiol 2002; 40: 2504-08.
- 18.- Pelloux H, Brun E, Vernet G. Determination of anti-*Toxoplasma gondii* immunoglobulin G avidity: adaptation to the VIDAS system (bioMérieux). Diagn Microbiol Infect Dis 1998; 32 (2): 69-73.
- 19.- Toxoplasmosis, Antibody detection <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Toxoplasmosis.htm>
- 20.- Roberts A, Hedman K, Luyasu V, Zufferey J, Bessières M H, Blatz R M, et al. Multicenter evaluation of strategies for serodiagnosis of primary infection with *Toxoplasma gondii*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2001; 20: 467-74.