

# Contribución del laboratorio al diagnóstico de la toxoplasmosis su importancia en algunas miocardiopatías

Dres. HECTOR E. GAMMAROTA, CARLOS CASTRO y JEAN J. AON

Servicio de Cardiología del Hospital T. de Alvear, Buenos Aires. Jefe: Prof. Dr. León de Soldati

## RESUMEN

*Se estudia la importancia de la toxoplasmosis como posible factor etiológico de las miocardiopatías. Se relatan los hallazgos histológicos y humorales de diversos autores en pacientes con toxoplasmosis a localización miocárdica. Se informa sobre un caso de miocarditis con altos títulos para la reacción de inmunofluorescencia para toxoplasmosis y con evidente mejoría clínica y electrocardiográfica, después del tratamiento específico insituído. Se describen las distintas técnicas de laboratorio para el estudio de esta parasitosis. Se concluye que en todo paciente con signos clínicos, radiográficos y electrocardiográficos de miocarditis y cuya etiología permanezca obscura, debe efectuarse el estudio humoral dirigido hacia la búsqueda de toxoplasmosis.*

La toxoplasmosis congénita configura un cuadro por lo general muy grave ya bien conocido por los pediatras. En la mayoría de los casos, las madres de estos niños no son diagnosticadas como de padecer dicha parasitosis, si bien la infección se transmite de la madre al hijo; es decir, que frecuentemente se hace el diagnóstico de toxoplasmosis en la madre recién cuando nace un niño enfermo (1). Hakilla (2) anunció que la toxoplasmosis es más frecuente en la forma congénita que en la adquirida. El autor no se refería a la frecuencia de la enfermedad sino a la frecuencia de su diagnóstico. Si bien el diagnóstico de toxoplasmosis adquirida es difícil, debido a su gran poliforfismo, no se la diagnostica más frecuentemente, debido a que no se piensa en ella, y, porque hasta no hace mucho tiempo, carecíamos de un medio de laboratorio a nuestro alcance, para confirmar su presunción diagnóstica.

En los últimos años se han presentado una serie de publicaciones, en las cuales se destaca, que la autopsia realizada en sujetos muertos accidentalmente (3) o por diversas enfermedades, revelaba la

existencia del parásito en los tejidos, frecuentemente el cardíaco. También se observa un alto grado de parasitemia miocárdica en los niños fallecidos por toxoplasmosis congénita (4, 5).

El toxoplasma gondi manifiesta una especial afinidad por los tejidos muscular y nervioso.

Bengtsson en 1950 (6) relata el caso de una infección toxoplasmática a forma cardíaca grave, adquirida en un laboratorio, en una persona que manipulaba toxoplasmas, en cuya autopsia se comprobó la presencia del toxoplasma en el miocardio.

Cathis, en 1955 (7) relata un caso de miocarditis por toxoplasma. El diagnóstico se efectuó en vida, por las reacciones serológicas. En este paciente, después de fallecido, el lisado de corazón fue inyectado en la cavidad peritoneal del ratón, donde desarrolló toxoplasma gondi a los diez días de inoculado.

Paulley y colab. en 1956 (8) estudiaron cuatro pacientes y a varios miembros de la familia de éstos, desde el punto de vista serológico y clínico, y encontraron alteraciones electrocardiográficas y radiográficas en algunos miembros estudiados de estas familias, los que también presentaban serología positiva para toxoplasmosis. Paulley aconseja que se debería excluir la toxoplasmosis en las formas de miocarditis en las cuales la patogenia es oscura, y también buscarla en todos los casos de cardiomegalia familiar e hipertrofia idiopática. En todos estos casos, el estudio clínico debe hacerse lo más completo posible, incluyendo las reacciones serológicas específicas para toxoplasmosis; además de realizar una buena anamnesis familiar, tratando de pesquisar los posibles portadores. En caso de fallecimiento se debe proceder a la inoculación del lisado del músculo cardíaco en la cavidad peritoneal del ratón a fin

de que desarrolle el toxoplasma y así documentar los casos.

Posteriormente se han desarrollado trabajos como los de Hakkila y colab. en Finlandia en 1958 (2); Vukasovic y colab. en Chile en 1963 (9); Jones en EE.UU. en 1965 (10) y otros autores como Thalhamer en Alemania, refiriéndose a la toxoplasmosis en forma cardíaca. Todos estos autores sostienen la necesidad de su estudio como causa de miocarditis. Por su parte Guimaraes observó en Brasil, pericarditis y miocarditis causada por el toxoplasma, diagnóstico hecho en la autopsia.

Vukasovic de Chile y Paulley de Inglaterra, comparan las manifestaciones de esta enfermedad con las encontradas en la enfermedad de Chagas. Entre nosotros el Dr. Jean Aón estudió un caso en el cual el estudio clínico, radiológico y electrocardiográfico, sustentaban el diagnóstico de miocarditis. Las reacciones de Machado Guerreiro y de inmunofluorescencia para Chagas resultaron negativas; en cambio la reacción de desviación de complemento de Fulton resultó positiva (1:32) como así también la reacción de inmunofluorescencia para toxoplasmosis (1:2048).

Instituido el tratamiento específico con Daraprin y triple sulfa el paciente mejoró notablemente.

Por todo lo expuesto, tuvimos la inquietud de traer a este congreso la puesta en actualidad de los métodos de laboratorio para el estudio de la toxoplasmosis, el alcance de cada uno de ellos y la forma en que deben interpretarse en cuanto al momento de la enfermedad y respuesta al tratamiento.

La toxoplasmosis es una enfermedad endémica originada por el toxoplasma gondii.

Se piensa que la puerta de entrada al huésped es boca y nariz (2), sugiriéndose como vías de infección, la contaminación por excrecencias eliminadas, tos y estornudo, lactancia, ingestión de alimentos y aguas contaminadas, ingestión de carnes no bien cocidas. También se sospecha la inoculación por agentes transmisores, como pulgas, mosquitos y moscas y por la solución de continuidad de mucosas y piel.

Es una parasitosis endémica. Las reacciones serológicas positivas, a bajo título, se detectan en el 80 % de la población clínicamente sana de Alemania, en

el 83 % de Francia, en el 62 % de la Argentina (11).

La virulencia del parásito es mayor cuando se efectúan repiques, esto es, el paso de la cepa de un organismo a otro. Es por esto que la toxoplasmosis adquirida por el manipuleo de toxoplasmas en el laboratorio es muy grave, casi siempre mortal. También es por esto que la toxoplasmosis congénita es muy grave, considerándose la infección del niño como un repique de la cepa de la madre.

El toxoplasma se encuentra en el huésped en dos formas: a) forma libre, que es la que se encuentra en las células endoteliales y en los líquidos de derrame; y b) forma quística, que es la encontrada en los parénquimas rodeados por una membrana que los aíslan por completo y que no producen reacciones en el tejido circundante mientras que la membrana se encuentre intacta.

En la agresión del germen al huésped, se reconocen esquemáticamente tres etapas: 1) *primo infección*: puede presentarse con sintomatología muy atenuada o manifiesta, constituida por cansancio, febrícula, dolores osteoarticulares, tumefacción de grupos ganglionares, generalmente cervicales; 2) período de *diseminación*: en el que puede encontrarse hepato-esplenomegalia o signos radiológicos de neumonitis intersticial; 3) período de *localización*: en este período las manifestaciones de la enfermedad dependen del parénquima que se encuentre mayormente afectado, ocasionando manifestaciones neurológicas, cardíacas, linfáticas, musculares, uterinas, hepato-esplenomegálica, hemorrágicas, oculares.

Todas estas formas varían ampliamente en cuanto a la intensidad de sus síntomas, pudiendo encontrarse en cada una de ellas cuadros graves que conducen al óbito o formas muy ligeras que pasan inadvertidas.

Entre una y otra es posible una variadísima gama. Todo cuadro febricular prolongado con linfomonocitosis, que pueden simular una mononucleosis infecciosa, acompañado de ligera eosinofilia con formas juveniles, nos obligarán a excluir la presencia de una infección por toxoplasmosis.

Ya hemos comentado que existe una especial afinidad de este parásito por los tejidos muscular y nervioso.

Las formas más graves de la toxoplasmosis adquirida son las encefalomenín-



geas y las cardíacas, siendo las más benignas las formas ganglionares (12).

Es interesante destacar la relativa frecuencia de uveítis toxoplasmósica encontrada, dato que es de utilidad como antecedente en aquellos casos en que el paciente desarrolla una cardiopatía (12, 13).

De las toxoplasmosis que afectan el tejido muscular, la localización uterina ha sido la más estudiada y diagnosticada debido a los abortos que ocasiona. Toda mujer en edad de gestar, con toxoplasmosis de endometrio activa no logra embarazarse. Si la infección o reactivación de un foco latente se produce en los primeros meses de embarazo, la mujer aborta. Si esta infección o reactivación se produce después del tercer o cuarto mes, el niño nace con el gravísimo cuadro de toxoplasmosis congénita, con hidrocefalía, meningoencefalitis, calcificaciones cerebrales, etc., cuadro bien conocido por los pediatras (14, 16).

Otra forma de toxoplasmosis que afecta al músculo, es la miocárdica. Esta forma ha sido muy bien descrita por Bengtsson (6), en un desgraciado accidente de contaminación en una mujer que trabajaba en el laboratorio, la cual desarrolló una miocarditis por toxoplasmosis, mostrando ya a la semana de la infección, alteraciones electrocardiográficas con signos de daño miocárdico, que se hicieron más pronunciados a la segunda y tercera semana. Los cambios electrocardiográficos fueron acompañados de marcados síntomas, como dolores anginosos y precordialgias, opresión, ansiedad y disnea, los cuales aunque disminuyeron se mantuvieron presentes durante seis meses después del comienzo de la afección. En este caso se encontró en la autopsia la presencia del parásito en las fibras miocárdicas.

Desde la observación de Pinkerton y Weinman en 1940 (4), quienes descubrieron el primer caso de toxoplasmosis adquirida, la bibliografía acerca de esta forma de infección se ha multiplicado en los últimos años. Siim de Dinamarca, tiene una casuística de más de cien casos.

Ultimamente se ha tratado de llamar la atención sobre la posible patogenia de la toxoplasmosis en diversas formas de miocarditis y pericarditis, habiéndose observado que las alteraciones encontradas en la autopsia de los pacientes con toxoplasmosis, ya sea a forma predominantemen-

te cardíaca o no, se manifestaban en el miocardio como: en ciertas zonas se presentan grandes agregados de toxoplasmas, en número de 15 a 150 pero sin observarse reacciones en el tejido que los rodea, mientras que en otras zonas se localizan focos de infiltración de linfocitos, células plasmáticas, monocelulares y ocasionalmente eosinófilos. En estos focos, por lo general, no se encuentran parásitos. Se ha observado también necrosis focal. Esta descripción anatómo patológica, corresponde al trabajo efectuado por Callahan y colaboradores (5), Vukasovic en 1963 (9) postuló que la aparición de los focos inflamatorios en el miocardio puede deberse ya sea a la agresión directa del parásito, como así también a la puesta en marcha de los factores inmunológicos, inducidos por la presencia del parásito en el organismo, determinando así la producción de autoanticuerpos. El órgano de choque sería, en estos casos, el miocardio.

Por su parte, Macchi en 1969 (7) publica que la hipertrofia cardíaca en exploraciones de rutina, sobre todo en niños, debería sugerir, a falta de otras alteraciones objetivables, el padecimiento de toxoplasmosis.

Pasaremos revista a los medios de que dispone el laboratorio para el diagnóstico de esta infección (18, 19).

Reacción de Sabin y Feldman (20): se funda en el hecho de que cuando se pone en contacto suero humano que contenga anticuerpos específicos con toxoplasmas vivos extracelulares y, en presencia de un factor termolábil, denominado factor accesorio, se produce la alteración de la membrana del toxoplasma y su muerte. El azul de metileno tiñe sólo a los toxoplasmas vivos y no a los muertos: por lo tanto, más del 50 % de toxoplasmas coloreados indican reacción negativa (21).

Esta reacción, aparentemente simple, presenta los siguientes inconvenientes: a) trabaja con toxoplasmas vivos, lo cual es riesgoso; b) el factor accesorio se obtiene de ciertos sueros humanos normales; es decir que se hace necesario buscar a las personas que lo posean, lo que a veces es difícil de lograr. Este factor es termolábil lo que hace difícil su conservación.

Sus resultados son específicos. La reacción comienza a ser positiva alrededor del 10º al 14º día del comienzo de la

enfermedad; sus valores permanecen elevados durante seis meses aproximadamente y luego van disminuyendo sin negativizarse del todo, de tal modo que se obtendrán títulos residuales bajos hasta la muerte del huésped, del orden de 1:16 a 1:64.

Reacción de Fijación del complemento (22, 23): esta reacción se efectúa de acuerdo a la técnica de Fulton y colaboradores.

La reacción se hace positiva entre el 1º y el 2º mes de la infección, y en la mayoría de los casos se negativiza entre los 6 y los 12 meses. La reacción permite determinar el período activo de la enfermedad.

Reacción de Hemoaglutinación de Jacob y Lunde (24): esta reacción demuestra la presencia de anticuerpos específicos al toxoplasma por medio de glóbulos rojos de carnero tanizados y sensibilizados para el toxoplasma. Se consideran positivos títulos mayores de 1:64.

La reacción corre más o menos paralela en su aparición y comportamiento a la reacción de Sabin y a la de los anticuerpos fluorescentes, ya que se hace positiva a las dos semanas de la infección, presentando también niveles residuales.

Intradermo-reacción a la toxoplasmina (11): introducida por Frenkel en 1948. es una reacción de tipo alérgico comparable a la prueba de la tuberculina. Se efectúa mediante la inyección intradérmica de 0,1 ml de toxoplasmina y se considera positiva cuando existe una induración de 1 cm al cabo de 36 a 48 horas.

La reacción no permite extraer conclusiones cuantitativas, sólo tiene valor cualitativo; sólo indica si el individuo ha estado o no en contacto con el toxoplasma gondii. Por sí sola, no indica toxoplasmosis activa. Se hace positiva aproximadamente a la tercera semana de la infección.

Reacción de los anticuerpos fluorescentes (19, 25, 27): este método es el que actualmente usan en el Centro de Enfermedades Transmisibles de Atlanta los Dres. Sulzer y Kagan como el más selectivo y que uno de nosotros —el Dr. Camarota— tuvo oportunidad de practicar con dichos investigadores durante su estadía en Atlanta en 1968. Las reacciones basadas en la determinación de los anticuerpos fluorescentes, son en este momento, aplicables al diagnóstico de aquellas enfermedades en que existe la for-

mación de anticuerpos, no solamente dirigidos contra algún antígeno infeccioso, como las enfermedades transmisibles (toxoplasmosis, sífilis, paludismo, Chagas, amebiasis etc.), sino también en aquellas que producen autoanticuerpos como son las hoy denominadas enfermedades por autoagresión (lupus, artritis reumatoidea, etcétera).

Los elementos que intervienen en esta reacción son: a) antígeno, que es el toxoplasma gondii, el que cultiva en la cavidad peritoneal del ratón, efectuándose reinoculaciones sucesivas de un ratón a otro cada tres o cuatro días para conservar la cepa; b) globulina anti-humana que por lo general se obtiene de la inoculación al conejo, de suero humano y que luego es marcada con isocianato de fluoresceína; c) anticuerpos presentes en el suero del paciente, si es que éste padece o si ha padecido de toxoplasmosis. Los sueros positivos mantienen indefinidamente sus títulos, si se los conservan a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Interpretación de la reacción: los títulos de 1:16 a 1:64 indican únicamente una exposición pasada al toxoplasma o también, una infección temprana, cuando éstos recién comienzan a elevarse. Títulos de 1:256 por lo general indican exposición relativamente reciente; el clínico deb estar alerta. Títulos de 1:1024 son muy significativos. Se deberá pensar en una toxoplasmosis en actividad y prevenir ulteriores consecuencias. Un solo título no da una información acabada sobre el estado inmunológico del paciente; títulos cambiantes dan una información más significativa.

Actualmente se prefiere el método de los anticuerpos fluorescentes dado que: a) no se trabaja con cepa virulenta viva y por lo tanto no existe peligro de contaminación; b) las preparaciones del antígeno pueden conservarse hasta seis meses a  $-20^{\circ}\text{C}$ ; c) sus resultados son específicos altamente comparables con la reacción de Sabin-Feldman; d) este método no requiere la presencia del factor accesorio que a veces es tan difícil de conseguir y de conservar.

Siguiendo el orden cronológico en que éstas reacciones se hacen positivas, observamos que:

Ya a la segunda semana de la infección se hacen positivas las reacciones de Sabin-Feldman, la de Hemoaglutinación



y el "Test" de los Anticuerpos fluorescentes.

Las reacciones de desviación del complemento y la intradermo, serán todavía negativas.

Entre la tercera y la cuarta semana de evolución, todas las reacciones serán positivas.

Entre los 6 y los 12 meses se producirá la negativización de la reacción de desviación del complemento, persistiendo las demás con títulos residuales.

Títulos positivos para la reacción de desviación del complemento, con títulos bajos para las otras reacciones, indican infección aguda por toxoplasmosis.

Los títulos disminuyen con la mejoría del proceso, lo que puede seguirse con la curva de valores de los anticuerpos. Esta disminución no es de ninguna manera inmediata, pues aunque se presente la mejoría clínica, los títulos pueden permanecer estables por algún tiempo, variable según los pacientes, dado que la formación de anticuerpos no es sino la respuesta inmunológica del organismo, respuesta cuya magnitud es distinta de un individuo a otro. La mejoría clínica no corre de tal modo, paralela con la disminución del título y es aquí, donde la clínica decidirá la continuación de un tratamiento.

Después de una terapia intensiva los títulos pueden a veces aumentar en forma significativa; este hecho se explicaría por la rotura de grandes cantidades de quistes con la consiguiente invasión masiva de productos antigénicos.

En el recién nacido, hijo de madre con infección a toxoplasma, y que ya nace con títulos altos, las determinaciones se repetirán cada 15 días.

Los títulos disminuirán hasta desaparecer entre los 6 y los 12 meses, si hubieran sido cedidos por la madre. De lo contrario, los niveles de anticuerpos aumentarán gradualmente o permanecerán estacionarios.

Algunos autores como Lizalde y Salido, aconsejan determinar los títulos en toda mujer embarazada en el primero, cuarto y último mes del embarazo.

## SUMMARY

*The importance of the toxoplasmosis as a possible cause of myocarditis is studied. They are commented the histological and humoral findings of several authors in patients with*

*toxoplasmic myocarditis. It is related a patient, which was diagnosticated as myocarditis and showed high immunofluorescent titles for toxoplasmosis. This patient improved clinical and the electrocardiogram after the specific treatment. They are described the different laboratory techniques for the parasitosis studies.*

*It is concluyed that every patient with clinical, radiography and electrocardiogram signs of myocarditis of unknown etiology, must be studied in the humoral search of the toxoplasmosis.*

## BIBLIOGRAFIA

1. Plaut, A.: The problem of human toxoplasma carriers Am. J. Pathol., 22:427-431, 1946.
2. Hakkila, J.; Frick, H.; Halonen, P. I.: Pericarditis and myocarditis caused by toxoplasma. Report of a case and review of the literature. Am. Heart J., 55:758-765, 1958.
3. Kean, B. H.; Grocott, R. G.: Asymptomatic toxoplasmosis. Am. J. Trop. Med., 27:745, 1947.
4. Pinkerton, H.; Weinman, D.: Toxoplasma infection in man. Archives of pathology (Chicago) 30:374, 1940.
5. Callahan, W. P.; Russell, W. O.; Smith, M. G.: Human Toxoplasmosis: a clinico pathologic study with presentation of five cases and review of tht literature. Medicine, 25:343-393, 1946.
6. Bengtsson, E.: Herzaffektion bei Toxoplasmosis. Cardiología (Basel), 17:289-295, 1950.
7. Cathie, J. A. B.: Myocardial toxoplasmosis. Lancet, 149, 1955.
8. Paulley, J. W.; Jones, R.; Green, W.; Kane, E. P.: Myocardial Toxoplasmosis. Brit. Heart J., 18:55-63, 1956.
9. Vukasovic, J.; Arribada, A.; Niedmann, G.; Thiermann, E.: Miocardiopatía por Toxoplasma gondi. Bol. Chileno de Parasit., 18:40-62, 1963.
- 10 Jones, T. C.; Kean, B. H.; Kimball, A. C.: Pericarditis associated with toxoplasmosis. Ann. of Intern. Medic., 62: N° 4, 786-790, 1965.
11. Hirt, J.: Criterio para la aplicación o interpretación de las reacciones serológicas en el diagnóstico de la toxoplasmosis. La Prensa Médica Arg., 52:1675-1679, 1965.
12. Jones, T. C.; Kean, B. H.; Kimball, A. C.: Toxoplasmic Lymphadenitis. J. of the Am. Mtd. Assoc., 192:1-5, 1965.
13. Palermo, F.; Klein, A.: Toxoplasmosis óculo-pulmonar. Rev. Asoc. Méd. Arg., 81:67-70, 1967.
14. Contreras, J. S.; Camacho, J. K.; Méndoz, E. M.: La toxoplasmosis como factor de infertilidad. Ginecol. obst. Mex., 25: 539, 1969.
15. Minoprio, J. L.; Murua, F.; Haedo, J.; Peiretti, J.: Toxoplasmosis en Mendoza y consideraciones generales. La Prensa Médica Arg., 55-1622-1628, 1968.
16. Lizalde, F.; Olmedo Salido, R.: Toxoplasmosis congénita. Prensa Universitaria, N° 277:5065-5070, 1969.

17. Macchi, V.: *Cardiopatía toxoplasmosica: studio clinico ad emodinamico*. *Minerva Med.*, 59:3868, 1969.
18. Eichenwald, H. F.: The laboratory diagnosis of toxoplasmosis. *Ann. of the N. York Acad. Science*, 64:207-211, 1956.
19. Cammarota, H. E.: Toxoplasmosis. Su diagnóstico serológico por la reacción de Inmunofluorescencia. *La Semana Médica*, 137:1479-1485, 1970.
20. Sabin, A. B.; Feldman, H.: Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affeting a protozoan parasite (toxoplasma). *Science*, 108:660-663, 1948.
21. Sulzer, A. J.; Leaverton, P. E.; Gogel, R. H.: Comparisen of Reactions of Human Antisera in the Methylene Blue Dye Test for Toxoplasmosis using bioassay procedures. *Exp. Parasitology*, 20:1-8, 1967.
22. Coonoy, M. K.; Kimball, A. C.; Bauer, H.: Studies en Toxoplasmosis. Complement fixation test with peritoneal exudate antigen. *J. Immunology*, 81:177-186, 1958.
23. Fulton, J. De; Fulton, F.: Complement fixation test in toxoplasmosis with purified antigen. *Nature*, 205: 776-780, 1965.
24. Saavedra, P.; Knierim, F.: Técnica de la Reacción de Hemaglutinación. Aplicada al Diagnóstico Serológico de las Parasitosis. *Boletín Chileno de Parasitología*. Vol. XXI Nº 2, 39-44, Abril-Junio 1966.
25. Fletcher, S.: Indirect fluorescent antibody technique in the serology of toxoplasma gondii. *J. Clin. Pathology*, 18:193-199, 1968.
26. Sulzer, A. J.; Hall, E. C.: Indirect fluorescent antibody test for parasitic diseases. IV Statisfical of variation in the Indirect fluorescent antibody (IFA) test for Toxoplasmosis. *Am. J. Epid.*, 86:401-407, 1967.
27. Walton, B. C.; Bencheff, B. M.; Brooks, W. H.: Comparison of the indirect fluorescent antibody test and the methylene blue dye for detection of antibodies to *Toxoplasma gondii*. *Am. J. Trop. Med.*, 15:149-153, 1966.

