

Validación de pruebas ELISA IgM anti-*Toxoplasma* para uso en programas de tamización en recién nacidos

Validation of anti-*Toxoplasma* IgM ELISA tests in newborn screening programs

Elizabeth Torres¹, Elkin Osorio², Lilian Núñez², Leonor Chacón³, María Eugenia Castaño⁴, Raúl Rivera¹, María Luisa Ramírez⁵, Jorge Enrique Gómez-Marín¹

Resumen

Objetivos. Evaluar y determinar el punto de corte para la detección de IgM anti-*Toxoplasma* por el método ELISA, en muestras de sangre de cordón umbilical, mediante dos ensayos comerciales diferentes, y correlacionar los resultados obtenidos con el diagnóstico de toxoplasmosis congénita realizado por seguimiento serológico y los datos clínicos.

Métodos. Se evaluó la prueba IgM anti-*Toxoplasma* ELISA de Vircell®, frente a los resultados por Western blot e IgM ELISA de Labsystems®. Se estudiaron 105 muestras de cordón umbilical de niños colombianos, obtenidas de seis ciudades diferentes por Western blot y seguimiento clínico y serológico en aquellos positivos. Se obtuvo una curva receptor-operador (ROC) para la prueba ELISA IgM anti-*Toxoplasma* de Vircell® y de Labsystems®. Se analizó la concordancia entre pruebas en 105 sueros obtenidos de cordón umbilical.

Resultados. El mejor desempeño para la prueba Vircell® fue con un punto de corte de índice 8 y la prueba de Labsystems® con un punto de corte de 16 inmunounidades enzimáticas. Frente al Western blot, la prueba Vircell® tuvo una sensibilidad de 100 % (IC_{95%}: 71,8-100) y una especificidad de 78 % (IC_{95%}: 69-85,7), la prueba Labsystems® tuvo una sensibilidad de 100 % (IC_{95%}: 71,8-100) y una especificidad de 100 % (IC_{95%}: 96-100). La concordancia entre ambas pruebas (Labsystems® y Vircell®) fue de 80 %, con un índice kappa de 0,45.

Conclusiones. Un punto de corte de un índice 8 para la prueba ELISA IgM anti-*Toxoplasma* de Vircell® y un punto de corte de 16 inmunounidades enzimáticas por Labsystems®, permiten identificar infecciones congénitas en sangre de cordón umbilical en niños colombianos.

Palabras claves: toxoplasmosis, IgM, tamización, recién nacidos.

Abstract

Objectives: To evaluate and validate the detection of anti-*Toxoplasma* IgM ELISA in umbilical cord blood by means of two different commercial assays and to correlate the results with the diagnosis of congenital infection in children by serological follow up and clinical data.

Materials and methods: We evaluated the commercial anti-*Toxoplasma* IgM ELISA kit[®] from Vircell (Granada, Spain) compared to the results of *Toxoplasma* IgM Western blot[®] (LDbio, Lyon, France) and IgM ELISA test[®] from Labsystems (Finland). We obtained the receptor-operator curve (ROC) for the IgM ELISA assay from Vircell and Labsystems. We studied 105 umbilical cord blood serum samples from Colombian children from six different cities by Western blot, and clinical and serological follow up for positive cases. The kappa agreement index was determined for the 105 sera obtained from umbilical cords.

Results: The Vircell assay showed a better performance with a cut-off index of 8 against a 16 for Labsystems for enzyme immunounits (EIU). When the results were evaluated against the Western blot assay, the Vircell IgM assay had a sensitivity of 100% (IC_{95%}: 71.8-100) and a specificity of 78% (IC_{95%}: 69-85.7), the IgM assay from Labsystems had a sensitivity of 100% (IC_{95%}: 71.8-100) and a specificity of 100% (IC_{95%}: 96-100). Agreement between both tests (Labsystems and Vircell) was 80% and had a kappa index of 0.45.

Conclusions: A cut-off point of 8 for the anti-*Toxoplasma* IgM ELISA assay from Vircell and 16 EIU for the Labsystems assay allow the identification of congenital infections in umbilical cord blood samples from Colombian children.

Keywords: Toxoplasmosis, diagnosis, ELISA, Western blot, ROC curve, sensitivity, specificity, newborn, umbilical cord, screening.

Introducción

Toxoplasma gondii es un parásito cosmopolita, intracelular obligado, que puede causar grandes complicaciones al feto en formación cuando la mujer adquiere una infección durante la gesta-

ción⁽¹⁾. La infección aguda en mujeres embarazadas no se evidencia en alrededor de 90 % de los casos⁽¹⁾. En general, los signos y los síntomas de infección aguda pasan desapercibidos para la mayoría de mujeres gestantes, pero las consecuencias pueden ser graves para el feto⁽¹⁾.

1 Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

2 Laboratorio de Salud Pública, Secretaría de Salud de Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

3 Laboratorio Salud Pública de Santander, Bucaramanga, Colombia

4 Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia

5 Hospital Erasmo Meoz, Cúcuta, Colombia

Recibido: 07/01/2011; Aceptado: 08/06/2011

Correspondencia: Jorge Enrique Gómez Marín, Centro de investigaciones biomédicas, Universidad del Quindío, Avenida Bolívar 12N, Armenia, Colombia, Telefax: (+57 67) 460-168.

Dirección electrónica: gepamol2@uniquindio.edu.co

Dado que un programa de detección durante el embarazo puede ser muy costoso y no se encuentra legislado en muchos países, se ha planteado que uno de tamización neonatal es una opción para detectar los casos de toxoplasmosis congénita ⁽²⁾. Entre las ventajas de un programa de tamización neonatal se encuentra que:

- I. es menos costoso que la tamización prenatal;
- II. es posible efectuar tratamiento posnatal con beneficios, y
- III. algunas madres no asisten a control prenatal (10 % de las mujeres gestantes en Colombia) y el parto es la única oportunidad para detectar estos casos.

Esta estrategia se puede hacer en conjunto con la detección de otras enfermedades metabólicas, tales como el hipotiroidismo.

Los métodos estándar para la detección de anticuerpos anti-*Toxoplasma* pueden detectar los anticuerpos IgM e IgA neosintetizados por el neonato, con la cual se puede llegar a diagnosticar hasta el 90 % de los casos ⁽³⁾. En estos programas se ha utilizado la detección de IgM e IgA en muestras de sangre tomadas al nacimiento en papel filtro o en sangre de cordón umbilical. Si se utiliza sólo IgM, se detecta hasta 75 a 80 % de los niños infectados. En Polonia se incluyó la detección de IgA, lo cual permite detectar algunos casos que no presentan IgM a pesar de tener la infección congénita ⁽⁴⁾. En Colombia se han llevado a cabo dos estudios piloto de tamización neonatal, los cuales encontraron una prevalencia de 1 caso por cada 200 recién nacidos ^(5,6).

En la mayoría de los estudios de tamización neonatal se han utilizado técnicas fluorométricas para la detección de IgM anti-*Toxoplasma* ⁽⁷⁾ y, una vez aplicadas estas técnicas en programas de tamización, se reportaron 61,5 % ⁽⁸⁾, 78,6 % ⁽⁹⁾ y 91 % ⁽¹⁰⁾ de falsos positivos. Una alta proporción de resultados falsos positivos es aceptada generalmente para las pruebas de tamización,

especialmente en poblaciones con baja prevalencia de la enfermedad. No existen reportes de validación de pruebas que determinen el punto de corte que permita detectar el mayor número de casos con las pruebas basadas en inmunoensayos (pruebas ELISA) para la detección de IgM anti-*Toxoplasma* en cordón umbilical.

Los métodos ELISA han demostrado versatilidad y son accesibles a los laboratorios de baja y mediana complejidad, y durante la planificación del estudio nacional sobre toxoplasmosis neonatal se encontró que los laboratorios participantes contaban en su mayoría con equipos para ELISA y no con equipos para fluorimetría. La estrategia de usar muestras de cordón umbilical en lugar de muestras recolectadas en papel filtro, fue tomada dado que en un estudio previo en Colombia se encontró que, de 322 muestras tomadas en papel filtro, 106 (25 %) fueron insuficientes y se debieron tomar nuevas muestras ⁽⁵⁾.

El presente trabajo tuvo como objetivos los siguientes:

1. Evaluar y determinar la sensibilidad, la especificidad y el punto de corte de mejor desempeño para la detección de IgM anti-*Toxoplasma* de las pruebas ELISA de Vircell® y de Labsystems®, para su uso en muestras de cordón umbilical. La prueba de Western blot fue utilizada como ensayo de referencia para definir la presencia o ausencia del "analito" (IgM anti-*Toxoplasma*) en la sangre de cordón umbilical ⁽¹²⁾.
2. Analizar y validar, con seguimiento clínico y serológico, el desempeño de las pruebas con respecto al desenlace de presencia o ausencia de infección congénita.

La validación con seguimiento clínico y serológico se hizo por dos razones: primero, en la toxoplasmosis congénita la presencia de IgM en el cordón umbilical puede deberse a la transferencia de sangre materna durante el parto ⁽³⁾ y, por lo tanto, no siempre indica infección congénita y

toda muestra positiva en sangre de cordón umbilical debe confirmarse con una nueva muestra tomada el día 10 de vida ⁽³⁾, y, segundo, puede ocurrir que los niños con infección congénita no tengan IgM anti-*Toxoplasma* por agotamiento *in utero*, sobre todo en infecciones ocurridas durante los primeros trimestres de embarazo ⁽³⁾.

Materiales y métodos

Definición de sueros verdaderos negativos y sueros verdaderos positivos.

Se recolectaron 105 muestras de suero de cordón umbilical durante el periodo de marzo de 2009 a marzo de 2010, en seis ciudades de Colombia, dentro del primer estudio multicéntrico colombiano de toxoplasmosis neonatal.

Se seleccionaron 12 sueros que fueron positivos por la prueba de referencia Western blot IgM anti-*Toxoplasma* de LDbio® (Lyon, Francia) y, por lo tanto, fueron los verdaderos positivos y 93 muestras consecutivas negativas por esta misma prueba y, por lo tanto, fueron los verdaderos negativos.

Estas últimas pruebas, a su vez, se dividieron en sueros positivos y sueros negativos para IgG anti-*Toxoplasma* negativo. Sólo las pruebas que fueron negativas para IgM, tanto por Western blot como por una prueba IgG anti-*Toxoplasma*, se utilizaron para calcular el punto de corte.

En todas las muestras se buscó IgG anti-*Toxoplasma* con dos estuches comerciales: Human® (Alemania) y Vircell® (España), siguiendo las recomendaciones de los fabricantes.

Prueba Western blot para IgM anti-*Toxoplasma*.

Se utilizó la prueba comercial de LDBio® (Lyon, Francia) previamente validada para detección de IgM anti-*Toxoplasma* en sangre de cordón umbilical ⁽¹²⁾. Se utilizaron 25 µl de los sueros dilui-

dos en 1,2 ml de solución diluyente e incubados por 90 minutos en cubetas independientes sobre bandas de nitrocelulosa (sobre las cuales se había corrido previamente antígeno total de *Toxoplasma* y que eran suministradas con el estuche). Esta incubación se hizo en un agitador horizontal a 10 ciclos por minuto y a 25 °C. Si existen anticuerpos contra el parásito, se unen a las proteínas y, en un paso subsiguiente, los anticuerpos no unidos son eliminados por lavados tres veces con 2 ml de solución, de las cuales, las últimas dos veces se dejan en agitación por cinco minutos.

Posteriormente, las bandas se incubaron con 1,2 ml de un conjugado anti-IgM humana unida a fosfatasa alcalina durante 60 minutos a 18 °C, también en agitación a 10 ciclos por minuto. Luego se repitió la misma serie de lavados y se diluyó de nuevo la banda en 1,2 ml de un substrato de nitroazul de tetrazolio con fosfato de 5-bromo-4-cloro-3-indoleil (NBT/BCIP), que detecta el complejo de unión al precipitar y dar una banda de color violeta.

El revelado se detiene lavando con agua destilada al aparecer la banda. La lectura se hace visualmente y se considera específica la aparición de cualquier banda por debajo de 120 kDa, excepto por una banda de aspecto tenue de 37 kDa, la cual se ha reconocido como un artefacto producido durante el proceso de fabricación ⁽¹²⁾.

Prueba ELISA para IgM anti-*Toxoplasma* de Vircell (Granada, España)

Es un método basado en el principio de captura. Las placas de poliestireno están recubiertas por un anticuerpo anti-IgM humano. Las inmunoglobulinas no unidas son eliminadas en el proceso de lavado.

La muestra de suero se diluyó a 1/20 en un volumen de 100 µl de diluyente compuesto por una solución tampón de fosfatos y el estabilizante de

proteínas Proclin®) y se incubó una hora a 37 °C. Luego de cinco lavados con solución tampón de fosfatos más Tween 20, se usaron 100 µl de antígeno total de *Toxoplasma* conjugado con peroxidasa, que reacciona con las IgM capturadas y el que no se une, se elimina en los lavados.

El revelado se hace con 100 µl de sustrato tetrametilbenzidina que da coloración azul para cambiar a amarillo tras la adición de la sustancia de parada (ácido sulfúrico, 0,5 M). La lectura se hace en un espectrofotómetro a 450 nm y con filtro de referencia de 630 nm. Los resultados se expresan en índice de acuerdo con las densidades ópticas (DO) de los sueros problema y sueros control de punto de corte: DO de la muestra/media de la DO del suero control de punto de corte.

Prueba ELISA para IgM anti-*Toxoplasma* de Ani-Labsystems (Vantaa, Finlandia)

También es un método basado en el principio de captura. Este estuche fue desarrollado para usarlo con muestras de sangre en papel filtro.

En nuestro trabajo se utilizó una variante, diluyendo las muestras de suero a 1/30 en un volumen de 150 µl del diluyente compuesto de una solución de anticuerpo anti-IgM humano y luego se incubaron 30 minutos en un agitador horizontal para placas a 850 rpm. Luego de cuatro lavados con 400 µl de solución de lavado, se añadieron 150 µl de antígeno total de la cepa Rh de *Toxoplasma* conjugado con peroxidasa y se incubó una hora a 37 °C en un agitador horizontal a 800 rpm. Se lavó cuatro veces con 400 ml de solución de lavado y se añadieron 150 µl de sustrato tetrametilbenzidina. Se incubó 20 minutos en oscuridad sin agitación y se adicionaron 100 µl de la sustancia de parada (ácido sulfúrico, 0,45 M).

La lectura se hace en un espectrofotómetro a 450 nm y con filtro de referencia de 630 nm. Los resultados se expresan en inmunounidades en-

zimáticas con la fórmula basada en los valores de absorbancia (Abs): $(\text{Abs muestra} - \text{Abs control negativo}) / (\text{Abs calibrador} - \text{Abs control negativo}) \times \text{RVC}$ (valor relativo del calibrador).

Definición de casos con infección congénita, incluyendo niños con IgM anti-*Toxoplasma* y sin ella

La presencia de IgM en el cordón umbilical puede ocurrir por transferencia de sangre materna al momento del parto y, por otro lado, la ausencia de IgM en la sangre del cordón umbilical no permite descartar la infección congénita.

Por estas razones, para validar clínicamente el desempeño de las pruebas, fue importante incluir la definición de presencia o ausencia de infección por seguimiento clínico y serológico posnatal, tanto en los casos positivos por Western blot como en los casos de niños con historia de infección en el embarazo. Esto permite revelar cuántos niños pueden ser detectados por cualquiera de los ensayos.

En estos casos se consideró confirmado el diagnóstico de infección congénita por la aparición de una prueba IgM anti-*Toxoplasma* por dos pruebas comerciales ELISA (Vircell® y Human®) o IgA específica positiva por ISAGA en la muestra de sangre del niño tomada luego del día 10 de vida o por la persistencia de IgG anti-*Toxoplasma* luego del mes 12 de vida, de acuerdo con los criterios de la red europea de toxoplasmosis congénita⁽¹³⁾.

La ausencia de infección congénita se estableció por la desaparición de los IgG anti-*Toxoplasma* en el seguimiento posnatal en ausencia de tratamiento.

Análisis estadístico

Los datos y gráficas se organizaron en Excel® y el análisis estadístico se hizo con el programa

SPSS®, versión 14 (SPSS Inc., Chicago, USA) y Epi Info, versión 3.5.1 (CDC, Atlanta). Se calculó un punto de corte con muestras negativas estimando el promedio del índice o las unidades inmunounidades enzimáticas, según la prueba, más tres desviaciones estándar. Se calculó la sensibilidad y la especificidad de diferentes puntos de corte a través de una curva operador-receptor (ROC) y se estimó la concordancia entre ambas pruebas ELISA y el índice kappa. La prueba de referencia fue el Western blot para IgM anti-*Toxoplasma*. Se calcularon los intervalos de confianza a 95 % alrededor de los porcentajes de sensibilidad y especificidad.

Resultados

Establecimiento de un punto de corte con sueros negativos para la infección

Se calculó un punto de corte para cada prueba con 53 sueros que fueron negativos tanto por la prueba Western blot IgM anti-*Toxoplasma* como por la prueba IgG anti-*Toxoplasma* en las muestras de cordón umbilical. Para la prueba Vircell®, el punto de corte estimado fue de 8 (figura 1), y para la prueba Labsystems®, fue de 10,3 (figura 2). No se incluyeron 40 muestras negativas por Western blot para IgM, porque tenían presencia de IgG anti-*Toxoplasma*.

Curva ROC de acuerdo con la sensibilidad y especificidad frente al Western blot

En 105 muestras la curva ROC (figura 3) muestra que un punto de corte de índice 8 para la prueba Vircell® tenía una sensibilidad de 100 % (IC_{95%} 71,8-100) y la mejor especificidad, con un 78,5 % (IC_{95%} 69-85,7). La prueba de Labsystems®, con un punto de corte de 16 unidades inmunoenzimáticas, tenía una sensibilidad de 100 % (IC_{95%} 71,8-100) y una especificidad de 100 % (IC_{95%} 96-100). La concordancia entre las pruebas ELISA de Vircell® y de Labsystems® fue de 80 % y, el índice

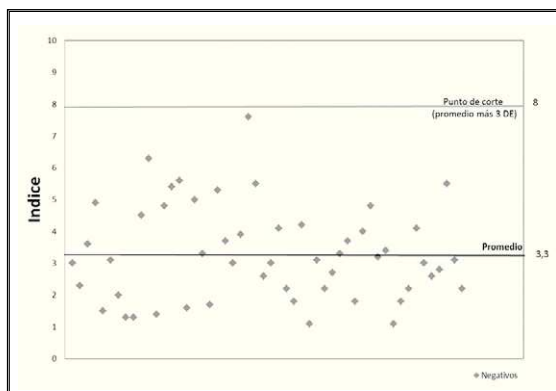


Figura 1. Valores de índice en prueba IgM anti-*Toxoplasma* de Vircell en 53 muestras de cordón umbilical de niños negativos para la infección.

de kappa, de 0,45 (IC_{95%} 0,24-0,67), lo cual muestra una fuerza de asociación moderada.

Resultados del seguimiento clínico y serológico

De los 12 casos con prueba positiva para IgM anti-*Toxoplasma* por Western blot, se confirmó la infección congénita en ocho niños (66 %) por diversos criterios (tabla 1). Todas las madres de estos niños fueron positivas para IgG anti-*Toxoplasma*. Entre estos niños con infección congénita confirmada, cuatro fueron sintomáticos y dos de ellos fallecieron antes del primer mes de vida.

Entre los sueros negativos se confirmó un caso de infección congénita no sintomática; la madre recibió tratamiento con espiramicina durante el embarazo y la infección sólo pudo ser diagnosti-

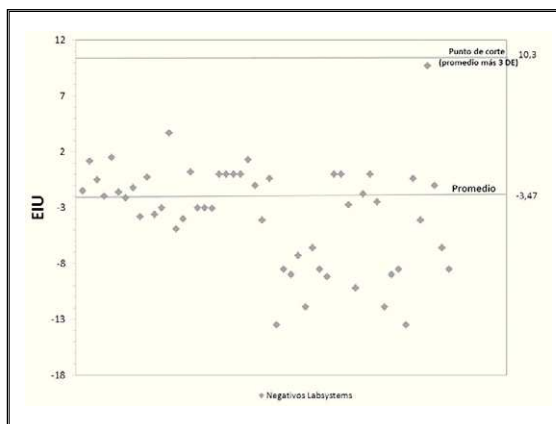


Figura 2. Valores EIU de la prueba IgM anti-*Toxoplasma* de Labsystems en 53 sueros de niños negativos para la infección

cada por el criterio de persistencia de los niveles de IgG durante el seguimiento postnatal.

Discusión

Para el presente estudio se utilizó la prueba de Western blot como referencia, la cual ha sido evaluada previamente por nosotros en programas de tamización en sangre de cordón umbilical ⁽⁵⁾. Las limitaciones para su aplicación en programas de tamización son su costo y la laboriosidad en su realización e interpretación ⁽⁵⁾.

El punto de corte para las pruebas de toxoplasmosis neonatal en cordón umbilical o sangre de talón sobre papel filtro, se ha determinado anteriormente con muestras negativas de pacientes adultos donantes de sangre ⁽⁷⁾ o por comparación entre el suero materno y el suero del niño ⁽¹⁴⁾. En nuestro caso el punto de corte se definió con sueros de cordón umbilical que fueron negativos para IgG e IgM anti-*Toxoplasma*.

Al comparar el punto de corte obtenido con sueros negativos con el determinado por una curva ROC, se encontró que el estimado con sueros negativos de Vircell® era el mismo que en la curva ROC y demostró que permitía la detección del 100 % de los casos con IgM anti-*Toxoplasma*, aunque con una baja especificidad (78 %).

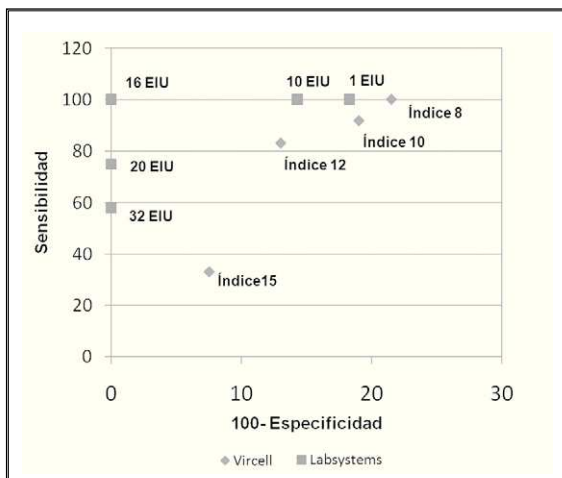


Figura 3. Curva ROC para las pruebas de IgM anti-*Toxoplasma*

Con el estuche de Labsystems®, el punto de corte estimado con sueros negativos (10 inmunounidades enzimáticas) se encontraba bien abajo del óptimo, según la curva ROC, y daba una especificidad de 81 %, la cual se volvía de 100 % con el punto de corte a 16 inmunounidades enzimáticas.

Tal vez la manera de calcular las inmunounidades enzimáticas en el estuche de Labsystems® permite intervalos de valores en los resultados mucho más precisos que en el estuche Vircell®. Esto se aprecia con valores muy altos de inmunounidades enzimáticas en niños bastante sintomáticos (por ejemplo, 670 inmunounidades enzimáticas, caso 6) y valores cercanos al punto de corte determinado por ROC en niños sin síntomas (por ejemplo, 17 inmunounidades enzimáticas, caso 5), lo cual es menos evidente con los resultados en el índice de Vircell®.

La concordancia entre ambas pruebas fue moderada, según el índice kappa; esto se debió principalmente a la gran cantidad de falsos positivos en la prueba Vircell®. Por lo tanto, esta prueba debe ser mejorada para disminuir el número de falsos positivos. Esto podría hacerse, por ejemplo, incluyendo sueros calibradores en sus controles que permitan obtener valores más precisos en sus índices. Es necesario anotar que no existe un suero patrón para IgM en toxoplasmosis, como sí ocurre en IgG, por lo cual la estandarización entre pruebas comerciales adolece por ahora de grandes dificultades ⁽¹⁵⁾.

Es importante resaltar la fortaleza del presente estudio; nuestra serie de casos positivos es representativa del amplio espectro clínico de la infección congénita, que va desde casos graves, con fallecimiento inclusive, a casos asintomáticos e infectados, o madres que tuvieron IgM anti-*Toxoplasma* pero que no transmitieron la infección.

Esta última situación es bien conocida en el caso de la estrategia de tamización de recién nacidos para toxoplasmosis congénita; todos los casos po-

Tabla 1. Características de los 12 casos con pruebas IgM positivas por western blot

Numero (ciudad)	Indice IgM Vircell	EIA Labsystems	Infectado (criterios)	Sintomático
(Barranquilla)	22,8	261	Si (síntomas, IgM e IgA positivo día 10)	Si, calcificaciones cerebrales, coriorretinitis
(Armenia)	19,9	203	Si (IgM e IgA positivos día 10)	No
(Florencia)	13,2	128	Si (síntomas, IgM e IgA positivos día 10)	Si, deceso, calcificaciones cerebrales,
(Armenia)	12,3	27,2	Si (IgM positivo en niño, madre IgM e IgA positivos)	No
(Armenia)	12,3	17	Si (IgM positivo en niño, madre IgM e IgA positivos)	No
(Florencia)	10	670	Si (síntomas, mamá IgM e IgA positiva)	Si, deceso, síndrome dificultad respiratoria
(Armenia)	9,8	18	Si (niño y madre IgM positivos, no descenso títulos)	No
(Armenia)	12,9	38,5	No (negativización en ausencia de tratamiento)	NA
(Armenia)	12,9	18,2	No (negativización en ausencia de tratamiento)	NA
(Armenia)	14,4	24,3	No (negativización en ausencia de tratamiento)	NA
(Armenia)	18,6	18	No (negativización en ausencia de tratamiento)	NA
(Bucaramanga)	23,8	369	Si (niño y madre IgM positivos, no descenso títulos)	Si, síntomas neurológicos blandos

NA: No aplicable

sitivos en cordón umbilical deben ser confirmados con nueva muestra al día 10, tanto de la madre como del niño. La presencia de IgM anti-*Toxoplasma* en cordón umbilical puede significar el traspaso de esta inmunoglobulina materna al momento del parto; por esta razón, la confirmación siempre se debe hacer con una muestra posnatal.

En la presente muestra de casos positivos en cordón umbilical, el 24 % de los positivos para IgM positiva anti-*Toxoplasma* en cordón umbilical se debió a esta situación, y se pudo confirmar la ausencia de infección en estos casos por el resultado negativo para IgG anti-*Toxoplasma* en el niño, durante el seguimiento.

Las dos pruebas evaluadas permitieron diagnosticar el 100 % de los casos de infección congénita que presentaban IgM anti-*Toxoplasma* en la muestra de cordón umbilical. Sin embargo, es

bien conocido que algunos casos de infección congénita pueden no ser diagnosticados con la búsqueda de IgM anti-*Toxoplasma* y se requiere buscar IgA anti-*Toxoplasma* o hacer seguimiento posnatal. Uno de estos casos estaba incluido en la muestra estudiada y ninguna prueba fue positiva para IgM anti-*Toxoplasma*. El niño tuvo el antecedente de tratamiento de la madre en el embarazo y se ha reportado que esto puede reducir la presencia de marcadores diagnósticos al nacimiento ⁽¹⁶⁾.

Conclusiones

Un punto de corte de 8 para la prueba ELISA de Vircell® y de 16 inmunounidades enzimáticas para la prueba de Labsystems®, permite detectar el 100 % de los casos con IgM anti-*Toxoplasma* en muestras de cordón umbilical de recién nacidos colombianos.

Declaración sobre conflictos de interés

Los autores declaran no conocer ningún tipo de conflicto de interés durante la realización de este trabajo. Los autores no han recibido salarios ni beneficios de parte de las empresas distribuidoras o fabricantes de los estuches utilizados en este estudio.

Financiación: "Estudio multicéntrico nacional de toxoplasmosis neonatal" financiado por Colciencias, código 1113-4592-1444.

Referencias

1. Gómez-Marín JE. Protozoología médica: Protozoos parásitos en el contexto latinoamericano. Primera edición. Bogotá: Editorial Manual Moderno; 2010. p. 288.
2. Elsheikha HM. Congenital toxoplasmosis: Priorities for further health promotion action. *Public Health*. 2008;122:335-53.
3. Pinon JM, Dumon H, Chemla C, Franck J, Petersen E, Lebech M, *et al.* Strategy for diagnosis of congenital toxoplasmosis: Evaluation of methods for postnatal detection of immunoglobulin G, M and A antibodies. *J Clin Microbiol*. 2001;39:2267-71.
4. Paul M, Petersen E, Pawlowski ZS, Szczapa J. Neonatal screening for congenital toxoplasmosis in the Poznan region of Poland by analysis of *Toxoplasma gondii*-specific IgM antibodies eluted from filter paper blood spots. *Pediatr Infect Dis J*. 2000;19:30-6.
5. Gallego-Marín C, Henao AC, Gómez-Marín JE. Clinical validation of a Western Blot assay for congenital toxoplasmosis and newborn screening in a hospital in Armenia (Quindío) Colombia. *J Trop Ped*. 2006;52:107-12.
6. Gómez-Marín JE, González MM, Montoya MT, Giraldo A, Castaño JC. A newborn screening programme for congenital toxoplasmosis in the setting of a country with less income. *Arch Dis Child*. 2007;92:88.
7. Eaton RB, Petersen E, Seppanen H, Tuuminen T. Multicenter evaluation of a fluorometric enzyme immunocapture assay to detect *Toxoplasma*-specific immunoglobulin M in dried blood filter paper specimens from newborns. *J Clin Microbiol*. 1996;34:3147-50.
8. Neto EC, Rubin R, Schulte J, Giugliani R. Newborn screening for congenital infectious diseases. *Emerg Infect Dis*. 2004;10:1068-73.
9. Carvalheiro CG, Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, De Souza CB, Maciel LM. Incidence of congenital toxoplasmosis estimated by neonatal screening: Relevance of diagnostic confirmation in asymptomatic newborn infants. *Epidemiol Infect*. 2005;133:485-91.
10. Evengard B, Petersson K, Engman ML. Low incidence of *Toxoplasma* infection during pregnancy and in newborns in Sweden. *Epidemiol Infect*. 2001;127:121-7.
11. Robert-Gangneux F, Commerce V, Tourte-Schaefer C, Dupouy-Camet J. Performance of a Western blot assay to compare mother and newborn anti-*Toxoplasma* antibodies for the early neonatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1999;18:648-54.
12. Rilling V, Dietz K, Krczal D, Knotek F, Enders G. Evaluation of a commercial IgG/IgM Western blot assay for early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2003;22:174-80.
13. Lebech M, Joynson DH, Seitz HM, Thulliez P, Gilbert RE, Dutton GN, *et al.* Classification system and case definitions of *Toxoplasma gondii* infection in immunocompetent pregnant women and their congenitally infected offspring. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1996;15:799-805.
14. Neto EC, Anele E, Rubim R, Brites A, Schulte J, Becker D, *et al.* High prevalence of congenital toxoplasmosis in Brazil estimated in a 3-year prospective neonatal screening study. *Int J Epidemiol*. 2000;29:941-7.
15. Gay-Andrieu F, Fricker-Hidalgo H, Sickinger E, Espern A, Brenier-Pinchart MP, Braun HB, *et al.* Comparative evaluation of the ARCHITECT Toxo IgG, IgM, and IgG Avidity assays for anti-*Toxoplasma* antibodies detection in pregnant women sera. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2009;65:279-87.
16. Bessières MH, Berrebi A, Rolland M, Bloom MC, Roques C, Cassaing S, *et al.* Neonatal screening for congenital toxoplasmosis in a cohort of 165 women infected during pregnancy and influence of *in utero* treatment on the results of neonatal tests. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2001;94:37-45.