

PCR en Toxoplasmosis

Dora Janeth Fonseca Mendoza. Bióloga
Laboratorio de Biología Molecular
Fundación Arthur Stanley Gillow, Bogotá D.C.

La Reacción en Cadena de la Polimerasa o PCR, constituye una metodología sensible y específica que permite la identificación de segmentos génicos mediante la amplificación selectiva de secuencias de ADN particulares. Las técnicas de Biología Molecular han sido adaptadas a la identificación de *Toxoplasma gondii* en diversas muestras biológicas de animales y humanos como sangre, orina, líquido cefalorraquídeo, humor vítreo y líquido amniótico.

En la identificación mediante PCR de *Toxoplasma gondii* se han utilizado como blancos de amplificación genes únicos (P30) o repetidos (gen B1), la secuencia TGR1E, el ADNr 18s, los locus SAG1 y SAG2. De estos el gen B1 ha sido ampliamente usado porque al estar repetido 35 veces en el genoma del parásito ofrece mayor sensibilidad en su detección. En humanos la PCR ha sido aplicada al reconocimiento de las dos condiciones clínicamente relevantes como lo son la toxoplasmosis congénita y la toxoplasmosis en pacientes inmunosuprimidos. En este último grupo se ha verificado que la sensibilidad de la técnica cuando se estudia sangre periférica es de 25-70%. Este margen tan amplio de sensibilidad se relaciona con inicio de tratamientos antiparasitarios o la utilización de profilaxis previa. Por el contrario el uso de la PCR en identificación de toxoplasmosis congénita mediante evaluación molecular de líquido amniótico ha revelado sensibilidades que superan el 80% y de esta manera se ha constituido como una herramienta muy valiosa que permite realizar un diagnóstico temprano y rápido, con el fin de instaurar medidas terapéuticas que mejoren el pronóstico fetal. De la misma manera en caso que se descarte dicho compromiso se evita el uso de drogas con potencial de teratogenicidad o toxicidad materna y fetal.

En la Fundación Gillow se ha implementado el diagnóstico de toxoplasmosis congénita evaluando líquido amniótico obtenido de gestantes con evidencia serológica de primoinfección por *T. gondii*. Para los procesos de amplificación se ha adaptado una PCR de tipo competitivo que al utilizar un control interno de amplificación (fago M13mp18) evita posibles resultados falsos negativos. El blanco de amplificación es el gen repetido altamente conservado B1 de *T. gondii*. El DNA de las células de líquido amniótico se aisló mediante la técnica de extracción de "Salting Out". Los productos de la PCR se evidenciaron mediante electroforesis en geles de poliacrilamida, en donde la presencia de dos señales de amplificación (una de 143 pb correspondiente a fago y otra de 115 pb correspondiente a *T. gondii*) fue conclusiva de positividad. La metodología se ha aplicado al análisis de 500 muestras de líquido amniótico, en donde se ha evidenciado una positividad de 7,6 %.