

**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
CÁTEDRA DE INMUNOLOGÍA**



**PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI *TOXOPLASMA GONDII* EN
ADOLESCENTES EMBARAZADAS**

Trabajo de Grado presentado como requisito para optar al título de
Licenciado en Bioanálisis

www.bdigital.ula.ve

Autores:

Gabriela Yolanda Jaramillo Rosales

C.I-V: 25.164.265

Rafael Antonio Santiago Moreno

C.I-V: 23.039.987

Tutor:

Prof. Dra. Carmen Zulay Labrador Chacón

Mérida, Marzo de 2020

AGRADECIMIENTOS

Nuestra mayor gratitud es con **Dios Todopoderoso**, ya que ha estado presente en el camino recorrido y por concedernos la sabiduría y la constancia para que fuera posible alcanzar esta meta.

Queremos agradecer a **Nuestros Padres y Hermanos**, por brindarnos su apoyo incondicional, físico, moral y espiritual, además agradecemos todos sus detalles y sacrificios honorables, por su constante amor, exigencias y cariños.

Agradecemos a la ilustre **Universidad de Los Andes**, en especial a la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, por su aporte fundamental a nuestro desarrollo intelectual y a todos los docentes que participaron en nuestra formación académica.

A nuestra Tutora, la **Dra. Carmen Zulay Labrador**, por su enorme labor, dedicación, apoyo académico, científico y personal, gracias por orientarnos y guiarnos durante todo este tiempo con sus observaciones y valiosas sugerencias.

A la **Dra. Morella Bouchard** por el asesoramiento científico, colaborando en el logro de esta investigación.

Al **Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes**, en especial al personal del servicio de Ginecología y Obstetricia, por su disposición y ayuda.

De una manera muy especial al personal del **Instituto de Inmunología Clínica de la Universidad de Los Andes**.

Los Autores

DEDICATORIA

Cada uno de nuestros objetivos planteados y alcanzados, serán dedicados al principal protagonista de nuestras vidas, quien siempre ha sido testigo de nuestros grandes esfuerzos y sacrificios el cual lleva por nombre Dios.

Nuestras familias: ellas, quienes no dudaron en apoyarnos cuando tomamos la decisión de marchar a otra ciudad a estudiar la carrera por la que tanto luchamos, por ser nuestro mayor impulso y por llenarnos de palabras sabias y correctas en cada experiencia vivida, por transmitir las mejores energías positivas, llenarnos de aliento en aquellos momentos de aflicción por tantos obstáculos, todo ello de una manera desinteresada y llenos de amor.

www.bdigital.ula.ve

Gabriela y Rafael

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CONTENIDO	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE GRÁFICAS	viii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
RESUMEN	x
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	3
Planteamiento del Problema	3
Objetivos de la Investigación	6
Objetivo general	6
Objetivos específicos	6
Justificación de la Investigación	7
Alcances y Limitaciones	8
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	9
Trabajos previos	9
Antecedentes Históricos	13
Bases Teóricas	14
Agente etiológico	14
Ciclo biológico del <i>Toxoplasma gondii</i>	15
Transmisión de <i>Toxoplasma gondii</i>	16
Toxoplasmosis congénita	17
Toxoplasmosis adquirida	17
Toxoplasmosis adquirida aguda	18
Toxoplasmosis adquirida asintomática	18
Inmunidad del organismo a la toxoplasmosis.	18
Epidemiología	20
Manifestaciones Clínicas	21

Diagnóstico de la toxoplasmosis	21
Tratamiento	24
Definición de términos	27
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	29
Tipo de Investigación	29
Diseño de la Investigación.	29
Población y Muestra	30
Unidad de Investigación	30
Selección del Tamaño Muestral	30
Metodología de la investigación	30
Instrumento de recolección de datos	36
Análisis estadístico	36
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	37
Resultados	37
Discusiones	44
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	49
Conclusiones	49
Recomendaciones	51
REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS	52
ANEXOS	58
Anexo 1: Cuestionario. (Ficha del paciente).	59
Anexo 2: Consentimiento Informado.	61
Anexo 3: Inserto del Método de Hemaglutinación Indirecta.	62
Anexo 4: Inserto del protocolo para Avidéz de IgG.	65

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Pasos para el procesamiento de las muestras por el método de HAI.	34
Figura 2. Pasos para el procesamiento de las muestras por el método de ELISA Aidez para IgG.	35

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Página
Gráfica N° 1. Distribución de las diluciones de los anticuerpos anti <i>T. gondii</i> por el método de HAI.	38
Gráfica N° 2. Distribución de los resultados de anticuerpos anti <i>T. gondii</i> por el método de HAI vs edad de las pacientes	39

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla N° 1. Operacionalización del evento de estudio	25
Tabla N° 2. Operacionalización del criterio de análisis	26
Tabla N° 3. Resultado de la prueba serológica por el método de HAI	37
Tabla N° 4. Relación de las diluciones serológicas por HAI con respecto al trimestre de embarazo	40
Tabla N° 5. Resultados de la prueba de Aidez de las pacientes reactivas para anticuerpos anti <i>T. gondii</i> .	40
Tabla N° 6. Relación de los resultados de la prueba de Aidez vs los resultados reactivos por el método de HAI.	41
Tabla N° 7. Seroprevalencia de <i>T. gondii</i> y su asociación a factores de riesgo en adolescentes embarazadas que acudieron al IAHULA.	42
Tabla N° 8. Relación del resultado de la prueba serológica por el método de HAI con las respuestas de conocimiento en relación a la infección por <i>T. gondii</i> .	43



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
CATEDRA DE INMUNOLOGÍA**



**PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI *TOXOPLASMA GONDII* EN
ADOLESCENTES EMBARAZADAS**

Autores:

Gabriela Yolanda Jaramillo Rosales
Rafael Antonio Santiago Moreno

Tutor:

Prof. Dra. Carmen Zulay Labrador

RESUMEN

La toxoplasmosis es una de las zoonosis parasitarias más comunes a nivel mundial ocasionada por el parásito apicomplejo intracelular obligado denominado *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), la infección por *T. gondii* en el embarazo puede producir graves consecuencias en el feto. El diagnóstico de esta parasitosis se ha orientado hacia la búsqueda de nuevas técnicas para la detección de infecciones recientes que por lo general son clínicamente asintomáticas. Objetivo: Analizar la presencia de anticuerpos anti-*T. gondii* en adolescentes embarazadas que acudieron a consulta obstétrica en el Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes desde febrero a marzo de 2018. Se estudiaron sueros de 30 adolescentes embarazadas, por el método de hemaglutinación indirecta (HAI) de Wiener y posteriormente a las pacientes reactivas se aplicó la prueba de ELISA IgG de Avidex estandarizada por el Instituto de Inmunología Clínica (IDIC). Resultados: Se obtuvo una seropositividad en 10 (33,3%) pacientes del total de la población estudiada por el método de HAI; la prueba de Avidex, 7 pacientes (70%) presentaron Avidex alta, indicando así una infección pasada, y 3 (30%) pacientes arrojaron la presencia de anticuerpos totales, indicando una posible presencia de IgM. No hubo significancia estadística entre los distintos tipos de factores de riesgo, sólo en el tipo de carne para el consumo con un valor de ($p < 0.009$).

Palabras claves: Toxoplasmosis, embarazo, anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii*, hemaglutinación indirecta, Avidex de IgG

INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una de las zoonosis parasitarias más comunes a nivel mundial ocasionada por el parásito apicomplejo intracelular obligado denominado *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*). El hospedero final principal son fundamentalmente los felinos; sin embargo, también pueden ser huéspedes intermediarios las aves y mamíferos de sangre caliente incluyendo al humano. El hombre puede adquirir la infección por diferentes vías: mediante la ingestión de quistes tisulares presentes en carne mal cocida proveniente de animales infectados, o de ooquistes liberados en las heces de gatos que contaminan hortalizas o fuentes de agua potable. Una tercera ruta de infección es la vía transplacentaria de la madre al feto. También se debe tomar en cuenta la vía transfusional (Muñiz y Mondragón, 2009).

La infección por *T. gondii* en el embarazo puede producir graves consecuencias en el feto. Entre las complicaciones descritas puede ocurrir muerte intrauterina, coriorretinitis, hidrocefalia, calcificaciones cerebrales, microcefalia, microftalmia, ceguera, retraso mental o psicomotor. La gravedad de las secuelas de la toxoplasmosis congénita está asociada a la edad gestacional al momento de la infección materna. Los niños nacidos de una madre infectada en el primer trimestre tienen una elevada probabilidad de estar gravemente afectados, en comparación contra el 80% de los niños que se infectan durante el tercer trimestre nacen asintomáticos. Todos los recién nacidos con toxoplasmosis congénita requieren tratamiento, incluyendo los que nacen asintomáticos para evitar el riesgo de desarrollo de secuelas tardías (Carral, Kaufer, Durlach, Moré, Venturini y Freuler, 2018).

El diagnóstico de la toxoplasmosis se ha orientado hacia la búsqueda de nuevas técnicas para la detección de infecciones recientes que por lo general son clínicamente asintomáticas, en especial para el diagnóstico en las embarazadas debido al alto riesgo de transmisión al feto si la primoinfección ocurre durante los meses de la gestación (Acosta, Guillen, Aria, Meza, Roig, Carpinelli y Díaz, 2010).

Por lo anteriormente expuesto, la importancia de este trabajo de investigación se fundamentó en la detección oportuna de los marcadores séricos de toxoplasmosis como son los anticuerpos anti-*T. gondii*. La presente investigación tuvo como finalidad realizar un diagnóstico temprano de la enfermedad y así contribuir en la orientación médica para establecer un tratamiento oportuno. Además, se planteó contribuir en la casuística de los datos clínicos y epidemiológicos de las embarazadas que presenten infección por toxoplasmosis, siendo esto un problema de salud pública a nivel mundial.

En efecto el siguiente trabajo de investigación está estructurado en cinco (V) capítulos: atendiendo a estas consideraciones en el capítulo I se realizó el planteamiento del problema, posteriormente los objetivos del estudio y justificación; además se plantean los alcances y limitaciones. En el capítulo II, se presenta el marco conceptual de la investigación, el cual está conformado por trabajos previos, antecedentes históricos, bases teóricas, definición de términos utilizados en la temática que sirven a su vez como soporte de la misma. Dentro de ese marco más adelante se establecieron variables del estudio y criterio de análisis

En el capítulo III se presenta el marco metodológico, definiéndose el tipo de estudio, diseño de la investigación, población y muestra, instrumento de recolección de datos, método para recopilación de la información y diseño de análisis. El capítulo IV hace referencia a la interpretación de los resultados, análisis y discusiones de la investigación. Asimismo, se presenta el capítulo V el cual contiene las conclusiones y recomendaciones.

CAPITULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

La toxoplasmosis es una parasitosis del hombre y diversas especies de aves y mamíferos generalmente asintomática ocasionada por el protozoo apicomplejo *T. gondii*, parásito intracelular. Este agente infeccioso invade al hombre por distintas vías, entre las más destacadas son la vía oral a través de la ingesta de carnes crudas o mal cocidas con quistes tisulares o bradizoítos, y a través del consumo de agua o alimentos contaminados con ooquistes. Una vez ingeridos los alimentos contaminados y posterior liberación de los esporozoítos en el intestino se originan los taquizoítos (trofozoítos de replicación rápida) que empiezan a multiplicarse con la invasión de células nucleadas, excepto los eritrocitos. En el adulto, este parásito posee afinidad por cualquier tipo de célula, de preferencia por las células del sistema fagocítico mononuclear, sistema nervioso central (SNC) y tejido muscular. En el embrión posee gran afinidad por el sistema nervioso y este adquiere la enfermedad por primoinfección que ocurre cuando la madre se infecta durante el embarazo (Romero, 2007).

Estudios seroepidemiológicos han revelado la variación del grado de infección por *T. gondii*, en función de las diferentes condiciones geográficas y los factores de riesgo asociados de contraer la enfermedad. Estos factores varían en cuanto a la distribución por edad, el clima y la condición socioeconómica. La prevalencia mundial de esta infección

oscila aproximadamente entre 40 y 85% de la población mayor de 35 años y representa actualmente una importante causa de morbimortalidad neonatal en casos de toxoplasmosis congénita (Fernández, Villegas y Vacaro, 2018).

En este sentido, entre la población de riesgo se encuentran las mujeres en estado de gestación, siempre y cuando esta adquiera la parasitosis durante las primeras etapas del embarazo (Atias, 1991).

Cerca del 90% de las mujeres que llegan a sufrir toxoplasmosis aguda durante el embarazo son asintomáticas, así que su detección se basa en los resultados de las pruebas serológicas de los exámenes durante el embarazo. Así pues, 5 de 1000 mujeres que se encuentran en embarazo y en un estado inmunodeprimido pueden adquirir toxoplasmosis, con un riesgo del 10-100% de transmisión congénita (Palmezano, Plazas y Rojas, 2015).

La toxoplasmosis congénita tiene lugar cuando la madre adquiere la infección durante la gestación y el parásito atraviesa la placenta y alcanza al feto, por esto se incluye al parásito en el panel TORCH (toxoplasmosis, rubéola, citomegalovirus, herpes simple I-II y VIH). Los casos de toxoplasmosis congénita se dan en madres infectadas hasta 3 meses antes de la concepción. La infección por *T. gondii* se asocia con mayor riesgo de aborto, muerte fetal y parto prematuro, comportándose de manera inversa al momento de la transmisión de la infección y la severidad de la enfermedad; esto es, mientras más temprana sea la infección en el embarazo (primero y segundo trimestres), mayor será la gravedad de los efectos de la toxoplasmosis congénita, que incluso puede tener como resultado la muerte fetal. El riesgo de transmisión al feto cuando la madre no recibe tratamiento es del 14% en el primer trimestre, 25% en el segundo y 65% en el tercer trimestre (Giraldo, 2008).

En Venezuela la seroprevalencia promedio para este parásito es mayor al 50% demostrado en varios estudios: estado Zulia 65,57%, estado Trujillo 69% y estado Lara entre 38% y 43%. Así mismo, esta estadística aumenta en poblaciones indígenas. Los estudios pioneros en

Venezuela realizados por Maekelt y colaboradores entre 1970 y 1989, demostraron que la infección toxoplasmósica aumentaba desde la infancia hasta llegar a un 60% en la edad adulta. Entonces se puede concluir que por lo menos la mitad de las embarazadas venezolanas llegan al control prenatal con estado de infección crónica, es decir, sin riesgo para el feto o neonato producto de esta gestación (Díaz, Zambrano, Chacón, Rocha y Díaz, 2010).

En este contexto dependiendo del grado de infección y el estado inmunológico de la persona, se produce una serie de manifestaciones clínicas cuyo cuadro depende de la infección, ya que se puede producir, toxoplasmosis aguda, toxoplasmosis ganglionar, toxoplasmosis ocular y toxoplasmosis congénita. Todas las formas clínicas se diagnostican a través de la cuantificación de inmunoglobulinas séricas específicas para *Toxoplasma gondii* (IgM, IgG, IgA, IgE), a través de distintos métodos (Acha y Szyfres, 2003).

Partiendo del supuesto anterior se planteó la siguiente interrogante, ¿Cuál sería la seroprevalencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en muestras provenientes de adolescentes embarazadas que acuden a consulta obstétrica en el Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA) por el método de hemaglutinación indirecta y Avidex para IgG desde febrero a marzo del 2018?

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo general

Analizar la presencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en adolescentes embarazadas que acudieron a consulta obstétrica en el Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes, de febrero a marzo de 2018.

Objetivos específicos

1. Detectar la presencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en adolescentes embarazadas a través del método de HAI.
2. Interpretar de forma cualitativa, los valores de los anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii*, en las muestras de suero de las embarazadas seleccionadas.
3. Estimar la frecuencia con la que se presenta la toxoplasmosis en los diferentes trimestres del embarazo en el grupo de pacientes estudiadas.
4. Medir la Aidez de la IgG anti-*Toxoplasma gondii*, aplicando la técnica de ELISA-Aidez estandarizada en el Instituto de Inmunología Clínica (IDIC) en las muestras de pacientes seropositivas.
5. Comparar los resultados obtenidos por la prueba de HAI y la prueba de Aidez de IgG, en las pacientes estudiadas.
6. Relacionar la prevalencia de toxoplasmosis asociada a los factores de riesgo.

JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La toxoplasmosis es una enfermedad que raramente produce infecciones generalizadas graves en los adultos inmunocompetentes, siendo la afectación del feto en el embarazo la más frecuente y grave, ocasionando secuelas complejas en niños a quienes no se les diagnóstica la infección por *T. gondii* oportunamente, siendo esta adquirida muy precozmente, alcanzando alta prevalencia en lactantes mayores. Sin embargo, si las mujeres son diagnosticadas y tratadas durante el embarazo, las secuelas en el feto disminuyen notablemente, pudiendo desarrollarse los niños casi normalmente (Sánchez, Díaz, García, Raleigh y Palma, 2008).

En virtud a estas consideraciones, las diferencias existentes entre los sistemas de crianza de animales para consumo humano, los sistemas de riego de aguas en los cultivos, las costumbres alimentarias de los grupos humanos, y las condiciones higiénicas generales, juegan un papel fundamental en la transmisión de las infecciones por *T. gondii* en cada zona geográfica. La infección por ooquistes predomina en países tropicales, en donde hay más contaminación fecal del suelo por heces de gato, con predominio mayor en ciudades, por la más estrecha convivencia con estos animales. Lo contrario sucede en países no tropicales, en donde predomina la transmisión por carnes (Botero y Restrepo, 2003).

El grupo de mujeres embarazadas con mayor riesgo para primoinfección con *T. gondii* son las adolescentes, mayor aun si habitan en ambientes contaminados por animales huéspedes y vehículos de transmisión de ooquistes (Díaz, Mauriello, Soto, Zavala, Aponte, Escobar, 2010).

La prevalencia de toxoplasmosis congénita varía de 1 a 10 por cada 10.000 nacidos vivos. En Venezuela, la seroconversión durante el embarazo se ha reportado entre 2,6 a 4,7 primoinfecciones toxoplasmósica por 1.000 embarazos por año, mostrando mayor incidencia que en otros países de la región latina (Díaz y cols., 2010).

ALCANCES Y LIMITACIONES

En esta investigación el alcance es: ANALIZAR; ya que se pretende estudiar la presencia de anticuerpos anti *T. gondii* en adolescentes embarazadas que acudieron a consulta obstétrica en el IAHULA.

Para desarrollar este trabajo de investigación se consideró como limitante el recurso económico precario para la compra de reactivos e insumos necesarios para la determinación de la presencia de los anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* debido a sus elevados precios y la disponibilidad de los mismos en las casas comerciales.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos previos

En el año 2019, en Colombia, los autores Giraldo, Garzón, López, Cardozo y Millán, realizaron un trabajo de investigación denominado Seroprevalencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en mujeres menores de 18 años de una localidad de Colombia. El objetivo general fue Determinar la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en mujeres menores de 18 años de dos instituciones educativas de un municipio de Colombia. Estudio de prevalencia, transversal, efectuado en mujeres de dos colegios de Dosquebradas, Colombia. Las muestras se analizaron contra anticuerpos IgM, IgG e IgG de Avidex con antígenos recombinantes para *T. gondii* altamente purificados con la prueba RecomLine, con desarrollo de Western blot mikrogen Diagnostik. Para definir el momento infeccioso se determinó la Avidex anti-IgG contra antígenos p30, MAG1, GRA1 y rSAG1 en muestras positivas para IgG total. Resultados: Se estudiaron 80 pacientes con edad media de 15 años: 4 resultaron con IgM anti-*Toxoplasma gondii*, infección menor de 3 meses; 28 IgG anti-*T. gondii*, con infección mayor a 3 meses y 17 IgG de Avidex con infección superior a 6 meses. La prevalencia fue de 61,3%. Conclusión: La seroprevalencia global de anticuerpos anti-*Toxoplasma* encontrada fue de 61,3%, lo que pone de manifiesto que la toxoplasmosis es una enfermedad en la que debe pensarse para diagnosticarla y tratarla oportunamente.

En Carabobo, Venezuela; en el año 2018, Fernández y colaboradores determinaron la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* y factores

asociados en mujeres en edad fértil de la Universidad de Carabobo, Venezuela. Se trató de un estudio descriptivo en el que se aplicó una encuesta a 255 mujeres en edad reproductiva con rango de edad entre los 18 y 30 años y una media de 24 años, investigando los posibles factores asociados a la exposición del parásito. Como método analítico se utilizó la prueba serológica para la determinación de anticuerpos anti-*T. gondii* utilizando el método de hemaglutinación indirecta de la casa comercial (Wiener ©). El valor general de seroprevalencia de anticuerpos anti-*T. gondii* fue del 15,7% (40/255). La seroprevalencia de IgG e IgM fue del 14,1% (36/255) y 1,6% (4/255), respectivamente. Ninguna de las estudiantes seropositivas presentaba simultáneamente ambos tipos de inmunoglobulinas anti-*T. gondii*. La presencia de inmunoglobulina IgM se realizó de manera indirecta; observando la disminución de por lo menos dos diluciones de los sueros positivos al ser tratados con el agente reductor 2-mercaptoetanol. Se detectó que en 4/255 de los sueros analizados hubo tal descenso y en este tipo de ensayo el resultado es sólo cualitativo para las IgM características de la fase aguda de la infección. Las pacientes seropositivas que habían consumido carne de ovino representaron el 87,5% del total de las infectadas, siendo este factor estadísticamente significativo. Así mismo, hubo asociación estadísticamente significativa ($p=0,01$) entre la seropositividad de las participantes y el contacto con tierra, ya que este constituye el medio de evolución para que los ooquistes eliminados en forma inmadura encuentren las condiciones favorables para su esporulación y hacerse infectivos para los seres humanos y otros animales, incluyendo las aves.

En el año 2017, en el noreste de Argelia los autores Berredjem, H., Aouras, H., Benlaifa, M., Bechecker, I., y Reda, M., realizaron un trabajo de investigación denominado Contribución de la Avidéz de IgG y la PCR para el diagnóstico precoz de toxoplasmosis en las mujeres embarazadas de la región noreste de Argelia, cuyo objetivo general fue comparar

el ELISA convencional y la Avidéz de IgG, con PCR usando cebadores B1 y P30 para el diagnóstico temprano de toxoplasmosis en mujeres embarazadas. Se recolectaron sueros de 143 mujeres embarazadas y se detectaron por ELISA IgG, IgM, IgA y Avidéz de la IgG anti-*Toxoplasma*. Se extrajo el ADN de 57 muestras de sangre periférica y 14 de líquido amniótico para la amplificación por PCR. Posteriormente los resultados arrojados fueron los siguientes: Un total de 57 (39,86%) de 143 mujeres fueron seropositivas: 30 (52,6%) fueron IgG + / IgM - y 27 (43,8%) fueron IgG + / IgM +; los anticuerpos IgA fueron positivos en 7 (12,2%) casos. La Avidéz de IgG fue baja en 9 mujeres, lo que sugiere una infección aguda, obtuvieron además 3 pacientes con Avidéz intermedia. En este estudio, hubo una infección reciente en 9 mujeres embarazadas se confirmó por la baja Avidéz índice encontrado por IgG Avidéz ELISA. De hecho, demostraron que un índice de baja avidéz asociado con IgG, IgM y / o la seroreactividad de IgA es un buen indicador de que se ha producido una infección aguda por *T. gondii* en los últimos 4 meses. Según los resultados de este estudio, la avidéz de IgG y las pruebas de PCR funcionaron mejor que el ELISA convencional para el diagnóstico de infección por toxoplasma en mujeres embarazadas. Cuando solo se usó ELISA convencional, 24,5% (14 de 57) se sospecharon infecciones agudas. Cuando se usó ELISA y se combinaron la avidéz de IgG, se detectaron 3 infecciones sospechosas (5,2%) arrojaron una avidéz intermedia. Cuando se usó ELISA Avidéz de IgG y resultados de PCR se combinaron, se pudo demostrar en el 15,7% de los casos (9 de 57) de infección aguda por toxoplasmosis de las mujeres embarazadas. Conclusión: la PCR combinada con la Avidéz IgG funcionó mejor que los ensayos ELISA IgG, IgM y / o IgA solos. PCR fue útil en el caso de Avidéz intermedia.

En Zulia, Venezuela; en el año 2016, Ávila y colaboradores realizaron un trabajo de investigación denominado Despistaje de infecciones de transmisión vertical durante el embarazo. Entre los agentes tomados en consideración fueron *T. gondii*, el virus de la inmunodeficiencia humana

(VIH), el virus de la hepatitis B y C (VHB y VHC) y *Treponema pallidum*. Este trabajo identificó la presencia de infecciones de transmisión vertical durante el periodo noviembre 2013 a mayo 2014. Se trató de un estudio descriptivo, cuya muestra fue de 175 embarazadas entre los 14 a 43 años. El despistaje serológico se realizó detectando anticuerpos anti *Toxoplasma gondii* por HAI. El 27,4% de las mujeres embarazadas resultó positivo para la prueba, detectando títulos altos con mayor frecuencia durante el segundo trimestre en la dilución 1/512 (18,7%). Sin embargo, en el total de los trimestres del embarazo predominó este título de dilución para los anticuerpos, representado por un 31,2% de las embarazadas positiva, lo cual es indicativo de una infección toxoplásmica.

En Trujillo, Venezuela; en el año 2015, Rojas estudió la incidencia, factores de riesgo y secuelas oculares de toxoplasmosis en niños de la escuela Barbarita de la Torre del estado Trujillo, Venezuela. El investigador diagnosticó la incidencia, factores de riesgo y secuelas oculares de toxoplasmosis en niños de edad pediátrica durante el periodo 2014-2015. Se trató de un estudio descriptivo transversal exploratorio de campo experimental, en el cual se analizaron 40 muestras sanguíneas de escolares de ambos géneros con edades comprendidas entre los 5 a 13 años de edad y 160 muestras sanguíneas de familiares. El examen serológico se realizó mediante ELISA para la detección de IgM e IgG. Resultados: 16 escolares (8%) resultaron con serología positiva IgG para toxoplasmosis. De los familiares estudiados, 19 (9.50%) resultaron con serología positiva IgG para toxoplasmosis, la mayoría correspondía al género femenino. A todos los escolares y sus familiares con serología positiva se les practicó el examen de fondo del ojo dando como resultado sin lesiones en las estructuras oculares, secuelas o daños que afectaran su visión para el momento que fueron examinados.

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Cuando se estaban realizando estudios sobre la lepra se observó en roedores *gondis* del cañón de Toujane la presencia de unos pequeños animales que llamaron la atención por su postura erecta y suplicante. Se trasladaron estos roedores desde Túnez al Instituto Pasteur, Francia, donde estudiaron impresiones de hígado y bazo encontrando en ellos unas formas parasitarias libres o incluidas en células. El parásito inicialmente se denominó *Leishmania*, porque presentaba núcleo único, por ende, se le asignó como nombre provisional *Leishmania gondii*. La denominación *gondii* se debía al animal que lo albergaba, que era *Ctenodactylus gondii* (es un pequeño roedor africano perteneciente a la familia de los octodontilos) (Hirt, 1976).

El 26 de octubre de 1908, Nicolle y Manceaux, envían el informe a la Academia de Ciencias de Paris dando cuenta del descubrimiento e indican que es el productor de todas las infecciones tanto humanas como de animales, demostrando ser el protozoo parásito más difundido de cuantos se conocen (Hirt, 1976).

Investigadores hallaron en distintos animales, parásitos unicelulares que morfológicamente se asemejaban a los descubiertos por Nicolle y Manceaux, los catalogaron con el género *Toxoplasma* seguido de la designación del animal en el que se había observado (*canis*, *columbae*, *avinum*, *gallinarum*, entre otros) (Hirt, 1976).

Posteriormente en 1923 Janku encuentra el parásito en el ojo humano mediante necropsia en un niño con hidrocefalia. Al mismo tiempo Wolf y Cowen documentan por vez primera el mecanismo de transmisión congénita en humanos (Galván, 2014).

En 1940 Pinkerton y Weinman reportan los primeros casos mortales por toxoplasmosis en adultos. Mientras que en 1954 Weinman y Chaulder sugieren que la transmisión ocurre por la ingestión de carne mal cocida; Sin embargo, en 1959 Rawal demuestra que la seroprevalencia a *T.*

gondii en vegetarianos es semejante a la de poblaciones no vegetarianas (Galván, 2014).

Por otra parte, en ese mismo año Colás y Nicolle, establecen la correcta identificación del nuevo parásito y su encasillamiento taxonómico (Hirt, 1976).

Hutchinson en 1965 describe por vez primera la existencia de ooquistes de *T. gondii* en las heces de gatos, reconociendo una transmisión fecal. Así mismo, en 1976 Ruskin y Remington describieron casos de encefalitis en huéspedes inmunocomprometidos con cáncer y trasplantados (Galván, 2014).

BASES TEÓRICAS

Agente etiológico

Este parásito pertenece al Subreino *Protozoa*, al Phylum *Apicomplexa*, Clase *Sporozoa*, Subclase *Coccidia*, Orden *Eucoccidiida*, Suborden *Eimeriina*, Familia *Sarcocystidae* y Subfamilia *Toxoplasmatina* y Género *Toxoplasma*, Especie *Toxoplasma gondii*. El nombre del género se deriva de la palabra griega *toxon*, que significa arco, por su morfología curva o medialuna (Grandía, Entrena y Cruz, 2013).

Es un protozoo de vida intracelular obligatoria que mide de 5 μm a 7 μm de longitud y de 2 μm a 3 μm de ancho, se presenta como un organismo unicelular de forma ovoide, posee una extremidad redondeada y la otra deshilachada. Parásito del protoplasma celular y nunca del núcleo, se reproduce por división binaria y esta acontece en el interior de las células o de los quistes. Posee movimientos que le permiten atravesar las membranas celulares y acceder al ámbito protoplasmático (García, 2012).

Ciclo biológico del *Toxoplasma gondii*

El ciclo biológico del parásito se desarrolla en dos tipos de huéspedes: el huésped definitivo que comprende todos los felinos, incluido el gato doméstico, y el huésped intermediario, que son todos los animales de sangre caliente (incluido el humano) (Muñiz y Mondragón, 2009).

El ciclo de replicación sexual inicia cuando algún felino (hospedador definitivo) ingiere una presa infectada con quistes tisulares (forma infectiva que contiene al bradizoíto). Por acción de las enzimas digestivas intestinales se liberan las formas infectivas del parásito que invaden a los enterocitos del intestino del felino, una vez dentro de las células, crecen adquiriendo un aspecto ameboide, los trofozoítos, que pronto dividen su núcleo y cada porción nuclear se rodea con una parte citoplasmática. Así queda constituido el esquizonte inmaduro, que luego madura hasta formar numerosos merozoítos. Los zoítos invaden la superficie epitelial del intestino y se diferencia a través de gametogonia (reproducción sexual) en macrogametos y microgametos, los cuales originan los ooquistes que serán expulsados de forma no esporulada junto con las heces durante semanas al medio ambiente, en donde bajo condiciones adecuadas esporula en 2-3 días produciendo en su interior 8 esporozoítos; el ooquiste así maduro se convierte en la forma infecciosa. Millones de ooquistes son producidos y liberados por los felinos a través de las heces, contaminando suelo, hortalizas y fuentes de agua. La reinfección posterior del felino no suele dar lugar a una nueva eliminación de ooquistes (Atías, 1991).

El ciclo de replicación asexual se desarrolla en el hospedador definitivo y en los huéspedes intermediarios, los cuales pueden infectarse mediante el consumo de ooquistes esporulados o de quistes tisulares presentes en los tejidos de otros huéspedes intermediarios (Muñiz y Mondragón, 2009).

Una vez ingerido el ooquiste se liberan los esporozoítos, los cuales rápidamente se diferencian a taquizoítos, la forma móvil, altamente dinámica e invasiva que atraviesa eficientemente el epitelio intestinal y

ganglios linfáticos adyacentes y pasan al torrente circulatorio invadiendo diversos tejidos hasta que se establece la respuesta inmunológica del hospedador. Cuando se alcanza una célula, se transforman en bradizoítos, los cuales segregan precipitados granulares que se adosan a la membrana vacuolar circundante. Esta membrana se expande lentamente, a medida que se multiplican con su interior los quistozoítos. Por último, al fusionarse las granulaciones, se forma una membrana sólida, la membrana quística (Ausina y Moreno, 2005).

Transmisión de *Toxoplasma gondii*

Los quistes y los ooquistes son las dos formas del *Toxoplasma* que intervienen en la transmisión de la enfermedad al humano y los animales. La resistencia de ambos estadios a diferentes agentes externos permite comprender la alta frecuencia de la infección en la naturaleza (Becerril, 2005).

Los modos de transmisión de la infección por *T. gondii* al hombre y los animales son los siguientes:

- Por ingestión o manipulación de carne cruda o mal cocida (en especial cerdo y cordero) que contienen quistes tisulares.
- Por ingerir agua, vegetales, frutas o también otros elementos (tierra o arena) contaminados con ooquistes que se excretan en las heces de felinos con la infección.
- A través de la placenta, cuando ocurre infección activa de la madre durante el embarazo.
- Accidentalmente por inoculación en el laboratorio, o manipulación de animales infectados, en cuyo caso el hombre puede recibir taquizoítos que le producen una infección aguda.
- Por transfusiones o trasplantes, al recibir los parásitos o células y tejidos con *Toxoplasma* (Botero y Restrepo, 2003).

Toxoplasmosis congénita

Se transmite de la madre al feto, cuando adquiere la parasitosis durante el embarazo, ya que el parásito es capaz de alcanzar la placenta por vía sanguínea, invadiendo y multiplicándose en las células placentarias y con el tiempo gana acceso a la circulación fetal. En esta parasitosis se considera el sistema nervioso como la sede de los principales síntomas y signos: macrocefalia o microcefalia, retinocoroiditis, retraso mental y calcificaciones intracraneales (Atias, 1991).

Así mismo, la toxoplasmosis congénita es la menos frecuente pero la más severa. La mayoría son asintomáticas durante el nacimiento (75% a 80%); sin embargo, la casi totalidad de ellos presentará secuelas durante su vida, principalmente oculares (coriorrenitis) y del sistema nervioso central (Atias, 1991).

La sintomatología del recién nacido depende del momento en que se produjo la infección. Si esta ocurrió al comienzo del periodo fetal sufrirá las fases aguda y subaguda *in utero*, por ende, él feto nacerá con secuelas a nivel cerebral y óptico. En los casos de infección en fecha muy cercana al parto, la aparición de las manifestaciones clínicas es tardía durante los primeros meses de la vida y son los casos más frecuentes (Hómez, Soto, De Soto, Méndez y Marmoll, 1995).

Toxoplasmosis adquirida

Puede ser asintomática (90% de los casos) y sintomática, dividida en aguda y crónica (Hómez y cols., 1995).

Toxoplasmosis adquirida aguda

Se puede observar un amplio espectro de manifestaciones clínicas. La mayoría de las cuales son inespecíficas: fiebre moderada, mononucleosis, exantema, adenopatías, astenia, cefalea, mialgia, hepatitis, neumonía o encefalitis. Se caracteriza por una parasitemia transitoria con intenso parasitismo tisular puesto que los taquizoítos se distribuyen por vía hemática y linfática hacia todos los tejidos. En los órganos afectados ocurre necrosis con reacción mononuclear circundante, la cual desaparece con el establecimiento de la inmunidad adaptativa (Giraldo, 2008).

Toxoplasmosis adquirida asintomática

La fase crónica de la toxoplasmosis adquirida es asintomática y se caracteriza por la persistencia, durante toda la vida del hospedero inmunocompetente, de quistes tisulares que se ubican preferencialmente en el músculo esquelético, el sistema nervioso central y el ojo. Los quistes están constituidos por bradizoítos viables, los cuales no inducen reacción inflamatoria en el tejido adyacente (Giraldo, 2008).

Inmunidad del organismo a la Toxoplasmosis

La infección por *T. gondii* genera una respuesta inmune que protege contra cualquier reinfección; sin embargo, se considera que esta inmunidad no es estéril, pues hay quistes que sobreviven en diversos tejidos durante toda la vida del huésped (Becerril, 2005).

Una inmunidad de tipo humoral y celular contra el parásito aparece después de la infección. La inmunidad humoral puede demostrarse por la

presencia de anticuerpos IgM o IgG en el suero; la aparición de anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma* se observa 1 a 2 semanas después de la infección. Los anticuerpos IgG aparecen más tarde, de 2 a 3 semanas después de la infección primaria. Los quistes del *T. gondii* deben pasar la barrera natural del jugo gástrico, después de multiplicarse en el intestino, los taquizoítos se propagan a los ganglios mesentéricos y, por vía linfohematógena, invaden los macrófagos y otras células nucleadas (Becerril, 2005).

La infección por *T. gondii* genera una respuesta fuerte y persistente de células T-colaboradoras-1 (Th1), caracterizada por la producción de citoquinas proinflamatorias como interleucina 12 (IL-12), interferón γ (IFN- γ), factor de necrosis tumoral α (TNF α). La acción combinada de estas tres citoquinas con otros mecanismos inmunológicos protege al huésped contra la rápida replicación de los taquizoítos y posteriores cambios patológicos. Luego de la invasión del enterocito, el *T. gondii* infecta las células presentadoras de antígeno en la lámina propia del intestino e induce una respuesta transitoria y local de Th1. Los linfocitos T CD4+ y CD8+ sensibilizados son citotóxicos para células infectadas con *T. gondii*. En las 2 semanas posteriores a la infección se puede detectar: IgG, IgM, IgA e IgE, las cuales actúan como anticuerpos contra muchas de las proteínas del *T. gondii*. La producción de IgA en la superficie de la mucosa gastrointestinal aporta protección contra una reinfección en el huésped (Díaz y cols., 2010).

Los taquizoítos son eliminados por las células por diferentes mecanismos. Las células activadas son IFN- γ destruyen a los taquizoítos por algunos radicales generados durante el estado respiratorio, así como por el óxido nítrico (ON), los cuales son tóxicos para los parásitos; por otra parte, los linfocitos T CD8+ eliminan a células infectadas con el parásito por mecanismos clásicos de citotoxicidad (Becerril, 2005).

Epidemiología

La toxoplasmosis es una parasitosis ampliamente distribuida a nivel mundial. Se calcula que entre el 10% y el 25% de la población mundial se encuentra infectada, no obstante, la prevalencia en las diferentes regiones del mundo varía de acuerdo con factores económicos, sociales y culturales (Giraldo, 2008).

Algunos reportes señalan a Brasil como el país con más casos de coriorretinitis ocasionada por infecciones por *T. gondii*. En países europeos con alto nivel higiénico se han reportado entre 30 y 50% de infecciones en la población adulta, especialmente en lugares donde se acostumbra a comer carne vacuna, caprina u ovina cruda y/o semicruda. De igual forma, se ha notificado que alrededor de 50 y 90% de los individuos de diferentes zonas de América han tenido contacto con el parásito, encontrándose en América Latina mayor incidencia, con excepción de las áreas sureñas y las islas del Caribe (Fernández y cols., 2018).

En contraste, en Asia se han reportado prevalencias bajas, como en Corea del 0,8% y en Vietnam del 11,2%. En ciudades como India, Malasia y Nepal se presentan prevalencias del 41,8% hasta el 55,4%. Con respecto al continente americano, en Brasil y Cuba se han reportado en mujeres embarazadas prevalencias de anticuerpos contra *T. gondii* del 74,5% y 70,9% respectivamente (Muñiz y Mondragón, 2009).

En Venezuela un grupo de investigadores reportaron que alrededor de 60% de la población aparentemente sana muestra infección toxoplásmica y aproximadamente entre 25 y 50% de las gestantes son seropositivas, observándose mayor número de casos en las mujeres que comprenden edades reproductivas entre 16 y 25 años (Fernández y cols., 2018).

Manifestaciones clínicas

En los individuos cuyo sistema inmunitario es competente la infección es casi siempre asintomática. En algunos casos, o en los individuos inmunodeficientes, se observa toxoplasmosis sintomática. Los síntomas son muy variables e inespecíficos e incluyen fiebre, malestar general, linfadenopatías, miocarditis y encefalitis; todos los cuales son comunes a muchas otras enfermedades infecciosas, lo que dificulta el diagnóstico. La infección por *Toxoplasma gondii* puede persistir durante toda la vida del huésped sin ninguna complicación (Becerril, 2011).

Además, la inmunidad anti-*Toxoplasma* protege al individuo contra cualquier reinfección por toda la vida; sin embargo, en los individuos cuya respuesta inmune se encuentra suprimida o deficiente, la toxoplasmosis puede ser grave, con consecuencias fatales, siendo la infección del sistema nervioso la más frecuente. La consecuencia de la toxoplasmosis congénita son variables según la etapa del embarazo en la cual se contrae la infección, mientras más temprana es la etapa en la que se contrae, más grave son las consecuencias (Rosso, Agudelo, Isaza y Montoya, 2007).

Diagnóstico de la toxoplasmosis

La toxoplasmosis es una enfermedad de difícil diagnóstico parasitológico, pues no es fácil demostrar el agente etiológico y establecer la relación entre infección y enfermedad. El diagnóstico clínico es difícil de establecer dada la ausencia o poca especificidad de los síntomas, en mujeres asintomáticas el único signo de infección primaria durante el embarazo es la seroconversión vía detección de inmunoglobulina G (IgG) e inmunoglobulina M (IgM) (Ausina y Moreno, 2005).

El diagnóstico de la toxoplasmosis humana puede hacerse por métodos directos o indirectos. Los métodos directos se basan en la demostración de formas parasitarias completas o su material genético en

fluidos o tejidos corporales. Los métodos indirectos se basan en la demostración de la presencia de anticuerpos específicos contra el parásito (Giraldo, 2008).

Dicha demostración serológica, es muy compleja principalmente por la persistencia de IgM y por la dificultad en la interpretación de la respuesta inmunológica en inmunodeprimidos y recién nacidos (RN). Es necesario la combinación de pruebas serológicas para establecer una toxoplasmosis activa, con la detección de anticuerpos específicos, para definir la etiología de la enfermedad. Generalmente se usan las pruebas de coloración de Sabin-Feldman (S-F), inmunofluorescencia indirecta (IFI), hemaglutinación indirecta (HAI), fijación del complemento (FC), aglutinación directa (AD) y ensayos de inmunoabsorción enzimática (ELISA) (Acha y Szyfres, 2003).

La demostración indirecta de *T.gondii* se hace por la búsqueda de anticuerpos. Su presencia indica infección, pero no necesariamente enfermedad. Estas pruebas serológicas evidencian la presencia de inmunoglobulinas específicas tipo IgG, IgM, IgA o IgE. Es importante conocer la cinética de aparición de los anticuerpos y el tiempo de duración de cada isotipo de inmunoglobulina para realizar la interpretación de las pruebas serológicas y datar el inicio de la infección (Montoya, 2002).

Anticuerpos IgG: la presencia de anticuerpos IgG implica que ha habido contacto entre el paciente y el parásito en algún momento de la vida. Aparecen de modo habitual dentro de las primeras 2 semanas de la infección, con un pico prominente a los 1-2 meses, luego disminuyen y persisten casi siempre durante toda la vida, son capaces de atravesar la placenta y por tanto la presencia de IgG en el recién nacido puede ser por paso a través de la placenta y no necesariamente por infección intrauterina (Ángel y Ángel, 2000).

Anticuerpos IgM: su producción se inicia antes de la IgG, y por tanto es la que condiciona la respuesta inmunológica primaria, que se explica

inmunológicamente por su constitución bioquímica. Alcanza los niveles máximos en los primeros 21 días de la infección, por ende, es de gran utilidad para la detección de esta enfermedad y es de vital importancia su clasificación. En casi todos los pacientes, la IgM se hace negativa al año de la infección, pero casi nunca antes de los 5 meses. En algunos casos los títulos de anticuerpos IgM pueden persistir elevados por más de un año (se han descrito hasta 12 años), pero por lo general con títulos bajos (Rosso y cols., 2007).

Anticuerpos IgA: considerado también como un marcador de fase aguda, se ha comprobado que al igual que la IgM puede permanecer positivo varios meses después de la primoinfección. En el adulto, la cinética de la IgA específica es prácticamente paralela a la de la IgM, aunque aparece un poco más tarde y desaparece más precozmente. Los anticuerpos IgA aparecen 2 semanas después de la IgM y persisten de 6 a 8 meses luego de la primoinfección; la tasa más alta se alcanza al mes (Montoya, 2002).

Anticuerpos IgE: algunos estudios iniciales sugieren que las IgE anti-*Toxoplasma* aparecen pronto, al inicio de la enfermedad y desaparecen más rápidamente que los anticuerpos de las clases IgM e IgA. La IgE son más precoces y alcanzan un nivel máximo de 15 días a tres semanas (Montoya, 2002).

El diagnóstico de la toxoplasmosis también puede requerir algunas pruebas complementarias de acuerdo con los órganos afectados, así por ejemplo, para la encefalitis toxoplásmica se utiliza la tomografía axial computarizada y la resonancia magnética nuclear, y para la toxoplasmosis ocular se utiliza la evaluación exhaustiva del fondo de ojo realizada por un especialista bien entrenado (Giraldo,2008).

Tratamiento

Los medicamentos se encargan de tratar la infección activa y controlar la sintomatología, especialmente en la fase aguda de la enfermedad. (Botero y Restrepo, 2003).

Pirimetamina y sulfoamidas: Se administran conjuntamente. La pirimetamina tiene acción sobre los parásitos al intervenir en el metabolismo del ácido fólico, hacia ácido folínico, se presenta en tabletas de 25 mg y se administra por vía oral. Sulfoamidas: se disuelve en los líquidos intracelulares. Se administra una carga inicial de 75 mg/kg hasta 4 g, durante 4 semanas junto con la pirimetamina (Botero y Restrepo, 2003).

Espiramicina: recomendado para reducir la frecuencia de transmisión fetal de *T. gondii*. Tiene buena concentración en la placenta, no atraviesa la barrera placentaria y por lo tanto no trata al feto. La dosis administrada a la mujer embarazada es de 3g diarios por vía oral, repartidos en varias dosis (Botero y Restrepo, 2003).

Clindamicina: principalmente en el tratamiento de la toxoplasmosis ocular, para la cual se administra por vía oral 300mg cada 6 horas durante un mínimo de 3 semanas (Botero y Restrepo, 2003).

Operacionalización del Evento de Estudio y del Criterio de Análisis.

Tabla Nº 1. Operacionalización del Evento de Estudio

1.Evento de estudio	2.Definición conceptual	3. Definición operacional	4.Dimensiones	5.Indicador
Anticuerpos anti-<i>Toxoplasma gondii</i>	Proteínas producida por el sistema inmunitario cuando detecta sustancias dañinas (Antígenos), que son presentes en microorganismos patógenos tales como bacterias, parásitos, hongos y virus, así como también químicos.	<p>Los anticuerpos específicos en contra de la toxoplasmosis son: IgM e IgG.</p> <p>-IgM: Su producción se inicia antes de la IgG, y por tanto es la que condiciona la respuesta inmunológica primaria. En la enfermedad por <i>Toxoplasma gondii</i> es indicativa de la fase aguda, por ende es de gran utilidad para la detección de esta enfermedad.</p> <p>-IgG: Es indicativo del contacto con el parásito en algún momento de la vida. Son capaces de atravesar la placenta y por tanto la presencia de IgG en el recién nacido puede ser por paso a través de la placenta y no necesariamente por infección intrauterina.</p>	<p>Los anticuerpos estarán presentes si el individuo ha estado en contacto con el <i>Toxoplasma gondii</i>.</p> <p>IgM: Contacto reciente con el parásito.</p> <p>IgG: Contacto en algún momento de la vida con el parásito</p>	<p>-Presencia de anticuerpos en sangre: Presencia de la infección por <i>Toxoplasma gondii</i></p> <p>-Ausencia de anticuerpos en sangre: No se presenta la infección por <i>Toxoplasma gondii</i>, por ende deben titularse cada trimestre durante el embarazo.</p>

Fuente: Propia de los autores.

Tabla N° 2. Operacionalización del Criterio de Análisis

1.Criterio de análisis	2.Definición conceptual	3.Definición operacional	4.Dimensiones	5.Indicador
Método de hemaglutinación indirecta	Se fundamenta en la capacidad de aglutinación que producen los eritrocitos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del parásito al reaccionar con los anticuerpos anti- <i>T. gondii</i> producidos por el organismo	La hemaglutinación se evidencia si la muestra posee los anticuerpos específicos contra el <i>T. gondii</i> que van a reaccionar con los glóbulos rojos sensibilizados	Presencia o ausencia de anticuerpos anti- <i>T. gondii</i>	-Presencia de anticuerpos se evidencia al producirse aglutinación a partir de la dilución 1/16 de los pocillos de la policubeta. -Ausencia de anticuerpos se evidencia por la sedimentación de los glóbulos rojos sensibilizados en el fondo de los pocillos en forma de botón.
Avidez de la IgG	Se fundamenta en la fuerza de unión que existe entre el anticuerpo (paratope) y los determinantes antigénicos (epítomos) de la proteína de <i>T. gondii</i>	La fuerza de la unión se determina a través de la de la división de la DO de los pozos tratados con urea, entre la DO de los pozos tratados con PBS-T, multiplicados por 100%	-Avidez alta. -Avidez intermedia -Avidez baja	Un porcentaje de Avidez mayor al 35% indica una alta Avidez. Un porcentaje de Avidez entre 30 y 35% indica Avidez intermedia. Un porcentaje de Avidez menor al 35% indica Avidez baja

Fuente: Propia de los autores.

Definición de términos

Apicomplexa

Son protozoos parásitos intracelulares obligados que poseen una estructura o complejo apical, el apicoplasto, especializado para la penetración al interior de las células que parasitan. Todos los apicomplexa presentan fases de reproducción asexual y sexual (Guillem, 2013).

Coriorrenitis

Es usualmente la secuela tardía de una infección adquirida en el útero, aunque también ocurre por una infección aguda adquirida en individuos inmunocompetentes. Produce síntomas de visión borrosa, escotomas, dolor, fotofobia y epifora (González, Díaz y Pérez, 1999).

Inmunoglobulinas

Son proteínas plasmáticas sintetizadas por los linfocitos B en respuesta a la presentación de un antígeno que reacciona específicamente, actúan como anticuerpos para la defensa particular del organismo (Mamani y Tito, 2011).

Ooquiste

Miden 10x12 μm aproximadamente, son de forma ovoide y contienen esporozoitos. Sólo se producen en los hospederos definitivos como resultado de la fase sexual del parásito en el intestino de los felinos (Giraldo, 2008).

Taquizoítos

Taquizoítos (del griego tachy: rápido) o trofozoitos. Miden de 2 a 4 μm de ancho y de 4 a 8 μm de largo. Pueden tener forma oval o de luna creciente, y son la forma asexual invasiva del parásito (Giraldo, 2008).

Quistes

Poseen un diámetro entre 10 y 200 μm y contienen miles de bradizoitos, los cuales persisten durante la vida del hospedero en los diferentes tejidos (tienen preferencia por cerebro, músculo esquelético y cardíaco (Giraldo, 2008).

Protozoos

Son microorganismos unicelulares, eucariotas y heterótrofos. Desde el punto de vista estructural presentan elementos propios de las células eucariotas, pero su tamaño, forma, y fisiología son muy variables entre los diversos grupos de protozoarios. Carecen de pared rígida por lo que pueden fagocitar algunos nutrientes. La mayoría son móviles, pero sus cilios y flagelos tienen una estructura compleja y diferente de las células procariotas. Poseen un tamaño variable entre 3 y 100 μm (Guillem, 2013)

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

La presente investigación es de tipo analítica. Al respecto, esta investigación tiene como propósito desglosar cada elemento para analizar la presencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en adolescentes embarazadas que asistieron a consulta obstétrica en el IAHULA, en el periodo febrero a marzo de 2018.

www.bdigital.ula.ve

Diseño de la Investigación

El diseño de esta investigación fue transeccional contemporáneo y univariable, ya que las muestras tomadas de adolescentes embarazadas que acudieron a consulta obstétrica en el IAHULA, fueron procesadas en el Laboratorio de Inmunología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes y en el Instituto de Inmunología Clínica (IDIC) de la misma Universidad.

Población y Muestra

Unidad de Investigación

El grupo de estudio estuvo representado por adolescentes embarazadas que acudieron a consulta obstétrica en el IAHULA durante el periodo comprendido entre febrero a marzo de 2018. Los criterios de inclusión fueron: pacientes femeninas que cursen con embarazo de edades comprendida entre 10 y 19 años, multiparidad, partos y abortos, que desconozcan si contrajeron toxoplasmosis antes o durante el actual embarazo y pacientes que autoricen por escrito su inclusión en el estudio.

Los criterios de exclusión fueron: mujeres que no autoricen ser incluidas en el estudio, de igual modo no se tomó en cuenta aquellas embarazadas que no estuviesen dentro del rango de edades seleccionadas como población de estudio.

www.bdigital.ula.ve

Selección del Tamaño Muestral

La n muestral estuvo representada por 30 adolescentes embarazadas que asistieron a consulta obstétrica en el IAHULA.

Metodología de la investigación

Para llevar a cabo la parte experimental de la investigación fue necesaria la utilización de materiales para la recolección de la muestra y el correcto diagnóstico de las inmunoglobulinas.

Materiales para el procesamiento de las muestras

Reactivo para la detección de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii*, por el método de hemaglutinación indirecta (HAI), denominado Toxotest (Wiener Lab ®) y Prueba de ELISA para Aidez de IgG, estandarizada por el IDIC.

Procedimiento para la recolección de muestra

Se extrajeron muestras de sangre, en condiciones de ayuno, se obtuvo el suero, el cual se transvaso a tubos secos, para ser guardados y congelados a -20°C, para posteriormente realizar el respectivo análisis.

Fundamento de los métodos.

- 1. Toxotest (HAI): Prueba de Hemaglutinación indirecta para la determinación de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*.** Se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos anti-*T. gondii* de producir aglutinación en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del parásito. El empleo de ambos tipos de antígenos incrementa la sensibilidad del método permitiendo la detección precoz de la infección. Tanto la presencia de anticuerpos heterófilos como la aparición de IgM, características del período agudo de la parasitosis, se investigan empleando tratamiento con 2-mercaptoetanol (2-ME) y eritrocitos no sensibilizados para control y absorción de heterofilia (Wiener Lab ®). Los anticuerpos heterófilos se absorben con eritrocitos no sensibilizados. En los sueros de pacientes con infección aguda tratados con 2-ME, se observa una caída del título en por lo menos dos diluciones comparados con los mismos sueros sin tratar con 2-ME (Wiener Lab ®).

Reactivos provistos

1. Reconstituyente HAI: solución fisiológica tamponada a pH 7.
 2. Antígeno HAI: liofilizado de glóbulos rojos de carnero sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de superficie de *T. gondii*.
 3. GR no sensibilizados: suspensión al 1% de eritrocitos de carnero no sensibilizados, para control y absorción de heterofilia.
 4. Buffer HAI: solución fisiológica tamponada con fosfatos a pH 7,5, con colorante inerte.
 5. Solución Proteica: solución de albúmina bovina.
 6. 2-Mercaptoetanol: ampolla conteniendo 2-mercaptoetanol (2-ME).
 7. Control Positivo: suero inactivado conteniendo anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii*.
 8. Control Negativo: suero no reactivo, inactivado.
 9. Policubeta.
- 2. Prueba de Aidez de IgG:** Se conoce como Aidez de IgG a la fuerza de afinidad que existe entre la IgG específica y el epítipo de la proteína de *T. gondii*, esta afinidad aumentaría con el tiempo, lo que permitiría discriminar si la infección es reciente (< 4 meses) o antigua (> 4 meses) (Canales, Navia, Torres, Concha, Guzmán, Pérez y García, 2010).

La prueba de Aidez IgG utiliza urea como agente disociador de la unión IgG-antígeno. A mayor aizdez, existe menor disociación de la unión antígeno-anticuerpo. El resultado es un índice que relaciona la densidad óptica (DO), obtenida en la muestra con agente disociante (aidez IgG) entre el valor de la DO sin agente disociante (PBS-T) por 100% (Canales y cols., 2010).

- Aidez baja: Valores menores a 30%, en estos casos, se trataría de casos agudos, en el cual la infección adquirió en los últimos 4 meses (Canales y cols., 2010).

- Aidez intermedia: Valores en 30 y 35% este rango permite descartar una infección reciente y se sugiere repetir la muestra en 15 días (Canales y cols., 2010).
- Aidez alta: valores mayores a 35% lo que indicaría una infección en fase crónica, y que el paciente la adquirió hace más de cuatro meses (Canales y cols., 2010).

Materiales y reactivos

1. Placas sensibilizadas con antígeno de *T.gondii*
2. Solución de PBS-Tween (PBS-T) a un pH de 7,2
3. Solución Urea al 6 Molar
4. Control positivo para IgG anti-*T. gondii*
5. Control negativo para IgG anti-*T. gondii*
6. Conjugado (inmunoglobulina anti IgG humana)
7. Sustrato (peróxido de hidrógeno)
8. Solución stop (H_2SO_4)
9. Pipeta multicanal
10. Estufa a 37°C
11. Espectrofotómetro para ELISA

Figura N° 1. Pasos para el procesamiento de las muestras por el método de HAI.

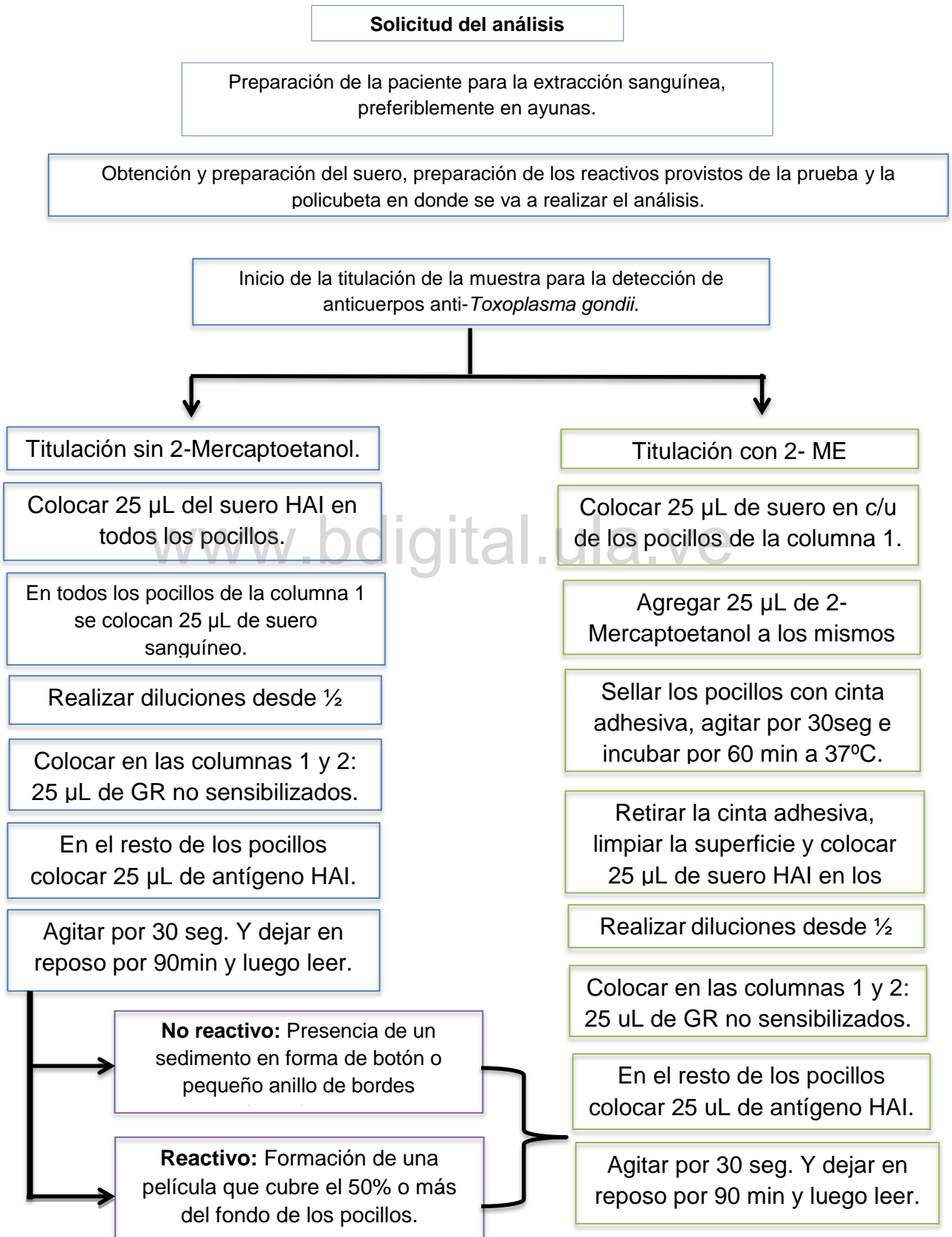
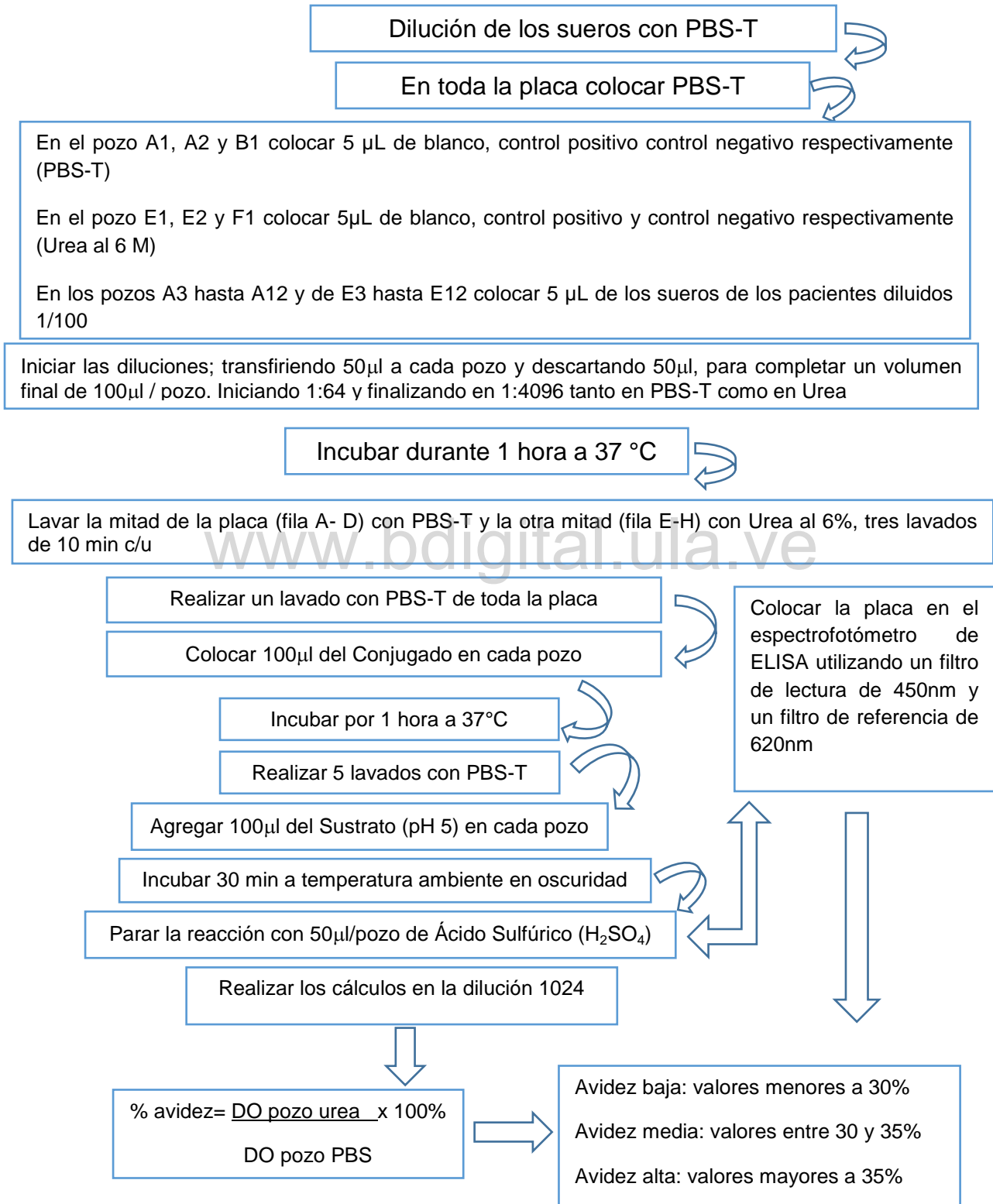


Figura N° 2. Pasos para el procesamiento de las muestras por el método de ELISA Aidez para IgG.



Instrumento de recolección de datos

Para la recolección de los datos se diseñó un formato tipo encuesta (Anexo N° 1), donde se recopiló la información mediante preguntas dicotómicas cerradas sobre los factores de riesgo que inciden directamente en la aparición de la toxoplasmosis. Aunado a esto, todas las pacientes voluntarias en el estudio firmaron las consideraciones éticas a través de un consentimiento informado escrito para cada una de las pacientes que asistieron a consulta. (Anexo N° 2). A cada una de las pacientes se le aplicó la encuesta, la cual, estuvo constituida por 21 ítems.

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versión 15.0. Los resultados de las variables cualitativas se presentaron en medidas de frecuencias mediante tablas y gráficos. Se realizó la prueba de independencia basado en distribución de Chi-cuadrado para determinar la relación estadística entre la entidad clínica, criterios de diagnóstico y edad de las pacientes, tomando en cuenta un valor de $p < 0,05$ para evaluar la significancia de las variables relacionadas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

En la tabla N° 3 se expresa la frecuencia con la que se presentan los anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* de acuerdo a su reactividad mediante la técnica de Hemaglutinación Indirecta en las adolescentes embarazadas. En un total de población estudiada de 30 pacientes (100%), se encontró que 10 pacientes resultaron reactivas (33,3%) mostrando positividad para este tipo de anticuerpos y 20 pacientes resultaron no reactivas (66,7%).

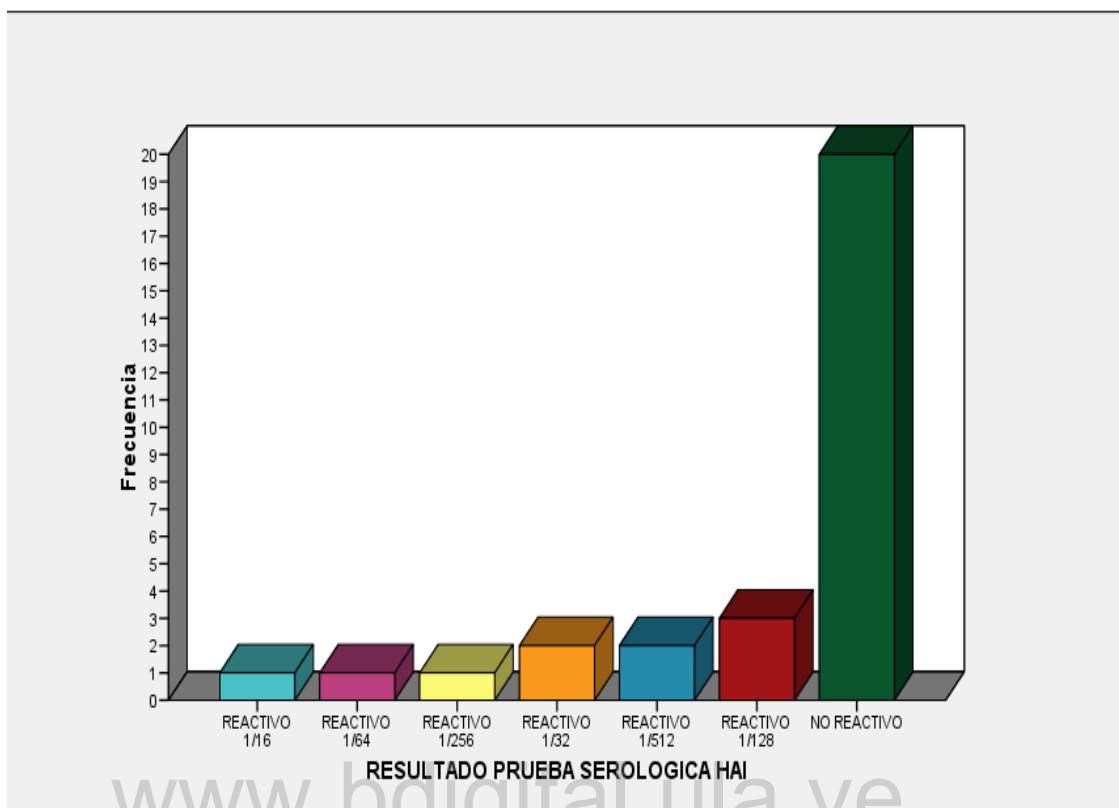
Tabla N° 3. Resultados de la prueba serológica por el método de HAI

	N	%
Reactivo	10	33,3
No reactivo	20	66,7
Total	30	100,0

Fuente: Propia de los autores.

En la gráfica N° 1 se muestra la distribución de los anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* de acuerdo a los diferentes títulos arrojados por el método de HAI; en el cual, el título 1/128 fue el más frecuente y estuvo presente en tres de las pacientes reactivas. Las otras diluciones más frecuentes fueron 1/32 y 1/512, que estaban presente en dos de las pacientes reactivas respectivamente. La dilución 1/16 estuvo presente en una de las pacientes reactivas, la dilución 1/64 estuvo presente en una de las pacientes reactivas y finalmente una paciente reactiva arrojó una dilución 1/256, para un total de 10 muestras reactivas.

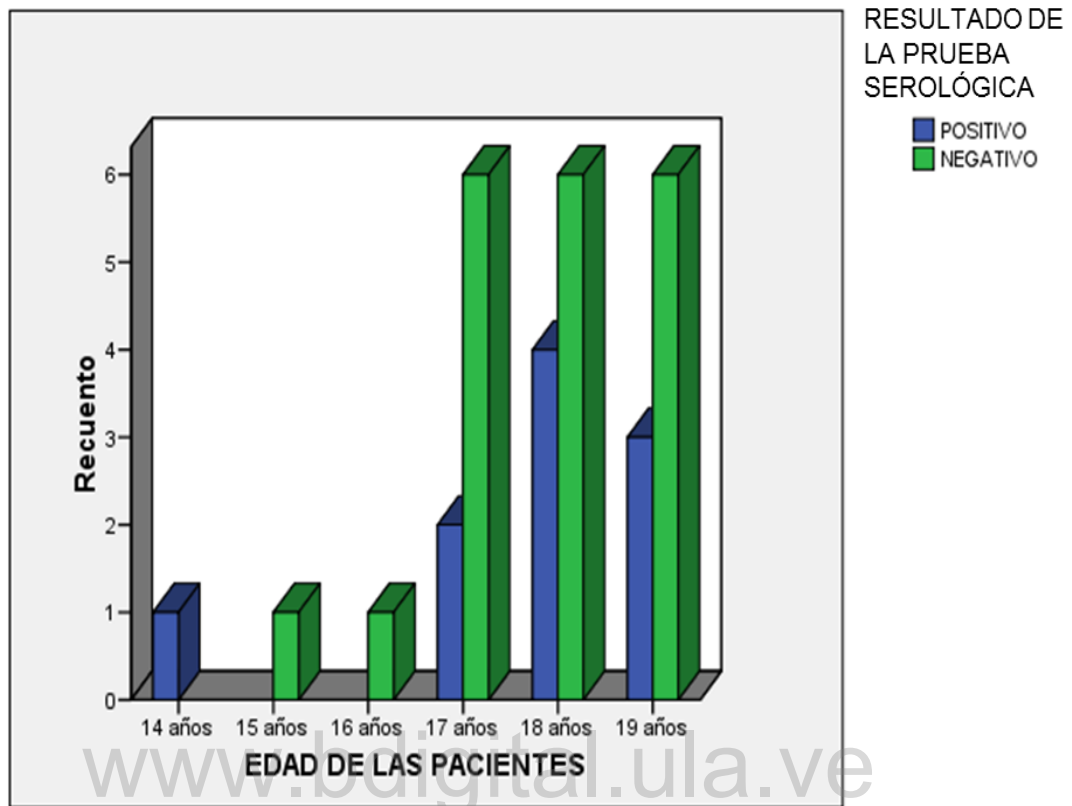
Gráfica N° 1. Distribución de las diluciones de los anticuerpos anti *T. gondii* por el método de HAI.



Fuente: Propia de los autores.

En la gráfica N° 2 se refleja la seropositividad obtenida por el método de hemaglutinación indirecta con respecto a las edades de las adolescentes embarazadas que formaron parte del estudio, observándose que 4 de las pacientes reactivas tenían 18 años de edad, 3 pacientes 19 años, 2 pacientes 17 años y finalmente una de las pacientes reactivas presentaba 14 años de edad siendo esta la paciente con menor edad con anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii*.

Gráfica N° 2. Distribución de los resultados de anticuerpos anti *T. gondii* por el método de HAI vs edad de las pacientes.



Fuente: Propia de los autores.

En la tabla N° 4 se presenta la distribución de los títulos por el método de HAI de acuerdo al trimestre de gestación del grupo estudiado. Siendo el tercer trimestre en el cual se ubicaron la mayoría de las pacientes reactivas. Los títulos correspondientes al tercer trimestre de gestación fueron 1/16 y 1/512. Los ubicados en el segundo trimestre fueron 1/128 y 1/512. Tan solo una paciente se ubicó en el rango del primer trimestre cuyo título arrojado fue de 1/256. El análisis inferencial de correlación reveló que no existió significancia estadística entre las diluciones serológicas en el trimestre del embarazo ($p < 0,535$).

Tabla N° 4. Relación de las diluciones serológicas por HAI con respecto al trimestre de embarazo

	ETAPA GESTACIONAL			Total
	PRIMER TRIMESTRE	SEGUNDO TRIMESTRE	TERCER TRIMESTRE	
Diluciones de trabajo				
	1/16			1
	1/32			2
	1/64			1
	1/128		1	2
	1/256	1		1
	1/512		1	1
	NO REACTIVO	3	3	14
	Total	4	5	21
				30

Fuente: Propia de los autores.

En la tabla N° 5 se observa que de las 10 pacientes reactivas para anticuerpos anti-*T. gondii*, 7 (70%) de ellas arrojaron mediante prueba IgG- Aidez por el método de ELISA indirecto, positividad para IgG anti-*Toxoplasma gondii*; todas con Aidez alta: 78%, 85%, 93% ,107%, 110%, 142% y 226% respectivamente. Tan solo 3 (30%) pacientes arrojaron la presencia de anticuerpos totales.

Tabla N° 5. Resultados de las pruebas de Aidez de las pacientes reactivas para anticuerpos anti *T. gondii*.

	N	%
Valores de Aidez IgG		
78%	1	10
85%	1	10
93%	1	10
107%	1	10
110%	1	10
142%	1	10
226%	1	10
Anticuerpos totales	3	30
Total	10	100,0

Fuente: Propia de los autores.

En la tabla N° 6 se compara la relación entre los títulos de anticuerpos por HAI contra el porcentaje de Avidéz mediante la técnica de ELISA. Se pudo constatar que las pacientes con anticuerpos totales se relacionaron con diluciones menores a 1/32. Aquellas pacientes que poseían anticuerpos IgG anti *T. gondii* con elevada Avidéz (>78%) se relacionaron con un mayor número al momento de hacer la dilución de la muestra sanguínea. Esto apunta a la correlación clínica de lo descrito en la literatura. Sin embargo, el análisis inferencial de correlación reveló que no existió significancia estadística entre la Avidéz según la dilución de la muestra ($p < 0,433$). Esto se explica por el bajo número de la muestra que se usó en este modelo de estudio

Tabla N° 6. Relación de los resultados de la prueba de Avidéz para IgG vs los resultados reactivos por el método de HAI.

	Diluciones serológicas en HAI						Total
	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	
78%		1					1
85%				1			1
93%						1	1
107%						1	1
110%					1		1
142%			1				1
226%				1			1
Anticuerpos totales	1	1		1			3
Total	1	2	1	3	1	2	10

Fuente: Propia de los autores.

En la tabla N° 7 se puede apreciar la seroprevalencia de *T.gondii* y la asociación a ciertos factores de riesgo en la población de estudio. Se pudo determinar que la mayoría de las adolescentes embarazadas que fueron positivas en la serología afirmaron ingerir agua potable, consumir cualquier tipo de carne, no poseer ningún animal doméstico o de cría, no haber estado con contacto con gatos y sus heces. No se encontró significancia estadística entre los distintos tipos de factores de riesgo

asociados a la infección con el valor serológico, tan solo en el tipo de carne que consumían las embarazadas ($p < 0,009$).

Tabla N° 7. Seroprevalencia de *T. gondii* y su asociación a factores de riesgo en adolescentes embarazadas que acudieron al IAHULA

Factor de riesgo	Opción	Resultado serológico		Total	Valor de p
		Reactivo	No reactivo		
Durante el embarazo ¿Ud. ha ingerido agua sin potabilizar?	Si	3	6	9	0,669
	No	7	14	21	
Total		10 (33,3%)	20 (66,7%)	30 (100%)	
¿Qué tipo de carne consume?	Res	2	0	2	0,009
	Pollo	0	1	1	
	Cualquiera	8	19	27	
Total		10 (33,3%)	20 (66,7%)	30 (100%)	
¿Qué tipo de animales tiene?	Perro	1	5	6	0,306
	Aves	1	0	1	
	Vacas	1	0	1	
	Varios	2	5	7	
	Ninguno	5	10	15	
Total		10(33,3%)	20 (66,7%)	30(100%)	
¿Ha estado en contacto con gatos?	Si	3	4	7	0,429
	No	7	16	23	
Total		10(33,3%)	20(66,7%)	30 (100%)	
¿Ha estado en contacto con heces de gatos durante el embarazo o anterior a este?	Si	3	4	7	0,503
	No	7	16	23	
Total		10(33,3%)	20(66,7%)	30 (100%)	

Fuente: Propia de los autores.

En la tabla N° 8 se expresa la relación entre los resultados de la prueba serológica con las preguntas de conocimiento referentes a la toxoplasmosis. Se observó a través de la encuesta que la mayoría de las pacientes adolescentes desconocían de la enfermedad (toxoplasmosis), como se transmitía y como podía afectar la salud del bebe. Cabe destacar

que con respecto a pruebas previas la mitad de las pacientes que resultaron reactivas ya se les habría practicado una prueba anterior para descartar la infección por toxoplasmosis.

Tabla N° 8. Relación del resultado de la prueba serológica por el método de HAI con las respuestas de conocimiento en relación a la infección por *T. gondii*.

Preguntas de conocimiento	Opción	Resultado serológico		Total
		Reactivo	No reactivo	
¿Conoce usted que es la toxoplasmosis?	SI	4	3	7
	NO	6	17	23
Total		10	20	30
¿Le han realizado antes la prueba de toxoplasmosis?	SI	5	11	16
	NO	5	9	14
Total		10	20	30
¿Sabe usted como se transmite la toxoplasmosis?	SI	3	2	5
	NO	7	18	25
Total		10	20	30
¿Sabe usted que la toxoplasmosis puede afectar a su bebe?	SI	4	10	14
	NO	6	10	16
Total		10	20	30

Fuente: Propia de los autores.

DISCUSIONES

La toxoplasmosis es una de las parasitosis zoonóticas más prevalentes en humanos y altamente difundida en América Latina, parte de Europa Oriental y Central, Medio Oriente, partes del Sureste de Asia y África. Esta infección se puede presentar como una infección connatal (transmisión vertical); sólo es relevante la infección intrauterina, vía transplacentaria. Las mujeres seropositivas para *T. gondii* previo al embarazo, tendrían protección inmunológica en caso de una re-infección durante la gestación; este concepto es, actualmente discutido, dadas las nuevas hipótesis para explicar la re-infección (Mímica, Muñoz, Torres y Padilla, 2015).

En la mayoría de los casos de toxoplasmosis se hace imprescindible el rastreo de anticuerpos frente a *T. gondii* como parte del control prenatal y con el propósito de detectar posible infección activa gestacional, para manejo posterior de la paciente evitando la infección fetal. La determinación serológica es parte de los métodos indirectos, útiles en pacientes inmunocompetentes, pero que en aquellos con compromiso inmune o sospecha de enfermedad activa (incluso en el caso de las gestantes), requiere de la demostración directa del parásito (mediante reacción en cadena de la polimerasa o cultivo) (Cárdenas, Lozano, Castillo, Cedeño, Galvis, Rios y Tórres, 2015).

A diferencia de lo que sucede en otras enfermedades, la IgM, aunque es marcadora de enfermedad aguda, puede permanecer positiva durante varios meses, dificultando la diferenciación entre infección aguda y antigua. También se pueden utilizar estrategias que permiten diferenciar una infección crónica de una aguda midiendo la Avidéz de la inmunoglobulina G (IgG), la presencia de isotipos específicos de anticuerpos como IgM, IgA, IgE o la aglutinación diferencial (AC/HS) (Cortés, Gómez, Silva, Arévalo, Arévalo, Álvarez y Gómez, 2012).

La seroprevalencia en este trabajo fue del 33,3% de las mujeres estudiadas. La toxoplasmosis a nivel mundial, continental y regional

puede ser muy variables. En Etiopia se ha reportado en 22,9%, a diferencia del 75,2% de Sao Tome y Príncipe. En Europa varía según el país desde 38% hasta 71% en Francia. En Asia presenta áreas con prevalencia importante como lo son India, Malasia y Nepal: 41,8% a 55,4%, prevalencia discreta como China: 7,9% a 10,6% y Vietnam: 11,2%, y países con prevalencia casi inexistente como Corea: 0,8%. La prevalencia serológica del continente americano se encuentra en rangos de: Estados Unidos 22,5%, Trinidad y Tobago 39,3%, El Salvador 75%, Brasil 66,3%, Chile 36,2%, Colombia 47,1%. En Venezuela la seroprevalencia promedio para *T. gondii* es mayor al 50% demostrado en varios estudios: Estado Zulia 65,57%, Estado Trujillo 69% y Estado Lara entre 38% y 43%. Está demostrado que la estadística aumenta en poblaciones indígenas cómo lo indican Díaz y colaboradores en el 2010.

Un estudio realizado recientemente en Colombia por Giraldo y colaboradores en el año 2019 reportaron una seroprevalencia global de 61,3% de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en mujeres menores de 18 años, la población fue similar en el rango de edad a la estudiada en esta investigación arrojando así una prevalencia mayor.

Aun cuando la seroprevalencia de estudio tendió a semejarse a valores nacionales como los del estado Lara en población en general; Fernández y colaboradores en el 2018 encontraron una seroprevalencia del 15,7%, mucho menor a la reportada en este estudio, y aún más comparada con la población general en Venezuela. Así mismo Ávila y colaboradores encontraron en el 2016, valores de seroprevalencia mayor al reportado por Fernández, pero inferiores al encontrado en este estudio, siendo la prevalencia de este autor del 27,4%. Por otro lado, Berredjem y colaboradores en el 2017 reportaron una seroprevalencia del 39,86% en su estudio, valores superiores a los discutidos en este párrafo y semejante a la media nacional e internacional. Es necesario señalar que las comparaciones que se hicieron en este estudio no son de grupos etarios homogéneos; pues si bien, los datos generados en el presente

estudio son de adolescentes embarazadas, y los demás datos son producto de mujeres adultas.

En cuanto a los resultados arrojados por el método de HAI en las muestras reactivas, la mayoría de estos datos se obtuvo en un rango de diluciones de 1/16 hasta 1/512. Se sabe que diluciones pequeñas es relativo a concentración baja de anticuerpos, en este caso dirigidos contra *T. gondii*. Un estudio reportado por Cárdenas y colaboradores en el 2015, detectaron anticuerpos en diluciones de 1:16 hasta 1:64; donde el hallazgo más importante fue que el 97% de los casos presentó títulos de IgG anti-*T. gondii* iguales o inferiores a 1:8. En este estudio, el título 1/128 fue el más frecuente y estuvo presente en 3 de las pacientes reactivas.

Con respecto a la prueba de Aidez, es frecuente que las mujeres embarazadas cuenten con perfiles de serología muy variables como lo son títulos de IgG muy altos sin antecedentes; con valores de anticuerpos hechos por distintos laboratorios con metodologías diferentes, donde no puede compararse ni hacerse el seguimiento correspondiente; valores de anticuerpos IgM en la línea límite por metodología ELISA, con o sin valores positivos de IgG o con valores negativos de anticuerpos IgG en pacientes sospechosos o con antecedentes. Para todas estas situaciones, la medida de la Aidez del anticuerpo IgG constituye una herramienta particularmente útil, ya que la primera respuesta a la infección se desarrolla con un anticuerpo IgG de muy baja avidéz, lo cual permite que la unión al antígeno específico sea fácilmente dissociada. Un índice de avidéz elevado descarta una infección reciente de toxoplasmosis dentro de los últimos cuatro meses. Por lo tanto, la detección de un alto índice de Aidez de IgG durante el primer trimestre excluye una infección aguda durante el embarazo para muchas mujeres que, de otro modo, con un resultado positivo de IgG e IgM específica podría ser falsamente identificada como poseedora de infección reciente. Los resultados se interpretan bajo este índice: valores mayores a 35%: alta Aidez; valores entre 30 y 35%: mediana Aidez y valores menores a 30%: baja Aidez (toxoplasmosis aguda) (Besterio, 2008).

En este trabajo se encontró que de las 10 pacientes que salieron reactivas en el diagnóstico de toxoplasmosis, el 70% contó con anticuerpos anti-*T. gondii* IgG con elevada Aidez. Como se describió en el párrafo anterior, valores altos de Aidez, indican que la infección fue crónica y que no existe mayor riesgo de complicaciones para el producto del embarazo, que la infección se encuentra en equilibrio con el sistema inmune de la mujer embarazada. Sin embargo, se encontró que el 30% de las mujeres arrojaron anticuerpos totales. El análisis de laboratorio junto a la experiencia sugiere que son anticuerpos IgM desarrollados como parte de infección reciente. Este dato se corrobora cuando se permuta la Aidez de los anticuerpos con respecto a la relación de las diluciones de las muestras que resultaron positivo en el estudio serológico. Se encontró que en aquellas mujeres que poseían anticuerpos totales las diluciones de las muestras estaban en el orden de 1/16 y 1/32; esto indica que la presencia de anticuerpos es menor y es deducción indirecta de la infección reciente de estas pacientes. El manejo de estas, debe ser más direccionado, pues el diagnóstico de la infección por toxoplasmosis se encontró en el tercer trimestre de la infección.

Un estudio realizado por Morales y colaboradores en el 2008, encontraron que 4 pacientes con índices de Aidez por debajo del 30% fueron IgM positivas, un resultado similar en este estudio. Este mismo autor encontró que el 63% de las mujeres embarazadas tenían menos de 16 semanas al momento de la prueba. A diferencia de este estudio donde la mayoría de las mujeres fueron diagnosticadas en el tercer trimestre, Morales y colaboradores evaluaron aquellas que apenas tenían 4 meses de embarazadas, es decir estaban ubicadas en el segundo trimestre. Giraldo y colaboradores en el 2019 en su estudio determinaron 17 (21,3%) pacientes con una Aidez alta para IgG, indicando que estas presentaban una infección pasada, a diferencia de este estudio, el realizado por Giraldo y colaboradores contaron con pacientes en edad fértil y no embarazadas. Es necesario resaltar que este estudio contó con la debilidad de no poder haber evaluado la seroconversión en este grupo

de pacientes; pues está indicado que luego de las 2-4 semanas de haber detectado, cuantificado y evaluado afección, se sugiere volver a repetir el procedimiento.

En este modelo de estudio se encontró que la mayoría de las adolescentes embarazadas que fueron positivas en la serología afirmaron ingerir agua potable, consumir cualquier tipo de carne, no poseer ningún animal doméstico o de cría, no haber estado con contacto con gatos y sus heces; es decir, que los factores de riesgo asociados a las condiciones clásicas no estuvieron presentes. Un estudio llevado a cabo por López y colaboradores en el 2005 demostró que el riesgo de infección por *Toxoplasma* aumentó en mujeres que reportaron comer carne cruda (el tipo de carne no fue discriminada) o a medio cocer (IC95%, $p=0,01$), consumir bebidas hechas con agua sin hervir (IC95%, $p=0,01$) y tener contacto con gatos menores de 6 meses (IC95 % indefinidos, $p=0,01$). En contraste, beber agua de bolsa, botella o botellón fue un factor protector (IC95%). El beber agua filtrada o de ozono fue hallado solo en 4 gestantes de los controles; sin embargo, las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- De los resultados obtenidos se pudo concluir que 33,3% de las pacientes, es decir, 10 adolescentes embarazadas resultaron seropositivas en el diagnóstico serológico por *T. gondii*.
- El título de dilución más frecuente fue el de 1/128 presente en 3 de las pacientes reactivas. Las otras diluciones más frecuentes fueron 1/32 en 2 de las pacientes y 1/512 que estaban presente en 2 de las pacientes reactivas.
- De las 10 pacientes reactivas para anticuerpos anti-*T. gondii*, 7 (70%) arrojaron elevada Aidez mediante prueba IgG- Aidez por el método de ELISA indirecto.
- Las pacientes con anticuerpos totales se relacionaron con diluciones menores a 1/32. Aquellas pacientes que poseían anticuerpos IgG anti *T. gondii* con elevada Aidez (>78%) se relacionaron con un mayor número de diluciones. No existió significancia estadística ($p < 0,433$).
- La mayoría de las adolescentes embarazadas seropositivas afirmaron ingerir agua potable 7 de 10 (70%), 8 de 10 (80%) pacientes afirmaron consumir cualquier tipo de carne, posteriormente 5 de 10 (50%) pacientes aseveraron no poseer ningún animal doméstico o de cría y finalmente 7 de 10 (70%) afianzaron no haber estado en contacto con gatos y sus heces. No

hubo significancia estadística entre los distintos tipos de factores de riesgo, solo en el tipo de carne para el consumo ($p < 0,009$).

- 26 de las 30 adolescentes desconocían acerca de la toxoplasmosis (86,6%), 25 de ellas no sabía cómo se transmitía la enfermedad (83,3%), y 16 pacientes manifestaron que ignoraban como podía afectar la salud del bebé este parásito (53,3%).
- Desde el punto de vista epidemiológico es de gran importancia puesto que se demuestra, una alta prevalencia de adolescentes que han estado en contacto con el parásito en algún momento de su vida.

www.bdigital.ula.ve

Recomendaciones

- Dado que se necesita diagnosticar toxoplasmosis aguda en la embarazada fundamentalmente en el primer trimestre, por sus graves consecuencias, y teniendo en cuenta que la determinación de los anticuerpos anti *T. gondii* por el método de HAI por sí solo no brindan confiabilidad total, la prueba de Aidez se presenta como una técnica breve, efectiva y segura para llevar a cabo, rápidamente, la mejor decisión terapéutica. Por ende, se sugiere promover en el personal médico, específicamente los relacionados en la atención de la salud reproductiva de la mujer, que conozcan el fundamento y la importancia de realizar la prueba de Aidez para evitar las complicaciones en el producto del embarazo.
- Establecer valores de referencia y de corte para este grupo vulnerable de pacientes a fin de conocer el comportamiento epidemiológico de la toxoplasmosis en el embarazo.
- Establecer sistemas de valoración en el IAHULA donde se realice una segunda detección de IgG para determinar la Aidez al cabo de 2 a 4 semanas y demostrar una variación en el título o concentración de anticuerpos.
- Impartir a las pacientes embarazadas del servicio de ginecología y obstetricia del IAHULA, charlas referentes a esta y otras enfermedades en las cuales puede estar en riesgo la vida del feto y la madre.

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS

- Acha, P., y Szyfres B. (2003). **Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales**. Washington, D.C: Editorial Organización Panamericana de la Salud.
- Acosta, M., Guillen, Y., Aria, L., Meza, T., Roig, C., Carpinelli M., y Díaz, C. (2010). **Concordancia entre las pruebas de ELISA avidéz IgG desarrollados en el Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud y un ELISA avidéz comercial**. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud, Vol. 8(2) 39-43. Recuperado el 20 de enero de 2020, de <http://scielo.iics.una.py/pdf/iics/v8n2/v8n2a07.pdf>
- Ángel, G., y Ángel, M. (2000). **Interpretación Clínica del Laboratorio**. Colombia: Editorial Médica Panamericana.
- Atias, A. (1991). **Parasitología Clínica**. Santiago de Chile: Editorial Mediterráneo
- Ausina, V., y Moreno, S. (2005). **Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**. Madrid- España: Editorial Médica Panamericana.
- Ávila A., Gómez M., Castillo E., Guerra M., Álvarez Y., Bastiste K. y Carrasco M. (2016). **Despistaje de infecciones de transmisión vertical durante el embarazo: Toxoplasmosis, VIH, Hepatitis B y C, Sífilis**. *Kasmera*, 44(2): 77-87. Recuperado el 30 de enero 2018 de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0075-52222016000200002&script=sci_arttext&tlng=pt
- Becerril F., Marco A. (2005). **Parasitología médica**. México D.F: Editorial McGraw-Hill Interamericana, S.A
- Berredjem H., Aouras, H., Benlaifa M., Bechecker, I., Reda, M. (2017). **Contribution of IgG avidity and PCR for the early diagnosis of toxoplasmosis in pregnant women from the north-Eastern región of Argelia**. *African health sciences*. Vol 17. Consultado el

25 de enero de 2020 de
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5656190/>

Besterio, S. (2008). **Diagnóstico de Toxoplasmosis aguda. Test de avidéz.** Anuario Fundación Dr. J. R. Villavicencio. Nº 8. p: 169-170. Recuperado el 28 de Enero de 2020 de: <http://www.villavicencio.org.ar/pdf08/169.pdf>

Botero, D., y Restrepo M. (2003). **Parasitosis Humanas.** Medellín-Colombia: Editorial Corporación para Investigaciones Biológicas.

Canales, M., Navia, F., Torres, M., Concha, M., Guzmán, A., Pérez, C. y García, P. (2010) **Evaluación de un test comercial de avidéz de IgG: Aporte al diagnóstico de primoinfección por Toxoplasma gondii.** Rev. Chilena de Infectología. 27 (6): 499-504. Recuperado el 01 de febrero de 2020, de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182010000700002

Cárdenas, D., Lozano, C., Castillo, Z., Cedeño, J., Galvis, V., Ríos, J., y Tórres, M. (2015). **Frecuencia de anticuerpos anti Toxoplasma gondii en gestantes de Cúcuta, Colombia.** Revista Médica Herediana, 26(4), 230-237. Recuperado el 04 de febrero de 2020, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2015000400005&lng=es&tlng=es

Carral, L., Kaufer, F., Pardini, L., Durlach, R., Moré, G., Venturini, M., y Freuler, C. (2018). **Toxoplasmosis congénita: Diagnóstico serológico, RPC, aislamiento y caracterización molecular de Toxoplasma gondii.** Rev. Chilena de infectología, 31(1), 36-40. Recuperado el 15 de enero de 2020, de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182018000100036

Cortés, A., Gómez, J., Silva, I., Arévalo, L., Arévalo, I., Álvarez, I., y Gómez, I. (2012). **Guía de atención integral para la prevención, detección temprana y tratamiento de las complicaciones del**

- embarazo, parto y puerperio: sección toxoplasmosis en el embarazo.** Rev. Asociación colombiana de infectología, 16(4), 230-246. Recuperado el 10 de octubre de 2017, de <http://www.revistainfectio.org/index.php/infectio/article/view/543>
- Díaz, L., Zambrano, B., Chacón, G., Rocha, A., y Díaz, S. (2010). **Toxoplasmosis y embarazo.** Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela, 70(3), 190-205. Recuperado el 9 de Octubre de 2016, de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0048-77322010000300006&lng=es&tlng=es
- Díaz, Z., Mauriello, L., Soto, M., Zavala, R., Aponte, M., Escobar, Y., Alarcón, B. (2010). **Diagnóstico de la Toxoplasmosis en la mujer embarazada y en el recién nacido.** Revista Tribuna del Investigador, 11 (1-2), 27-29. Recuperado el 3 de Diciembre de 2016, de <file:///C:/Users/documentos/Downloads/3186-7224-1-SM.pdf>
- Fernández, J., Villegas, B., y Vacaro, L. (2018). **Seroprevalencia de Toxoplasma gondii y factores asociados en mujeres en edad fértil de la Universidad de Carabobo, Venezuela.** Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, 16(1) 34-40. Recuperado el 07 de diciembre de 2019, de <http://servicio.bc.uc.edu.ve/fcs/cysv16n1/art04.pdf>
- Galván, M. (2014). **Toxoplasmosis Animal.** Guadalajara, México. Editorial Maya Ediciones. Recuperado el 2 de febrero de 2020 de https://www.researchgate.net/publication/298214396_Toxoplasmosis_Animal/link/5ab190d4458515ecebece5e3/download
- García, M. (2012). Atlas sucinto de parasitología. Editorial Biblioteca Ciencias de la Salud. Venezuela. pp 158
- Giraldo, B., Garzón, S., López, D., Cardozo, L., y Millán, N. (2019). **Seroprevalencia de anticuerpos anti-Toxoplasma gondii en mujeres menores de 18 años de una localidad de Colombia.** Ginecología y Obstetricia México. 87(6):356-361. Recuperado el 19

de febrero de 2020 de
<https://ginecologiayobstetricia.org.mx/article/seroprevalencia-de-anticuerpos-anti-toxoplasma-gondii-en-mujeres-menores-de-18-anos-de-una-localidad-de-colombia/>

Giraldo, M. (2008). **Toxoplasmosis**. Editorial Medica Colombiana. 14:359-375. Recuperado el 10 de diciembre de 2019 de <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2008/myl087-8c.pdf>

González, I., Díaz, M., y Pérez, J. (1999). **Coriorretinitis por Toxoplasma en niños**. Revista Cubana de Medicina Tropical, 51(2), 138-142. Recuperado en 26 de enero de 2017, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07601999000200016&lng=es&tlng=es.

Grandía, R., Entrena, A., y Cruz, J. (2013). **Toxoplasmosis en Felis catus: etiología, epidemiología y Enfermedad**. Revistas de Investigaciones Veterinarias del Perú, 24(2). Recuperado el 16 de enero de 2017 de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S160991172013000200001&script=sci_arttext

Guillem, P., (2013). **Microbiología y Parasitología Médicas**. España: Editorial Médica Panamericana.

Hirt, Juan, (1976). **Toxoplasmosis**. Argentina: Editorial Florida 340.

Hómez, J., Soto, R., De Soto, S., Méndez, H., y Marmoll, P. (1995). **Parasitología**. Maracaibo; Estado Zulia: Editorial de la Universidad del Zulia.

López, C., Díaz, J., y Gómez, J. (2005). **Factores de Riesgo en mujeres embarazadas, infectadas por Toxoplasma gondii en Armenia, Colombia**. Rev. Salud Pública. 7(2): 180-190. Consultado el 29 de noviembre de 2019, de <http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v7n2/v7n2a06.pdf>

Mamani, R., y Tito E. (2011). **Inmunoglobulinas**. Revista de Actualización Clínica Volumen 13, 663-666. Recuperado el 19 de septiembre de 2016, de

http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2304-37682011001000007&script=sci_arttext

- Mimica, F., Muñoz, C., Torres, M., y Padilla, O. (2015). ***Toxoplasmosis, zoonosis parasitaria prevalente en Chile: recuento y desafíos.*** Revista Chilena de Infectología, 32(5), 541-549. Recuperado el 28 de enero de 2020, de <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182015000600008>
- Montoya, T., (2002). ***Programa de Diagnóstico de Toxoplasmosis Materna en Armenia.*** Rev. Salud Pública vol. 4:23-28 .Recuperado el 12 de enero de 2020 de <http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v4s1/v4s1a05.pdf>
- Morales, E., y Gómez, J. (2008). ***Elaboración de una prueba de ELISA IgG de avidéz para Toxoplasma en el embarazo y correlación con IgM e IgA en el laboratorio del centro de investigaciones biomédicas de la Universidad del Quindío, 2008.*** Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología. 59 (3): 199 – 204. Recuperado el 15 de diciembre de 2019, de <http://www.scielo.org.co/pdf/rcog/v59n3/v59n3a04.pdf>
- Muñiz, S., y Mondragón, R. (2009). ***Toxoplasma gondii, un patógeno asesino re-emergente.*** Revista de Educación Bioquímica. 28(2): 52-58. México. Recuperado el 10 de enero de 2020, de <https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2009/reb092d.pdf>
- Palmezano, J., Plazas, L. y Rojas, D. (2015) ***Infeción por Toxoplasma.: Panorama actual.*** *Spei Domus*, 11(22). Recuperado el 25 de enero de 2020, de <https://doi.org/10.16925/sp.v11i22.1154>
- Rojas., J. (2015). ***Incidencia, factores de riesgo y secuelas oculares de toxoplasmosis en niños de la Escuela "Barbarita de la Torre" Trujillo, Venezuela.*** Tesis de Especialidad publicada. Universidad de Los Andes, Mérida.
- Romero, R. (2007). ***Microbiología y Parasitología Humana.*** Caracas-Venezuela: Editorial Médica Panamericana.

- Rosso, F., Agudelo, A., Isaza, A., y Montoya, J. (2007). ***Toxoplasmosis congénita: aspectos clínicos y epidemiológicos de la infección durante el embarazo.*** Revista Colombia Médica, 38(3), 316-337. Recuperado el 18 de noviembre de 2016, de <http://www.redalyc.org/pdf/283/28338318.pdf>
- Sánchez, M., Díaz, O., García, M., Raleigh, X., y Palma, L. (2008). ***Seroprevalencia de la Toxoplasmosis en una población pediátrica del Municipio Mara, estado Zulia.*** Revista Kasmera, 36(2), 111-119. Recuperado el 8 de septiembre de 2016, de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222008000200003
- Soto, R. (2010). ***Toxoplasmosis y Embarazo.*** Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica, 67(592), 163-167. Recuperado el 26 de Noviembre de 2016, de <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/592/art11.pdf>

www.bdigital.ula.ve

ANEXOS

www.bdigital.ula.ve

ANEXO N° 1

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS

CUESTIONARIO

PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI *TOXOPLASMA GONDII* EN
ADOLESCENTES EMBARAZADAS

I. Complete los datos que se solicitan:

DATOS PERSONALES:

Nombres y Apellidos: _____

Fecha de recolección de muestra: ____ / ____ / ____

Edo. Civil: _____ Edad: _____ Ocupación: _____

Dirección de habitación:

II. Marque con una X su respuesta:

1. Área de residencia: Urbana: ____ Rural: ____

2. Nivel de educación: Primaria: ____ Secundaria: ____

Educación Superior: ____ Ninguna: ____

3. Etapa Gestacional

Primer trimestre: ____ Segundo Trimestre: ____ Tercer trimestre: ____

4. ¿Ha estado embarazada anteriormente? Sí ____ No ____

5. ¿Tiene agua potable en su casa? Sí ____ No ____

6. ¿Durante el embarazo ha tomado agua sin potabilizar? Sí ____
No ____

7. ¿Usted consume carne? Si: ____ No: ____

8. ¿Cuántas veces por semana consume carne? _____

9. ¿Qué tipo de carne consume? Res ____ Cerdo ____ Pollo ____
Pescado ____

10. ¿Cómo consume la carne? Cocida ____ Poco cocida ____
Cruda ____

11. ¿Tiene animal(es) en su hogar? Sí ____ No ____
12. ¿Qué tipo de animal(es) tiene? Perros ____ Gatos ____ Aves ____
Cuales _____ otros: _____
13. Acaricia a su mascota: Si ____ No ____
14. Duerme con su mascota: Si ____ No ____
15. ¿Ha estado en contacto con gatos? Sí ____ No ____
16. ¿Ha estado en contacto con heces de gato durante el embarazo o el periodo previo a este? Sí ____ No ____
17. ¿Ha sufrido algún aborto? Sí ____ No ____
18. ¿Conoce usted que es la Toxoplasmosis? Sí ____ No ____
19. ¿Le han realizado antes, la prueba de toxoplasmosis? Sí ____
No ____
20. ¿Sabe usted como se transmite la Toxoplasmosis? Sí ____ No ____
21. ¿Sabe usted que la Toxoplasmosis puede afectar a su bebé?
Sí ____ No ____

www.bdigital.ula.ve

ANEXO N° 2

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS ESCUELA DE BIOANÁLISIS

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Este estudio de investigación está siendo conducido por la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, el cual consiste en: Analizar la presencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en adolescentes embarazadas que acuden a consulta obstétrica en el Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA)

Esta investigación se realiza con la finalidad de conocer cuál es la población de madres embarazadas infectadas con el *Toxoplasma gondii*; parásito intracelular que causa la Toxoplasmosis e identificar factores de riesgo que nos permitirán tomar medidas preventivas y de control más eficaces y precisas en esta parasitosis.

Usted ha sido seleccionada al azar para participar en esta investigación, motivo por el cual le estamos pidiendo su colaboración, que consiste en responder el cuestionario en el cual se recolecta información sobre datos personales, educación, estrato social, relación con animales, entre otros, adicionalmente se le extraerá la muestra de sangre en ayunas para determinar anticuerpos específicos para *Toxoplasma gondii*. Este procedimiento no ocasiona daños a su salud, ni lo incapacita y se realiza en pocos minutos.

La información que usted nos proporcione será de gran importancia y utilidad, que se traducirá en recomendaciones útiles para la salud de la población en general y principalmente para las madres embarazadas. Como beneficio, los resultados e interpretación de sus datos serán enviados posteriormente a usted, para que se realicen los tratamientos requeridos, si es el caso.

Usted podrá decidir si participa o no en cualquier momento, y no habrá ningún tipo de perjuicio por la decisión que usted tome. En todo momento se mantendrá la confidencialidad de los datos suministrados de manera que solo serán usados para los fines de este estudio

He leído la carta de consentimiento, se me ha explicado el estudio y estoy de acuerdo en participar voluntariamente en él. Y doy el permiso a los investigadores de este estudio para usar la información recolectada en el cuestionario

Nombres y apellidos

C.I.

FIRMA



Toxotest

HAI

Prueba de hemaglutinación indirecta (HAI) para la detección de anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii*

SIGNIFICACION CLINICA

La toxoplasmosis es una enfermedad infecciosa generalmente benigna y asintomática del hombre y de los animales, cuyo agente etiológico es el *Toxoplasma gondii*, parásito intracelular obligado de distribución mundial.

Cuando la infección por *T. gondii* se adquiere durante la gestación, existe un alto riesgo de infección en el feto, pudiendo provocar abortos o lesiones graves que son más severas cuanto más precoz sea la contaminación materna.

Las determinaciones serológicas son las más convenientes y certeras para el diagnóstico de la toxoplasmosis y debe establecerse: a) la seroconversión de negativo a positivo, b) un aumento en el título de anticuerpos y c) la presencia de IgM específica que indicaría infección activa.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Toxotest HAI se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos anti-*T. gondii* de producir aglutinación en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del parásito. El empleo de ambos tipos de antígenos incrementa la sensibilidad del método permitiendo la detección precoz de la infección. Tanto la presencia de anticuerpos heterófilos como la aparición de IgM, características del período agudo de la parasitosis, se investigan empleando tratamiento con 2-mercaptoetanol (2-ME) y eritrocitos no sensibilizados para control y absorción de heterofilia. Los anticuerpos heterófilos se absorben con eritrocitos no sensibilizados. En los sueros de pacientes con infección aguda tratados con 2-ME, se observa una caída del título en por lo menos dos diluciones comparados con los mismos sueros sin tratar con 2-ME.

REACTIVOS PROVISTOS

Reconstituyente HAI: solución fisiológica tamponada a pH 7.

Antígeno HAI: liofilizado de glóbulos rojos de carnero sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de superficie de *T. gondii*.

GR no sensibilizados: suspensión al 1% de eritrocitos de carnero no sensibilizados, para control y absorción de heterofilia.

Buffer HAI: solución fisiológica tamponada con fosfatos a pH 7,5, con colorante inerte.

Solución Proteica: solución de albúmina bovina.

2-Mercaptoetanol: ampolla conteniendo 2-mercaptoetanol (2-ME).

Control Positivo: suero inactivado conteniendo anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii*.

Control Negativo: suero no reactivo, inactivado.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Solución fisiológica.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Antígeno HAI: preparar con 5,2 ml de Reconstituyente HAI. Esperar una hora antes de usar agitando enérgicamente cada 20 minutos para permitir una correcta rehidratación del reactivo. Cada vez que se emplea homogeneizar mediante agitación.

GR no sensibilizados: homogeneizar mediante agitación antes de usar, evitando la formación de espuma.

Diluyente de Sueros HAI: agregar 0,2 ml de Solución Proteica cada 10 ml de Buffer HAI. Mezclar, rotular y fechar.

2-Mercaptoetanol: una vez abierta la ampolla, trasvasar el contenido al frasco vacío provisto, el que se deberá tapar inmediatamente después de usar.

2-Mercaptoetanol al 1%: con el 2-ME provisto, preparar una dilución 1/100 con solución fisiológica en cantidad suficiente de acuerdo al número de pocillos que se utilicen. Ejemplo: para 96 pocillos: 25 ul de 2-ME en 2,5 ml de solución fisiológica.

Controles Positivo y Negativo: listos para usar.

PRECAUCIONES

- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección. Los controles se encuentran inactivados. Sin embargo, deben emplearse como si se tratara de material infeccioso.
- Los sueros controles han sido examinados para antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg) y virus de inmunodeficiencia humana (HIV) encontrándose no reactivos.
- Todos los materiales empleados en el ensayo deben ser destruidos a fin de asegurar la inactivación de agentes patógenos. El método recomendado para este procedimiento es autoclavar durante 1 hora a 121°C. Los líquidos de desecho pueden ser desinfectados con hipoclorito de sodio (concentración final 5%) durante por lo menos 60 minutos.
- No intercambiar reactivos de distintos equipos y lotes.
- No emplear reactivos de otro origen.
- Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE

ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

Diluyente de Sueros HAI: es estable en refrigerador (2-10°C) 5 días a partir de la fecha de su preparación.

GR no sensibilizados: mantener en posición vertical.

2-Mercaptoetanol al 1%: usar inmediatamente después de preparado.

Antígeno HAI: una vez reconstituido es estable durante 4 meses conservado en refrigerador (2-10°C). No congelar. Mantener en posición vertical.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cuando el Control Negativo y todas las diluciones de sueros son reactivas, puede ser indicio de autoaglutinación del Antígeno HAI. Verificar destinando un pocillo de la policubeta para mezclar Antígeno HAI y Diluyente de Sueros HAI, sin la muestra. Si aún en este caso se observa aglutinación, el reactivo estará deteriorado. Desechar.

La ausencia de reactividad en todas las diluciones de sueros y Control Positivo, puede ser indicio de deterioro de los reactivos. Procesar una muestra con positividad conocida.

MUESTRA

Suero

- Recolección:** el paciente debe estar preferentemente en ayunas. Obtener suero de la manera usual. No usar plasma.
- Aditivos:** no se requieren. No agregar conservadores.
- Sustancias interferentes conocidas:** hemólisis o hiperlipemia (con quilomicronemia) son causa de resultados erróneos.
- Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** el suero debe ser preferentemente fresco. En caso de no procesarse en el momento, puede conservarse en refrigerador (2-10°C) durante no más de 72-96 horas contadas a partir del momento de la extracción. Para períodos más prolongados de conservación, congelar (a -20°C) evitando reiterar descongelamientos y congelamientos.

Los sueros envejecidos tienden a gelificarse al contacto con el 2-ME, provocando resultados falsos positivos.

MATERIAL REQUERIDO

1- Provisto

- 1 frasco vacío (para trasvasar el 2-ME de la ampolla)
- 5 policubetas con 96 pocillos de fondo en U (8 hileras y 12 columnas)
- espátulas-gotero plásticas descartables

2- No provisto

- microdilutores (25 ul)
- microgoteros (25 ul)
- tubos de ensayo y material volumétrico adecuado
- cinta adhesiva

PROCEDIMIENTO

Seleccionar una policubeta con pocillos sin usar de fondo en U. Pasar un trapo húmedo por la base de la policubeta antes de usar, colocarla en forma apaisada sobre el trapo y realizar el ensayo manteniéndola en esta posición. Ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.

I- TITULACION SIN 2-ME

- 1) Con microgotero de 25 ul, colocar una gota de Diluyente de Sueros HAI en todos los pocillos a usar de la policubeta.
- 2) Tomar una alícuota de cada suero o controles a en-

sayar con microdilutores de 25 ul (uno para cada muestra) y colocar en los pocillos de la columna 1. Se utilizarán tantas hileras horizontales como sueros o controles deban procesarse.

3) Realizar diluciones a partir de la columna 1 (dilución 1/2), pasando los microdilutores a la columna 2 (dilución 1/4) y así sucesivamente hasta la columna 6 (dilución 1/64).

Si se procesaran más de 8 sueros, se utilizarán las columnas 7 a 12, realizando las diluciones de la manera antes descrita.

4) Colocar en las columnas 1 y 2 (diluciones 1/2 y 1/4) una gota (25 ul) de GR no sensibilizados, para control de heterofilia. Hacer lo mismo en las columnas 7 y 8 en caso de ser empleadas.

5) En el resto de los pocillos, agregar una gota (25 ul) de Antígeno HAI.

6) Agitar la policubeta golpeando con los dedos en las paredes laterales, durante 30 segundos por lo menos.

7) Dejar en reposo, al resguardo de vibraciones, durante 90 minutos.

8) A partir de los 90 minutos, leer.

Se puede aumentar la nitidez de la imagen, leyendo sobre un espejo, iluminando la placa desde arriba e interponiendo un papel blanco y traslucido entre la policubeta y la fuente de luz.

II- TITULACION CON 2-ME

1) Colocar una gota de suero o controles en cada uno de los pocillos de la columna 1 (y 7 si es necesario), empleando espátulas-gotero descartables (una por cada suero) en posición vertical.

2) Agregar una gota de 2-Mercaptoetanol al 1% a los mismos pocillos, utilizando una espátula-gotero descartable.

3) Sellar los pocillos con cinta adhesiva y agitar la policubeta golpeando con los dedos en las paredes laterales.

4) Incubar 30-60 minutos a 37°C o 90 minutos a temperatura ambiente.

5) Retirar la cinta adhesiva, pasar un trapo húmedo por la base de la policubeta y, con microgotero de 25 ul, colocar una gota de Diluyente de Suero HAI en los pocillos restantes de las hileras utilizadas.

6) Realizar los pasos 3 al 8 descritos en la Titulación I.

III- TECNICAS ALTERNATIVAS

Cuando se estudian sueros altamente reactivos o en caso de poblaciones con una elevada prevalencia de toxoplasmosis donde habitualmente se encuentran títulos superiores a 1/32 pueden emplearse algunas de las siguientes técnicas alternativas:

Técnica alternativa 1:

Continuar con las diluciones hasta la columna 12 inclusive con lo que se obtiene una dilución final de 1/4.096.

Técnica alternativa 2:

Colocar en un tubo "ad-hoc" 50 ul de suero y 350 ul de Diluyente de Sueros HAI (dilución 1/8). Tomar 25 ul de esta dilución y colocarla en la columna 1 de la policubeta. Proseguir según se describe en I, hasta la columna 6. De esta forma se obtiene una dilución final de 1/512.

IV-ABSORCION SOBRE GLOBULOS ROJOS NO SENSIBILIZADOS

En sueros que presenten heterofilia los anticuerpos heterófilos pueden absorberse sobre GR no sensibilizados de la siguiente forma: en un tubo de hemólisis con tapón colocar 50 μ l de GR no sensibilizados provistos + 50 μ l de suero en ensayo. Dejar la suspensión durante 30 minutos a 37°C agitando de tanto en tanto. Luego centrifugar a 2.000 r.p.m. durante 5 minutos. Del sobrenadante se toman 50 μ l y se emplea como dilución 1/2, colocándola en la primera columna. Si se emplea en titulación con 2-ME esta columna corresponde a dilución 1/4.

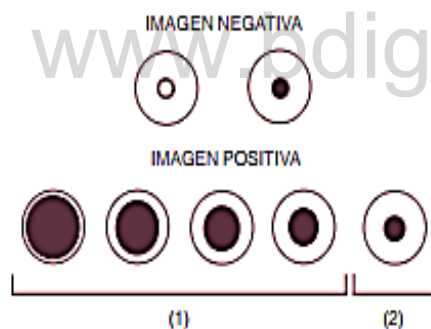
INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Titulación sin 2-ME

Titulos ≥ 16 significan mayor probabilidad de infección toxoplásmica. A fin de determinar una primoinfección reciente deben procesarse 2 muestras tomadas con un intervalo de 2-3 semanas. Un aumento de título mayor de 2 diluciones entre la 1ª y 2ª muestra indican infección recientemente adquirida.

Titulación con 2-ME

La aparición de títulos bajos en la titulación sin 2-ME y reactividad con glóbulos rojos no sensibilizados que desaparece al efectuar la titulación con 2-ME y/o absorción con GR no sensibilizados, serían indicativos de la existencia de heterofilia. Por el contrario, títulos elevados sin el empleo de 2-ME que disminuyen considerablemente al utilizar 2-ME indicarían la presencia de IgM, característica de infección aguda. Los controles de heterofilia en este caso deben dar reacción negativa en el suero sin tratar o tras absorción con GR no sensibilizados.



(1) Manto.

(2) Punto final (50%).

No Reactivo: presencia de un sedimento en forma de botón o pequeño anillo de bordes regulares.

Reactivo: formación de una película o manto que cubre el 50% o más del fondo de los pocillos.

VALORES DE REFERENCIA

Dentro de las técnicas inmunológicas, la HAI es considerada un método confiable para la determinación de anticuerpos específicos. No obstante, sus resultados, al igual que los de cualquier método serológico, sólo constituyen un dato auxiliar para el diagnóstico.

Es por esta razón que los informes deben ser considerados en términos de probabilidad. En este caso, mayor o menor probabilidad de parasitosis por *T. gondii*.

Se consideran presumiblemente parasitados aquellos individuos cuyos sueros son reactivos en diluciones mayores o iguales a 1/16.

Se debe tener en cuenta que la concentración de anticuerpos en suero varía en distintas poblaciones, razón por la cual es posible encontrar sueros reactivos correspondientes a individuos no parasitados. Por esta razón es necesario determinar los valores de referencia de la población en estudio.

LIMITACIONES DE PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Otras causas de resultados erróneos son:

- Falta de acondicionamiento previo de la policubeta. Para eliminar la carga electrostática es necesario pasar un trapo húmedo por la base (ver PROCEDIMIENTO).
- Falta de homogeneización de los reactivos antes de su uso.
- Deficiencias de mezclado.
- Vibraciones accidentales durante el reposo necesario para el desarrollo de la reacción.
- Sueros envejecidos o congelados y descongelados repetidamente.
- Contaminaciones accidentales de los reactivos o del material empleado en el ensayo.
- Policubetas rayadas por uso reiterado. No se aconseja reutilizar pocillos.
- Diluyente de Sueros HAI conservado más de 5 días.
- Exceso o defecto de Diluyente de Sueros HAI en los pocillos de la policubetas.
- No respetar los tiempos y temperaturas de incubación en el tratamiento con 2-ME al 1%.
- 2-Mercaptoetanol al 1% no preparado en el momento. Debe tenerse en cuenta que en este tipo de infecciones las titulaciones aisladas proveen escasa información por lo que se prefiere efectuar determinaciones seriadas cada 15-20 días que permitan observar las variaciones en los títulos. Para este procedimiento es conveniente conservar congeladas alícuotas de las muestras de distintos días y procesarlas simultáneamente con los mismos reactivos y el mismo operador.

Recordar que cada componente de **Toxotest HAI** forma un equipo completo que debe considerarse como unidad. Por este motivo no deben intercambiarse los componentes de distintos equipos.

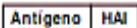
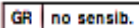

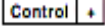
PRESENTACION

- 80 determinaciones (Cód. 1743201).


BIBLIOGRAFIA


- Gomez Lus, R. y Benito Ruesca, R. - *Medicine* 33-2ª serie - pág. 1.459 (1984).
- Jacobs, L.; Linde, M.N. - *J. Parasitol.* 43:308, (1957).


EXPLICACION DE LOS SIMBOLOS


 Antigeno HAI	 Buffer HAI
 Reconstituyente HAI	 GR no sensibilizados
 Solución Proteica	 2-Mercaptoetanol
 Control Positivo	 Control Negativo


Los siguientes simbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.


 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"


 Representante autorizado en la Comunidad Europea


 Uso diagnóstico "in vitro"


 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad

 Límite de temperatura (conservar a)


 No congelar


 Riesgo biológico


 Volumen después de la reconstitución

 Contenido

 Número de lote

 Elaborado por:

 Nacivo


 Corrosivo / Caústico


 Irritante

 Consultar instrucciones de uso

 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

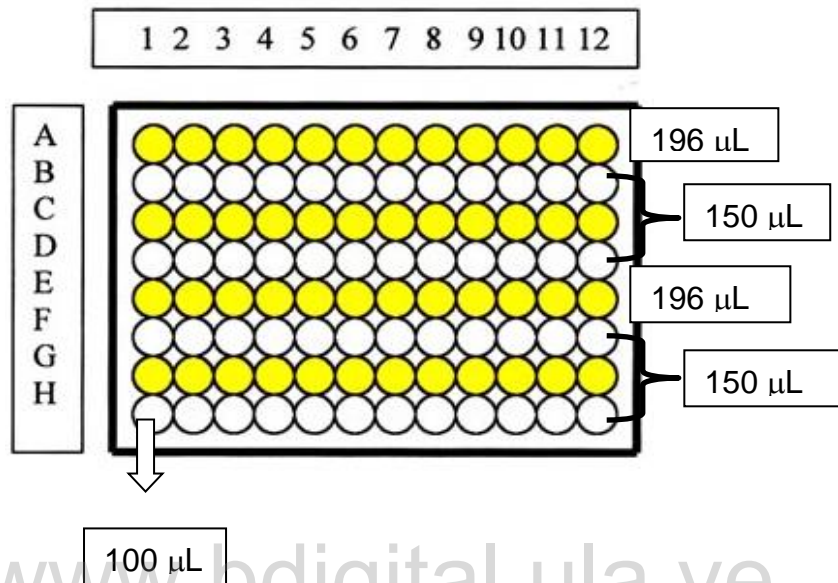
Número de catálogo



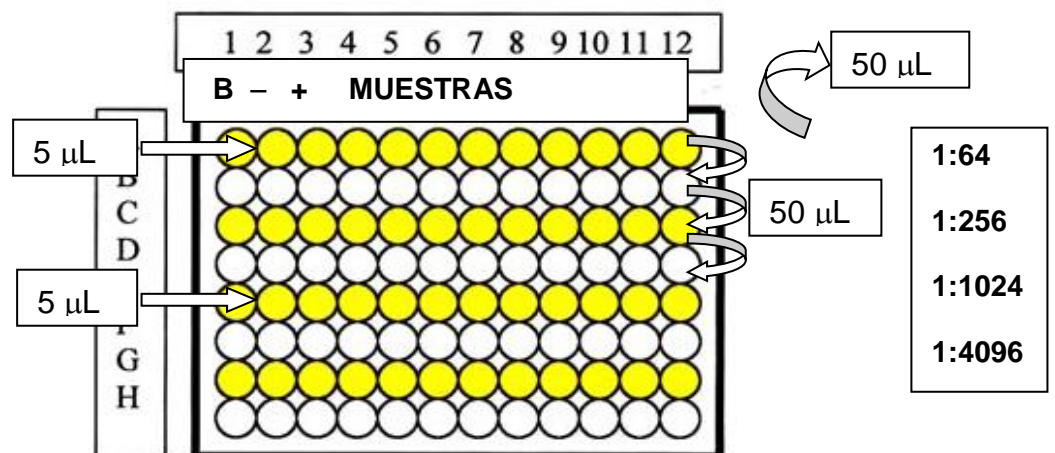
ANEXO N° 4

PROTOCOLO AVIDEZ IgG

1. Añadir PBS-TC (Tween Caseína) en cada pozo de la placa sensibilizada según el esquema siguiente:



2. Añadir 5 µL de los controles y las muestras de manera simultánea en los pozos siguientes: A2-E2, A3-E3, A4-E4, finalizando en A12-E12, e iniciar las diluciones; transfiriendo 50 µL a cada pozo y descartando 50 µL, para completar un volumen final de 100 µL/pozo.



B: Blanco

- : Control negativo

+ : Control positivo

3. Incubar durante 1 hora a 37 °C.
4. Lavar la mitad de la placa (fila A- D) con PBS-T y la otra mitad (fila E-H) con Urea al 6%, 3 lavados de 10 minutos cada uno.
5. Realizar 1 lavado con PBS-T de toda la placa.
6. Colocar 100µl del Conjugado en cada pozo (10 µl de anti IgG 1:1000 + 10 mL de PBS-TC/ placa). Reservar unos microlitros para probar posteriormente el sustrato.
7. Incubar por 1 hora a 37°C.
8. Realizar 5 lavados con PBS-T.
9. Agregar 100 µL del Sustrato (pH 5) en cada pozo (4 mg de OPD + 20 µL de Peróxido de hidrógeno + 10 mL de Buffer Citrato/placa).
10. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente en oscuridad.
11. Parar la reacción con 50 µL/pozo de ácido sulfúrico (H₂SO₄).
12. Colocar la placa en el espectrofotómetro de ELISA utilizando un filtro de lectura de 450 nm y un filtro de referencia de 620 nm.
13. Realizar los cálculos en la dilución 1024 según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Avidéz} = \frac{\text{DO pozo Urea}}{\text{DO pozo PBS}} \times 100$$