



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
SEDE ARAGUA**



**SEROPREVALENCIA DE INFECCIÓN POR *Toxoplasma gondii* EN  
ESTUDIANTES FEMENINAS DE LA UNIVERSIDAD DE CARABOBO,  
SEDE ARAGUA-2009**

**Trabajo de Investigación presentado  
como requisito para aprobar la  
Asignatura por:**

**Br. Vaccaro Lucianna**

**Br. Villegas Berenice**

**Maracay, octubre de 2.009**



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL  
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**



**SEROPREVALENCIA DE INFECCIÓN POR *Toxoplasma gondii* EN  
ESTUDIANTES FEMENINAS DE LA UNIVERSIDAD DE CARABOBO,  
SEDE ARAGUA-2009**

**Trabajo de Investigación presentado  
como requisito para aprobar la  
Asignatura por:**

**Br. Vaccaro Lucianna**

**Br. Villegas Berenice**

**Tutor Científico: Lic. José G. Fernández**

**Tutor Metodológico: Lic. Nazila Alí**

**Maracay, octubre de 2.009**



**VEREDICTO**

Nosotros los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Trabajo de Investigación titulado: **"Seroprevalencia de la infección por *Toxoplasma gondii* en estudiantes femeninas de la Universidad de Carabobo, Sede Aragua (2009)"** presentado por las bachilleres Vaccaro Lucianna y Villegas Berenice, con el fin de aprobar la Asignatura Trabajo de Investigación; después de la exposición y discusión pública del citado trabajo, consideramos que las misma reúne los requisitos para **APROBARLO** como tal. En fe de lo cual se levanta la presente acta, el día treinta del mes de Octubre del año dos mil nueve, dejando constancia de que, conforme a lo dispuesto por la normativa vigente, actuó como coordinador (a) del jurado, la Tutora Metodológica Prof. (a) Nazila Alí.

*José Fernández*

Prof. José Fernández  
 C.I.: 9825002  
 Tutor Científico

*Glenda Rojas*

Prof. Glenda Rojas  
 C.I.: 7.274.490  
 Jurado Evaluador



4026916  
 Prof. Nazila Alí  
 C.I.: 166676508  
 Coordinador del Jurado

## DEDICATORIA

- Lucianna Vaccaro Muñoz

Este gran logro se lo dedico con mucha devoción al Rey de los cielos “Mi Dios todopoderoso” y a mi Virgencita Milagrosa por darme paciencia, sabiduría y voluntad; por guiar, iluminar y bendecir cada día de mi vida; por darme el coraje necesario para afrontar cada dificultad presentada y por darme la oportunidad de vivir esta maravillosa experiencia.

Con gran cariño, a mis pilares fundamentales como lo son mis padres Matteo Vaccaro y Ana Karina Muñoz, a quienes amo con todo mi ser y les agradezco por confiar en mi, por apoyarme sin límites en este sueño que hoy día se hizo realidad, por escucharme y siempre estar allí cuando los necesité.

A mis hermanos, Giuseppe y Francesca por ser un motivo de esfuerzo; a mis abuelos, nonnos y tíos(as) por sus sabios consejos.

A la familia Ruggeri Velásquez, a mi amiga y cómplice Berenice Villegas, a la Lcda. Siomara Varela y a Rafael Odreman, por su apoyo incondicional, por abrazarme y socorrerme cuando los necesité, por hacer más llevadero estos años que dure fuera de mi hogar, y por brindarme el valioso amor familiar. Dios les Bendiga.

A mis ahijados preciosos Angel Eduardo (Q.P.D.) y César Jesús; a mis amigos especialmente por acompañarme en este trayecto, por apoyarme en las buenas y malas, los amo grandemente. Gracias.

- Berenice Villegas Hernández

Primeramente le dedico este esfuerzo y logro a Dios y la Virgen de la Caridad por llenarme de bendiciones y guiarme por el camino correcto.

A mis padres, Alicia Hernández y José Villegas y mis hermanos Anderson y Edinson Villegas por los excelentes valores que me inculcaron, por darme la oportunidad seguir adelante y estar en todo momento a mi lado. Gracias a ustedes hoy me siento una mujer realizada y con la mejor familia del mundo.

A mis sobrinas y mis ahijados por ser los luceros que le dan alegría a mi vida.

A mis amigas por cuidarme, ayudarme, orientarme, apoyarme y brindarme su amistad tanto en los momentos alegres como en los tristes que por alguna u otra razón se nos presentan en la vida, convirtiéndose así en mis hermosas hermanas.

A mi amiga y compañera de tesis por ser tolerante hacia mi persona y por brindarme su excelente amistad y compañerismo en estos 5 años de carrera.

A mi novio por tan especial, comprensivo y por acompañarme en todos los momentos, ayudándome a ver la vida con un poco de alegría y cariño.

A mis tías, primos y a toda mi familia en general por cada uno de sus consejos y por apoyarme durante mis estudios.

## AGRADECIMIENTOS

Primeramente agradecemos a nuestro Dios por iluminarnos y llenarnos de tolerancia, conocimientos y entusiasmo en cada etapa de esta de investigación.

Agradecemos por sus consejos, orientación y dedicación a nuestro tutor científico, Lcdo. José Fernández y a las profesoras Nazila Alí y Glenda Rojas.

Especialmente a nuestros padres por el aporte económico necesario para llevar a cabo este estudio, al igual que a la Coordinación de Desarrollo Estudiantil y a nuestro tutor científico.

A las estudiantes de nuestra Universidad por participar en esta excelente labor; a nuestro amigo y profesor Luis Ojeda por sus consejos oportunos, por confiar en nuestro talento y ganas de triunfar.

Al área de Bioquímica Clínica y Hematología por su colaboración en la realización de la Jornada de despistaje de Toxoplasmosis, en especial a los profesores: Marjuly Camacho, Hember Vicci, Luis Zambrano, Eva Velásquez; así como también a la señora Lina y Milena, y a nuestros amigos Julio y Mariana.

A todo el personal del Laboratorio de Inmunoparasitología de la Escuela de Medicina “Dr. Witremundo Torrealba” por cedernos sus espacios para llevar a cabo la parte experimental de esta investigación. Igualmente al prestigioso Laboratorio Clínico Vargas Blanco (Lcdo. Román Cabello y Natalia Cabello) por auxiliarnos y apoyarnos en el momento que los necesitamos.

## INDICE GENERAL

	PP
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	ix
<b>RESUMEN</b>	x
<b>ABSTRACT</b>	xi
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
Biología de <i>Toxoplasma gondii</i>	5
Diagnóstico	10
Objetivo General	12
Objetivos Específicos	12
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	13
Población y muestra	13
Técnica e instrumento de recolección de datos	13
Recolección de muestras	14
Fundamento de la técnica de Hemaglutinación indirecta	14
Procedimiento de la técnica de Hemaglutinación indirecta	15
Análisis de datos	16
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	17
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	28
Conclusiones	28
Recomendaciones	29
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	31
<b>ANEXOS</b>	37
A. Consentimiento informado	38
B. Encuesta	39
C. Inserto del kit comercial Toxotest HAI	43

## LISTA DE FIGURAS

Nº		PP
1.	Ciclo de vida de <i>Toxoplasma gondii</i> .	7
2.	Seroprevalencia de infección por <i>T. gondii</i> en estudiantes femeninas de la Universidad de Carabobo, Sede Aragua 2009.	18
3.	Distribución de títulos de anticuerpos anti- <i>T. gondii</i> en estudiantes femeninas de la Universidad de Carabobo, Sede Aragua 2009.	19
4.	Prevalencia de anticuerpos anti- <i>T. gondii</i> según el tipo de inmunoglobulina en las estudiantes de la Universidad de Carabobo, Sede Aragua 2009.	21
5.	Asociación del tipo de agua de consumo con el riesgo de adquirir la infección por <i>T. gondii</i> .	22
6.	Asociación de la cocción de la carne con el riesgo de adquirir la infección por <i>T. gondii</i> .	23
7.	Asociación del consumo de carne de cerdo con el riesgo de adquirir la infección por <i>T. gondii</i> .	24
8.	Asociación del consumo de carne de ovino con el riesgo de adquirir la infección por <i>T. gondii</i> .	25
9.	Asociación del lavado de manos y alimentos con el riesgo de adquirir la infección por <i>T. gondii</i> .	26
10.	Asociación de la convivencia con gatos antes y el riesgo de adquirir la infección por <i>T. gondii</i> .	27



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
SEDE ARAGUA

SEROPREVALENCIA DE INFECCIÓN POR *Toxoplasma gondii* EN  
ESTUDIANTES FEMENINAS DE LA UNIVERSIDAD DE CARABOBO,  
SEDE ARAGUA-2009

Bachilleres: Vaccaro Lucianna

Villegas Berenice

Tutor Metodológico: Lic. Nazila Alí

Tutor Científico: Lic. José G. Fernández

Maracay, 30 de octubre de 2009

## RESUMEN

La toxoplasmosis es una zoonosis de amplia distribución mundial producida por un parásito intracelular obligatorio conocido como *Toxoplasma gondii*, cuyos hospedadores definitivos son los miembros de la familia *Felidae*; pudiéndose encontrar en un amplio rango de mamíferos y aves (hospedadores intermediarios), inclusive en el hombre, en el cual puede generar diversas manifestaciones clínicas, siendo la toxoplasmosis congénita una de las más importantes, por los severos daños que puede ocasionar sobre el feto y durante su vida extrauterina. En la presente investigación se tuvo como objetivo determinar la presencia de anticuerpos anti-*T. gondii* en estudiantes femeninas de la Universidad de Carabobo Sede Aragua, y además relacionar los factores de riesgo con la seropositividad a la infección; para ello se analizaron 255 muestras a través de la técnica de Hemaglutinación indirecta considerándose positivo títulos  $\geq 1/16$ . Se obtuvo como resultado que 40 estudiantes presentaron anticuerpos anti-*T. gondii*, lo cual representa 15,7% de la muestra estudiada, manifestando títulos comprendidos entre 1/16 y 1/4096, siendo los de mayor frecuencia 1/128 y 1/256 correspondiendo a 25 y 27,5%, respectivamente. De las estudiantes seropositivas, 10% presentaron anticuerpos IgM y las restantes (90%) anticuerpos IgG. Mediante la prueba de chi cuadrado se mostró que existe asociación estadísticamente significativa entre el consumo de carne de ovino ( $p=0,04$ ) y la presencia de la infección en las estudiantes evaluadas.

**Palabras clave:** Toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*, Seroprevalencia, Hemaglutinación indirecta.

UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
SEDE ARAGUA

SEROPREVALENCE OF INFECTION BY *Toxoplasma gondii* IN  
FEMALE STUDENTS OF THE UNIVERSITY OF CARABOBO,  
SEDE ARAGUA-2009

Bachilleres: Lucianna, Vaccaro

Berenice, Villegas

Tutor Metodológico: Lic. Nazila Alí

Tutor Científico: Lic. José G. Fernández

Maracay, 30 de octubre de 2009

**ABSTRACT**

The toxoplasmosis is a zoonosis of worldwide distribution caused by an parasite intracellular obligatory know as *Toxoplasma gondii*, whose definitive hosts are members of the family *Felidae*; being able to find in wide range of mammals and birds (intermediate hosts), including man, on which can generate various clinical manifestations, being congenital toxoplasmosis one of the most important because the severe damage that can cause to the fetus and during postnatal life. In the present investigation the objective was to determine the presence of antibodies anti-*T. gondii* in female students of the University of Carabobo Sede Aragua, moreover relate the risk factors with seropositivity of infection; for that 255 samples were analyzed by the indirect hemagglutination test being a positive titre of  $\geq 1/16$ . The result was that 40 students presented anti-*T. gondii*, which represents 15.7% of the sample studied, showing titles ranging from 1/16 to 1/4096, being the most often 1/128 and 1/256 corresponding to 25 and 27.5% respectively. 10% of the students with positive test had antibodies IgM and the remaining had (90%) IgG antibodies. The chi square test showed the statistically significant association between consumption of sheep meat ( $p=0,04$ ) and the presence of infection in the students evaluated.

**Keywords:** Toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*, seroprevalence, indirect hemagglutination.

## INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria causada por un protozoo intracelular, de la subclase coccidia, llamado *Toxoplasma gondii*, que provoca en el ser humano cuadros clínicos variados, entre cuales se destacan la toxoplasmosis ocular, toxoplasmosis pulmonar, encefalitis aguda, toxoplasmosis adquirida ganglionar, y toxoplasmosis congénita; ésta última representa gran importancia en la reproducción humana por las diversas y graves complicaciones que repercuten sobre el desarrollo del feto y posteriormente a lo largo de su vida extrauterina (Maekelt, 2002).

Dicha enfermedad es la zoonosis de mayor distribución a nivel mundial, encontrándose tanto en humanos como en más de 330 especies de mamíferos domésticos y salvajes, y en 70 especies de aves de corral y silvestres. Esta representa una enfermedad de gran importancia desde el punto de vista comercial, por causar problemas de tipo reproductivo en el ganado (abortos, momificación fetal, mortinatos y nacimientos de crías débiles), especialmente en ovinos y caprinos; y por ser una enfermedad zoonótica de gran implicancia en la salud humana, que repercute sobre la procreación, tomando en cuenta las graves consecuencias que acarrea al feto ya que puede causar ceguera, daños irreversibles en el Sistema Nervioso Central (SNC) y una variedad de patologías de cuidado clínico. También puede afectar a pacientes inmunosuprimidos (SIDA, hepatitis, etc), específicamente en órganos y tejidos como cerebro, ojos, corazón, hígado y pulmón (Zuzunaga y cols., 2006; Triolo y Traviezo., 2006).

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 morbilidad y mortalidad neonatal, ocasionando principalmente lesiones oculares y alteraciones del SNC; también produce abortos espontáneos y mortinatos. Estas cifras varían de un lugar a otro, dependiendo de factores geográficos y climatológicos, grupo étnico, hábitos alimentarios, tipo de trabajo, higiene ambiental y la presencia de gatos infectados; obteniéndose mayor número de casos en regiones cálidas y húmedas como las zonas tropicales, y áreas con escaso nivel cultural y socioeconómico. Sin embargo, en países 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 cruda y semicruda, tal es el caso del continente europeo. 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 (Atias y Thiermann, 1998; Maekelt, 2002; Chacin y cols., 2003; Triolo y Traviezo., 2006).

Lora y cols., en el año 2007 llevaron a cabo una investigación en tres ciudades del eje cafetero de Colombia (Manizales, Armenia y Pereira), en las cuales detectaron el material genómico de *T. gondii* por medio de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en muestras de carne de res, cerdo y pollo, con el fin de establecer el tipo de carne y la ciudad en donde es más frecuente el hallazgo del parásito. En sus resultados obtuvieron que 57,7% de las muestras de carnes estudiadas presentaban el parásito; siendo la carne de cerdo la más contaminada (70%), con mayor prevalencia en Manizales (80%), seguida por la carne de res en Armenia con 80% de resultados positivos, y por último, la carne de pollo en Pereira, la cual presentó una prevalencia de 70%. En base a esto, llegaron a la conclusión que existe un alto grado de exposición en los tres tipos de carnes analizadas,

los cuales se pueden considerar como alimentos de riesgo potencial para la transmisión de la infección.

En Venezuela se ha reportado 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 (Maekelt, 2002; Guido y cols., 2003).

En el estado Aragua, específicamente en la comunidad El Viñedo, Municipio Girardot, Aguiar y Borges (2007) determinaron que la prevalencia de anticuerpos IgG anti-*T. gondii* corresponde a 49.8%, donde el mayor porcentaje de casos positivos se presentan en los individuos entre 15 y 44 años, y se estima que por cada dos mujeres seropositivas existe un hombre seropositivo. Dichos resultados reflejan la gran atención sanitaria, social y educativa que requiere la población, puesto que están involucradas un gran número de mujeres que están en su máxima etapa fértil (15- 30 años), y en caso de inmunosupresión durante el embarazo se puede producir una toxoplasmosis congénita.

La toxoplasmosis congénita se manifiesta en un promedio de 1 por cada 3.000 a 6.000 partos. En el caso de infección primaria durante la gestación, la placenta puede ser invadida por los taquizoítos y desde aquí pasar al feto provocando lesiones necróticas en diferentes órganos. El riesgo fetal se correlaciona con la edad gestacional, puesto que la infección es más frecuente en los últimos meses del embarazo (80%) pero más grave si ocurre en el primer y segundo trimestre de la gestación, presentándose abortos

espontáneos, mortinato, hidrocefalia, retardo psico-motor-intelectual, ictericia, calcificaciones intracerebrales y/o coriorretinitis (Soto, 1985; Euzéby, 1999; León de Bracho, 2001; Maekelt, 2002).

En el año 2001, León de Bracho y cols., realizaron una investigación denominada “Seroepidemiología de la infección por *T. gondii* en embarazadas” con el objetivo de determinar la frecuencia de anticuerpos IgG e IgM anti-*T. gondii* en gestantes que acudieron a la consulta de control prenatal en el Ambulatorio Urbano tipo III de Belén del Municipio Libertador, Parroquia Arias del Distrito Sanitario Mérida. Utilizaron el método de Inmunofluorescencia Indirecta para determinar anticuerpos IgG y ELISA para determinar IgM; resultando seropositivas para anticuerpos IgG anti-*T. gondii* 65,57% de la población estudiada, y solo 1 de las 61 mujeres evaluadas (1,64%) presentó anticuerpos IgM. Además demostraron que no existe diferencias estadísticamente significativas entre la infección por *T. gondii* y el antecedente de abortos y cohabitación con gatos.

Posteriormente Guido y cols. en el año 2003 realizaron una investigación en primigestas del Ambulatorio Juan de Dios Holmquist, Soledad, estado Anzoátegui-Venezuela, con el propósito de determinar la prevalencia de anticuerpos IgG e IgM anti-*T. gondii* en mujeres embarazadas, empleando para ello la prueba inmunoenzimática indirecta, obteniéndose que 40,4% de las gestantes presentaban anticuerpos IgM contra *T. gondii* y 50% anticuerpos IgG. Además este estudio demostró que existe correlación estadísticamente significativa entre los factores de riesgo (convivencia con gatos y perros) y la presencia de la infección. Luego para el año 2006 Triolo y Traviezo determinaron la seroprevalencia de anticuerpos anti-*T. gondii* en 446 gestantes provenientes de Cabudare y Agua Viva,

estado Lara, Venezuela, mediante la técnica de Hemaglutinación Indirecta encontrando que 38% de las mujeres embarazadas en estudio resultaron positivas a la infección, indicando una elevada prevalencia de toxoplasmosis en las poblaciones analizadas.

### **Biología de *Toxoplasma gondii***

Con respecto al agente etiológico de la toxoplasmosis es un coccidio conocido como *Toxoplasma gondii*, el cual pertenece al phylum *Apicomplexa*, clase *Esporozoa* y familia *Sarcocystidae*, describiéndose como un protozooario que posee un complejo apical que le permite invadir las células y además tiene la capacidad de multiplicarse tanto de forma sexual como asexual. Se ha logrado aislar e identificar tres tipos de cepas encontrándose que la cepa tipo II es la responsable de la mayoría de los casos de toxoplasmosis en humanos (Aguilar y cols., 1996; Dardé, 2004; Luis y cols, 2007).

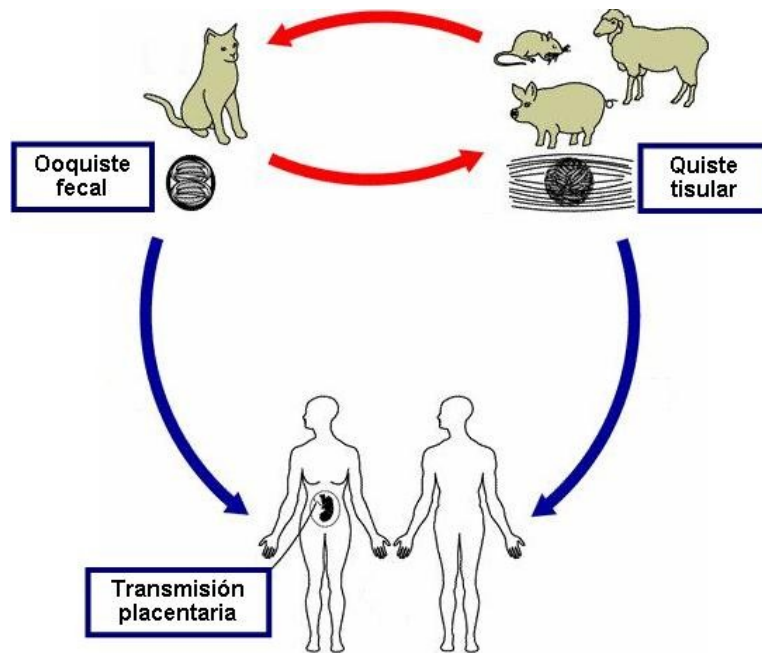
Este parásito se caracteriza por ser heteroxeno teniendo como hospedador definitivo al felino (doméstico o silvestre) y como hospedador intermediario a un amplio rango de especies (ovino, caprino, bovino, porcino, equino, aves y humanos, entre otros); además hay vectores mecánicos, como las cucarachas y las moscas, que se definen como hospedadores de transporte y se encargan de dispersar por el medio ambiente los ooquistes de éste parásito; el cual durante su ciclo de vida pasa por tres estadios de desarrollo: a) taquizoíta, forma activa de replicación; b) bradizoíta, es la forma quiescente que permanece en los tejidos durante toda la vida, puede reactivarse cuando se deteriora la inmunidad celular y causar graves daños;

c) esporozoíto, están contenidos en el ooquiste, y comprende la forma parasitaria infectante (Acha y Szyfres, 1986; Euzéby, 1999).

El gato doméstico se infecta con ooquistes que están en el suelo, alimentos o quistes tisulares presentes en las carnes de otros animales. Las formas quiescentes del parásito sobreviven el paso por el estómago del hospedador definitivo, liberándose taquizoítos, los cuales infectan las células epiteliales del intestino delgado; allí se reproducen sexualmente generando millones de ooquistes no esporulados, que son excretados, a través de las heces, al medio ambiente por un período breve de 3 a 15 días, donde sufren un proceso de esporulación (formación de dos esporoquistes y cuatro esporozoítos en cada uno de ellos) de acuerdo a la temperatura y humedad, y puede durar aproximadamente entre 24 y 48 horas; constituyéndose así la forma parasitaria infectante (Acha y Szyfres, 1986; Botero y Restrepo, 2003).

Los ooquistes esporulados permanecen viables en el medio ambiente por varios meses e incluso por un año, facilitándose así la ingestión por parte de los hospedadores intermediarios y definitivo; en los cuales ocurre la fase asexual del parásito, pues entran a los macrófagos de la pared intestinal y desde allí son distribuidos por la circulación sanguínea y linfática hacia una gran variedad de tejidos, entre ellos: cerebro, ojos, corazón, músculos, pulmón; donde persisten de por vida en forma de quistes y pueden reactivarse en caso de inmunosupresión (Figura 1) (Euzéby, 1999; Botero y Restrepo, 2003).





**Figura 1. Ciclo de vida de *T. gondii*.**

Fuente: [http://pathport.vbi.vt.edu/pathinfo/pathogens/gondii\\_2.html#Website5](http://pathport.vbi.vt.edu/pathinfo/pathogens/gondii_2.html#Website5)

Cuando el parásito penetra en el individuo invade a las células, produciendo la infección por todo el organismo de forma rápida; en donde los taquizoítos se reproducen intracelularmente, pasan de una célula a otra causando la destrucción de las mismas y produciendo lesiones necróticas en los tejidos parasitados. Posteriormente, el huésped desarrolla una respuesta inmunitaria, la proliferación parasitaria disminuye y comienza a aparecer bradizoítos enquistados en los tejidos. Los parásitos intracelulares forman su propia pared y dan origen a los quistes, los cuales no tienen trascendencia patológica cuando están intactos; pero cuando se produce la ruptura y liberación de los bradizoítos puede desencadenar reacciones parasitológicas en los tejidos hipersensibilizados. De acuerdo al órgano afectado durante la infección aguda o reactivación puede desarrollarse toxoplasmosis cerebral, ocular, ganglionar, pulmonar y/o complicaciones a nivel hepático y cardiaco

como hepatitis, miocarditis y pericarditis (Maekelt, 2002; Atias y Thiermann, 1998; Botero y Restrepo, 2003).

En cuanto a los mecanismos de transmisión de la infección por *T. gondii* viene dada por varias vías, entre ellas: la vía oral, que incluye la ingestión de ooquistes esporulados en vegetales, agua, huevos de gallina, leche, manos contaminadas con las materias fecales del gato parasitado o por el consumo de quistes tisulares presentes en carnes crudas o mal cocidas, especialmente de cerdo y ovejas; vía transplacentaria, ocurre el paso del parásito a través del tejido placentario durante la infección activa de la madre en el embarazo; y poco frecuente es por transfusiones de sangre o trasplante, al recibir los parásitos o células y tejidos con *T. gondii*, por ello se debe considerar realizar a los donantes la determinación de anticuerpos anti-*T. gondii* (Aparicio, 1978; Euzéby, 1999; Botero y Restrepo, 2003).

Tomando en cuenta las vías a través de las cuales se adquiere el parásito es importante llevar a cabo un conjunto de medidas profilácticas que eviten infectarse con *T. gondii*, entre las cuales se encuentran: congelar la carne a -20°C (mínimo por 24 horas) y consumirla bien cocida; no ingerir huevos crudos; evitar tomar leche no pasteurizada; utilizar guantes durante los labores de jardinería; lavarse las manos correctamente con agua y jabón antes y después de manipular carne cruda, luego de estar en contacto con tierra, plantas y jardines que puedan estar contaminados con heces de gatos. En lo que respecta al aseo de las cajas de arena donde defecan los felinos domésticos deben desinfectarse todos los días con agua caliente y cloro, y evitar que personas inmunocomprometidas y embarazadas realicen dicha labor. Estas últimas deben realizarse un control inmunológico prenatal, que consiste en un seguimiento serológico que se realiza en forma seriada cada

tres meses hasta finalizar el embarazo, y comprende la determinación de anticuerpos anti-*T. gondii*, con el fin de detectar posibles seroconversiones y aplicar tratamiento de inmediato (Goldsmith y Heyneman, 1995; Aguilar y cols., 1996; Atias y Thiermann, 1998; Maekelt, 2002; Organización Mundial de la Salud, 2005).

Actualmente, no es posible la aplicación de las vacunas en el hombre y sobre todo de las personas con riesgo. Sin embargo, hasta ahora se han ensayado dos vacunas contra la toxoplasmosis TS-4 y T-263, a partir de cepas mutantes de *T. gondii*; la primera induce inmunidad tisular durante la primoinfección y provoca en el parásito una inhibición genética para formar bradizoítos y quistes, mientras la segunda (contiene una cepa de *Toxoplasma avirulenta*) inmuniza 84 % de gatos contra la eliminación de ooquistes, es decir, evita la producción de ooquistes. Cabe destacar que se ha ensayado la vacuna para gatos y aún no es comercial pues sigue en fase experimental (Atias y Thiermann, 1998; Euzéby, 1999; Mollinedo, s/f).

De acuerdo a los múltiples y factibles mecanismos de transmisión, a la variedad de hospedadores en que se encuentra *T. gondii*, la ausencia de un tratamiento que elimine el parásito y a las graves consecuencias que genera la toxoplasmosis en la reproducción animal y humana, es importante su diagnóstico, el cual desde el punto de vista clínico y parasitológico no es fácil, pues se hace difícil demostrar el agente etiológico y establecer la relación entre infección y enfermedad, entendiéndose como infección la presencia del parásito sin causar daño al individuo, mientras que la enfermedad se debe a la manifestación de la parasitosis mediante la presencia de síntomas y signos que refieren afectación de uno o varios órganos.

## Diagnóstico

Generalmente el diagnóstico se fundamenta en los signos clínicos y en los resultados de los estudios serológicos basados en la detección de anticuerpos anti-*T.gondii*, empleándose comúnmente la técnica de hemaglutinación indirecta, ya que es un método fácil de realizar, de bajo costo y existe amplia disponibilidad de los reactivos. Sin embargo existen otras técnicas como ELISA que tiene una elevada sensibilidad y especificidad, la reacción de Sabin y Feldman (RSF) (actualmente sólo se considera como prueba de referencia), la Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta (RIAF o IFI), Intradermoreacción, la prueba ISAGA, Western-Blot, entre otras (Atias y Thiermann, 1998; Maekelt, 2002; Botero y Restrepo, 2003; Organización Mundial de la Salud, 2005; Luis y cols., 2007).

Con respecto a las pruebas que se basan en la demostración directa del parásito se utilizan con poca frecuencia y se llevan a cabo mediante la visualización microscópica de muestras al fresco, frotis y cortes histopatológicos, aislamiento a través de la inoculación experimental en ratones, cultivos de tejidos, o por la detección de antígenos o ADN con la Reacción en Cadena de la Polimerasa (Atias y Thiermann, 1998; Maekelt, 2002; Botero y Restrepo, 2003).

Considerando todos los aspectos expuestos anteriormente, la presente investigación tiene como objetivo determinar la seroprevalencia de la infección por *T. gondii* en estudiantes femeninas de la Universidad de Carabobo, Sede Aragua (UCSA), puesto que un alto porcentaje de la población estudiantil está constituida por mujeres en etapa de mayor fertilidad, por lo cual se pretende dar a conocer a cada estudiante su condición serológica frente al parásito para así prevenir la infección y disminuir el número de casos de toxoplasmosis congénita. Al igual se busca

la actualización de datos estadísticos de infección por *T. gondii* y la concientización tanto en la población como en el personal de Ciencias de la Salud de la importancia de esta enfermedad en cuanto a las patologías, transmisión y prevención.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Establecer la seroprevalencia de infección por *Toxoplasma gondii* en estudiantes femeninas de la Universidad de Carabobo, Sede Aragua-2009.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la presencia de anticuerpos anti-*T. gondii*, en estudiantes femeninas de la UCSA, en el período 2009.
- Identificar los factores de riesgo predisponentes a la infección por *T. gondii* en la muestra de estudio.
- Correlacionar la seropositividad de la infección con los factores de riesgo.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Población y muestra**

Para la realización de este estudio se llevo a cabo una investigación descriptiva de corte transversal, para lo cual fueron procesadas 255 muestras de suero de estudiantes femeninas de la Universidad de Carabobo, Sede Aragua, quienes asistieron voluntariamente a la Jornada de despistaje de Toxoplasmosis realizada en el Pasillo Central de la UCSA del 17 al 20 de febrero del año 2009.

### **Técnica e instrumento de recolección de datos**

Todas las estudiantes que formaron parte de la muestra firmaron un consentimiento informado (Anexo A), el cual contempla la aceptación de la estudiante para actuar como participante voluntario en esta investigación y además compromete a los responsables de este estudio a entregar los resultados y no usar sus muestras para otro tipo de análisis.

Posteriormente se realizó un interrogatorio directo, empleando como instrumento de recolección de datos una encuesta (Anexo B), que contiene una serie de preguntas de ítems cerrados (dicotómicas) y varias alternativas precodificadas de selección múltiple, las cuales permitieron determinar los diferentes factores de riesgo que contribuyen con la transmisión del parásito y la prevalencia de la infección.

## **Procedimiento experimental**

### **Recolección de muestras**

Las muestras de sangre fueron obtenidas asépticamente por punción venosa con jeringas de 5 mL, se colocaron en un tubo de ensayo sin anticoagulante, se dejaron coagular a temperatura ambiente y luego se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos. Posteriormente se transvasó el suero a un tubo eppendorf de 1,5 mL y se conservó la muestra a -20°C hasta su procesamiento en el Laboratorio de Inmunoparasitología del Departamento de Parasitología de la Escuela de Medicina Dr. Wiltremundo Torrealba de la Universidad de Carabobo, Sede Aragua.

A cada suero se le determinó la presencia de anticuerpos anti- *T. gondii*, mediante la prueba de Hemaglutinación Indirecta (HAI) empleando el kit comercial Toxotest HAI de Laboratorio Wiener (Anexo C).

### **Fundamento de la técnica de Hemaglutinación Indirecta anti-*T. gondii***

Se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos anti-*T.gondii* de aglutinar eritrocitos estabilizados y sensibilizados con antígenos solubles del parásito. Si el suero a examinar contiene anticuerpos contra *T. gondii* se observan patrones de sedimentación característicos en el fondo de los pocillos de la microplaca, formándose una especie de manto o tapiz de glóbulos rojos; por el contrario si el paciente no presenta anticuerpos contra el protozooario, la reacción es negativa visualizándose la formación de un botón de eritrocitos. El título de anticuerpos es la máxima dilución hasta donde se observe un patrón de hemaglutinación positivo. Se consideran presumiblemente parasitados aquellos individuos cuyos sueros son reactivos en diluciones mayores o iguales a 1/16.



### **Procedimiento de la técnica de Hemaglutinación Indirecta anti-*T. gondii***

Inicialmente se dispensó 25 µL de diluyente en los pocillos de la placa de microtitulación. Posteriormente se agregó 25 µL del suero del paciente en el pocillo N° 1 (dilución 1/2), mezclando varias veces se transfirió 25 µL al pocillo N° 2, y así sucesivamente hasta llegar al pocillo N° 10 (dilución 1/1024), descartándose de este 25 µL. Seguidamente se añadió 25 µL de glóbulos rojos no sensibilizados en los pocillos N° 1 y 2, y 25 µL de glóbulos rojos sensibilizados con antígenos de *T. gondii* en los pocillos restantes. Se mezcló aplicando suaves golpes en los laterales de la placa de microtitulación, y se dejó en reposo a resguardo de vibraciones durante 90 minutos a temperatura ambiente. Al transcurrir dicho tiempo se realizó la lectura del patrón de sedimentación de los glóbulos rojos, encontrándose que el título de anticuerpos fue la máxima dilución hasta donde se observó un patrón de hemaglutinación positivo.

Aquellos pacientes cuyo control de heterofilia resultó positivo se realizó una absorción de anticuerpos heterófilos, la cual consistió en agregar 100 µL de glóbulos rojos no sensibilizados y 100 µL del suero en un tubo de ensayo, se incubó a 37°C durante 30 minutos en baño de maría; transcurrido el tiempo se procedió a centrifugar la suspensión a 2000 r.p.m. durante 5 minutos. Posteriormente se tomaron 50 µL de sobrenadante y 50 µL de glóbulos rojos sensibilizados, se dejó en reposo 90 minutos para su posterior lectura; observándose un botón en el fondo del pocillo en los sueros que poseían anticuerpos heterófilos y un manto en los pocillos positivos a la infección toxoplásmica. A estos últimos se les practicó nuevamente el procedimiento de Hemaglutinación Indirecta para así determinar el título de anticuerpos anti-*T. gondii* que presentaba el paciente.

Con respecto a la determinación indirecta de los anticuerpos IgM, se le realizó tratamiento con 2-Mercaptoetanol (2-ME) aquellos sueros con título superior a 1/16; se colocaron 50  $\mu$ L de suero con 50  $\mu$ L de 2-ME en la columna N° 1 de la placa de microtitulación, se incubó a 37 °C en baño de maría durante 45 minutos. Al transcurrir dicho tiempo se procedió a dispensar 25  $\mu$ L de diluyente y se realizó la dilución de la muestra hasta el pocillo correspondiente a su título de anticuerpos totales; seguidamente se agregaron 25  $\mu$ L de glóbulos rojos sensibilizados y posteriormente se dejó reposar 90 minutos a temperatura ambiente para luego realizar la lectura, considerando la presencia de IgM en aquellos sueros que mostraron una disminución de dos títulos con respecto al determinado inicialmente.

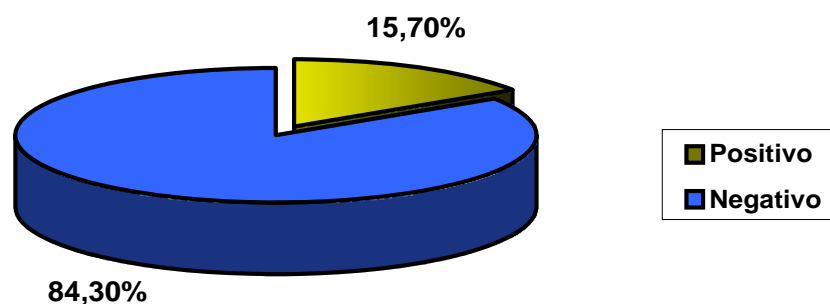
## **ANÁLISIS DE DATOS**

Los datos obtenidos de las estudiantes participantes en el estudio fueron registrados en una base de datos realizada en Microsoft Office Access 2003 para la posterior elaboración de las tablas de contingencia 2x2 en el programa estadístico SPSS versión 17, cuya información fue analizada seguidamente por el programa Statxact versión 8.0 para Windows, aplicándose con un nivel de confianza de 95% la prueba de chi cuadrado, a través de la cual se estableció la relación entre los diferentes factores de riesgo que contribuyen con la transmisión del parásito y la prevalencia de la infección, considerando que un valor de  $p \leq 0,05$  indica significancia estadística.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se determinó la seroprevalencia de anticuerpos anti-*T. gondii* en estudiantes femeninas de la Universidad de Carabobo, Sede Aragua, encontrándose que 40 de 255 sueros analizados presentaron anticuerpos dirigidos contra *T. gondii*, lo cual representa 15,7% de la muestra estudiada (Ver figura 2). Este valor constituye una prevalencia relativamente inferior con respecto a la reportada por otros estudios realizados en Venezuela, entre ellos se destaca la investigación desarrollada por Triolo y Traviezo en el año 2006, en gestantes provenientes de Cabudare y Agua Viva, estado Lara; donde estimaron que 38% de las mujeres embarazadas en estudio resultaron positivas a la infección por *T. gondii*.

En el ámbito internacional un estudio similar llevado a cabo por Trabattoni y cols. (2008), en Argentina en alumnos de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, encontraron que 26,35% de los estudiantes presentaban anticuerpos anti-*T. gondii*; coincidiendo así con la baja prevalencia arrojada por esta investigación, ya que la población en estudio corresponde a individuos jóvenes, cuya condición posiblemente disminuye la probabilidad que hayan estado en contacto con el parásito, lo cual concuerda con lo expuesto por Díaz y cols. (2001), Triolo y Traviezo (2006) y Aguiar y Borges (2007), quienes afirman que la prevalencia aumenta con la edad como resultado de la exposición continua al riesgo de infección, actuando como factores directamente proporcionales.



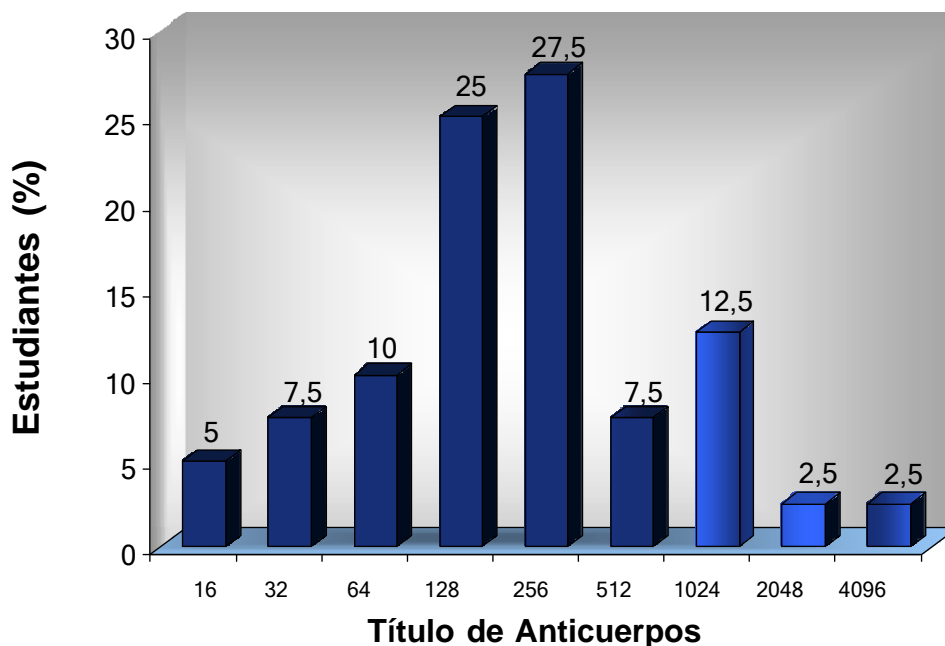
**Figura 2. Seroprevalencia de infección por *T. gondii* en estudiantes femeninas de la Universidad de Carabobo, Sede Aragua 2009.**

La prevalencia de esta investigación se determinó a través de la técnica de Hemaglutinación indirecta, considerándose infectados aquellos individuos cuyos sueros fueron reactivos en diluciones mayores o iguales a 1/16, de acuerdo a lo establecido en la literatura del kit comercial empleado.

La distribución de títulos de anticuerpos anti-*T. gondii* en las estudiantes de la Universidad de Carabobo, Sede Aragua se representa en la figura 3, observándose títulos entre 1/16 y 1/4096. Los títulos de mayor frecuencia fueron 1/128 y 1/256, correspondiendo a 25 y 27,5%, respectivamente; a diferencia de otros estudios, como el realizado por Díaz y cols. (2001) quienes obtuvieron mayor número de sueros positivos en diluciones 1/64 y 1/128, mientras que Álvarez y cols. (2003) encontraron mayor prevalencia en el título 1/512 y Aguiar y Borges (2007) en los títulos 1/32 y 1/64.

Con respecto al significado del valor del título de anticuerpos anti-*T. gondii*, estudios anteriores refieren que títulos mayores o iguales a 1/1024 son indicadores de infección reciente, multiplicación persistente del parásito o reinfección, mientras que 1/256 y 1/512 pueden representar infecciones pasadas, y títulos de 1/64 y 1/128 son de importancia clínica cuestionable utilizados para propósitos de diagnóstico; también pueden constituir infecciones muy recientes o pasadas con anticuerpos en descenso (Díaz y cols. 2001; Botero y Restrepo, 2003; Triolo y Traviezo, 2006; Aguiar y Borges, 2007).

Sin embargo Maekelt en el año 2002, manifiesta que los títulos de anticuerpos no permiten conclusiones acerca de la actividad del proceso infeccioso, pues títulos altos pueden encontrarse en pacientes infectados sin manifestaciones clínicas; excepto si se determina un aumento significativo del título de anticuerpos entre dos muestras de suero separadas por tres o cuatro semanas, lo cual indicará infección aguda.

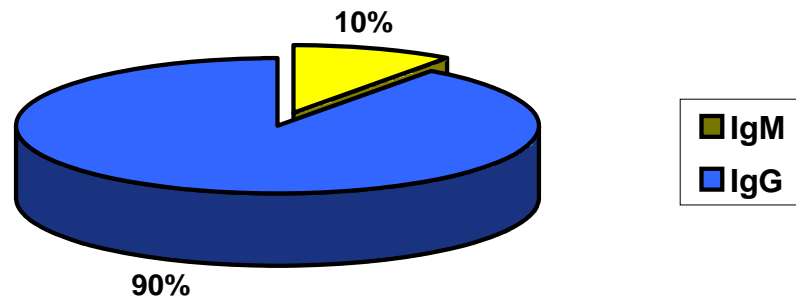


**Figura 3. Distribución de títulos de Anticuerpos anti-*T. gondii* en estudiantes femeninas de la Universidad de Carabobo, Sede Aragua 2009.**

En la figura 4 se aprecia la prevalencia de anticuerpos anti-*T. gondii* según el tipo de inmunoglobulina, observándose que 10% de los pacientes seropositivos presentaron IgM, correspondiendo a 4 estudiantes de las 40 analizadas, mientras que las 36 restantes mostraron IgG, lo cual representa 90%, cuyos valores no se asemejan a los obtenidos por Álvarez y cols., en el año 2003, quienes determinaron que la prevalencia de IgM en una comunidad rural del Estado Trujillo, fue 80%.

Los anticuerpos IgM han sido considerados como marcador de la fase aguda de la infección, encontrándose que disminuye su concentración progresivamente en unos cuatro meses; sin embargo se ha evidenciado que en algunos pacientes que alcanzan títulos muy elevados estas inmunoglobulinas pueden permanecer detectables durante varios meses o incluso años después de producida la infección primaria. En base a esto se puede deducir que la ausencia de IgM descarta infección reciente y la presencia en inmunosuprimidos y gestantes implica la necesidad de proseguir su estudio clínico y evaluación serológica, y de acuerdo a esto el médico indicara el tratamiento profiláctico respectivo (Sierra y cols., s/f).

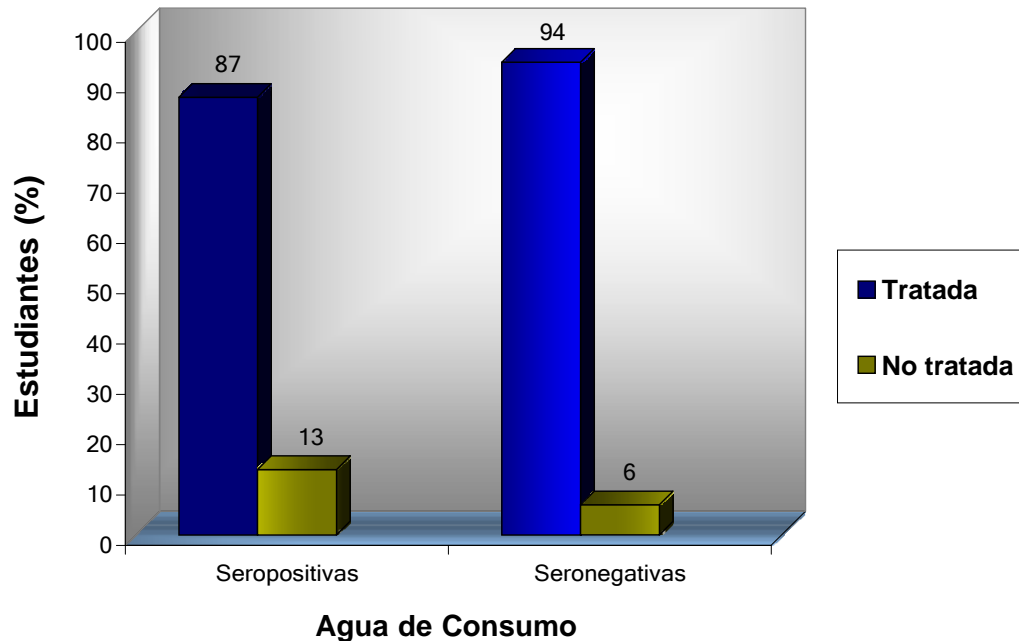
Por el contrario los anticuerpos IgG implican que el paciente estuvo en contacto con el parásito en algún momento de su vida. Durante la infección aguda o relativamente reciente puede acompañarse con títulos elevados y existe la evidencia de la seroconversión o de un aumento significativo de dicho título de IgG entre dos muestras seriadas. Esta inmunoglobulina también tiene valor en pacientes con inmunodeficiencia grave y en embarazadas para la identificación de seropositivos y discriminación de individuos seronegativos (Sierra y cols., s/f).



**Figura 4. Prevalencia de Anticuerpos anti-*T. gondii* según el tipo de inmunoglobulina en las estudiantes de la Universidad de Carabobo, Sede Aragua 2009.**

En cuanto a los mecanismos de transmisión de la infección por *T. gondii*, se encuentra involucrado la ingestión de ooquistes esporulados a través del agua. En el presente estudio se determinó que la mayoría de las estudiantes analizadas consumen agua previamente tratada, ya sea potable, hervida o filtrada, lo cual disminuye el riesgo de infección por *T. gondii* y se evidencia a través de la baja prevalencia (15,7%) obtenida en la investigación (Ver figura 5).

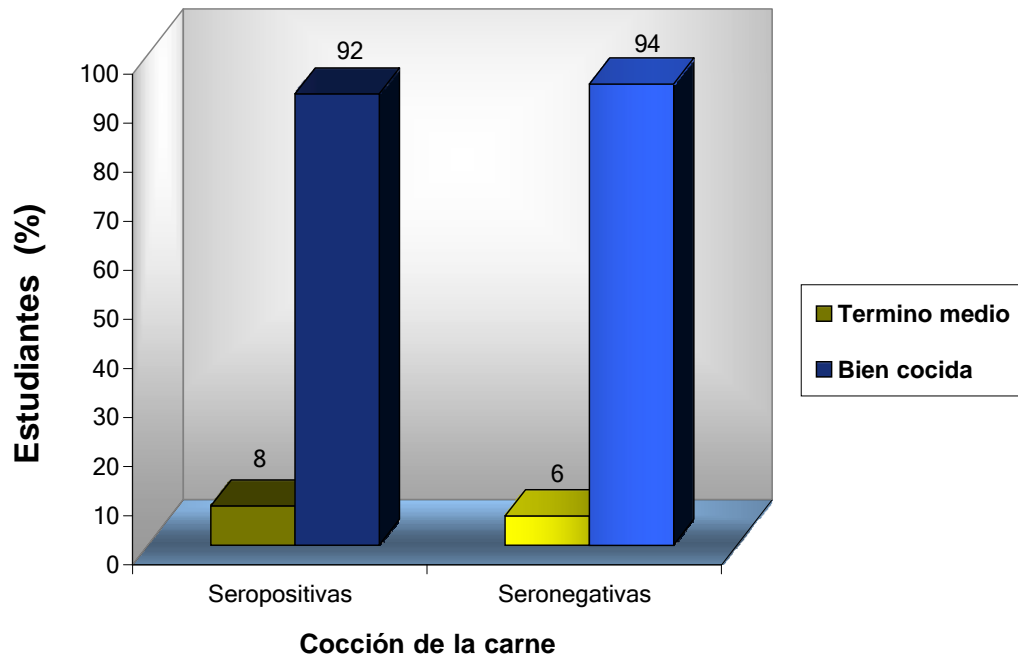
Al aplicar la prueba de chi cuadrado no se observó diferencia estadísticamente significativa ( $p= 0,25$ ) entre la presencia de anticuerpos anti-*T. gondii* y el tipo de agua de consumo; lo cual coincide con los resultados obtenidos por López y cols. en el año 2005, quienes determinaron que existe independencia entre el consumo de agua no tratada y la presencia de la infección del parásito en estudio, revelando que el beber agua de botella o botellón es un factor protector de adquirir el protozoario.



**Figura 5. Asociación del tipo de agua de consumo con el riesgo de adquirir la infección por *T. gondii*.**

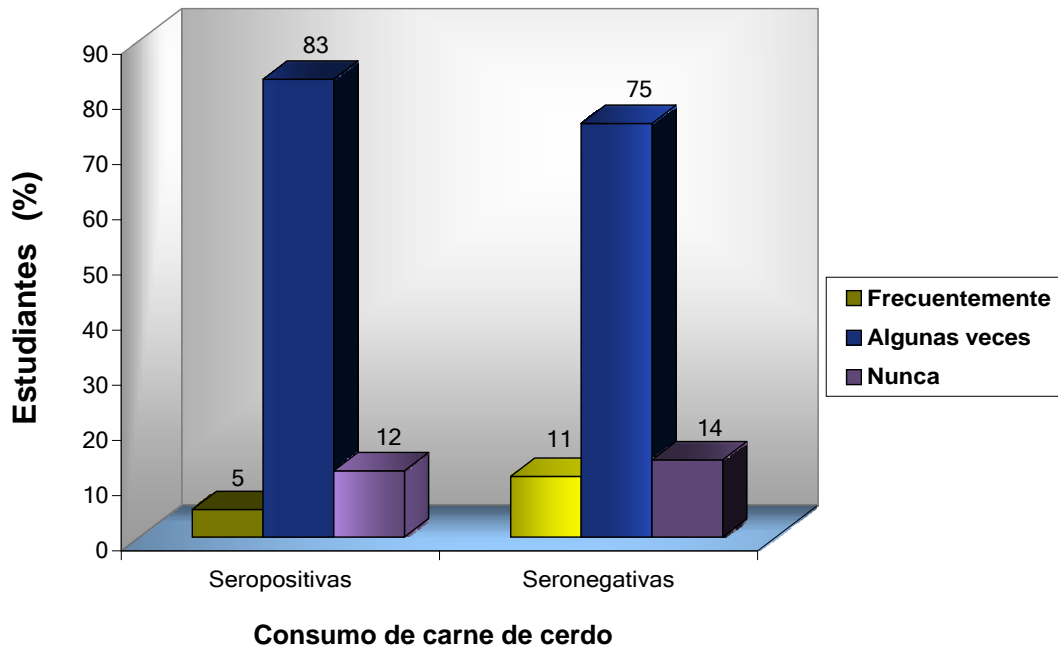
En la figura 6 se hace referencia a otro mecanismo de transmisión como lo es el consumo de quistes tisulares presentes en la carne cruda o mal cocida, considerando que el consumo de carne a medio cocer o no cocida es un factor predisponente para adquirir el parásito, de acuerdo a los resultados obtenidos por López y cols. (2005), Aguiar y Borges (2007), determinaron que si existe significancia entre el grado de cocción de la carne y la infección por *T. gondii*, lo cual se contradice con los resultados obtenidos en esta investigación, encontrándose que estadísticamente no existe diferencia significativa ( $p= 0,71$ ).





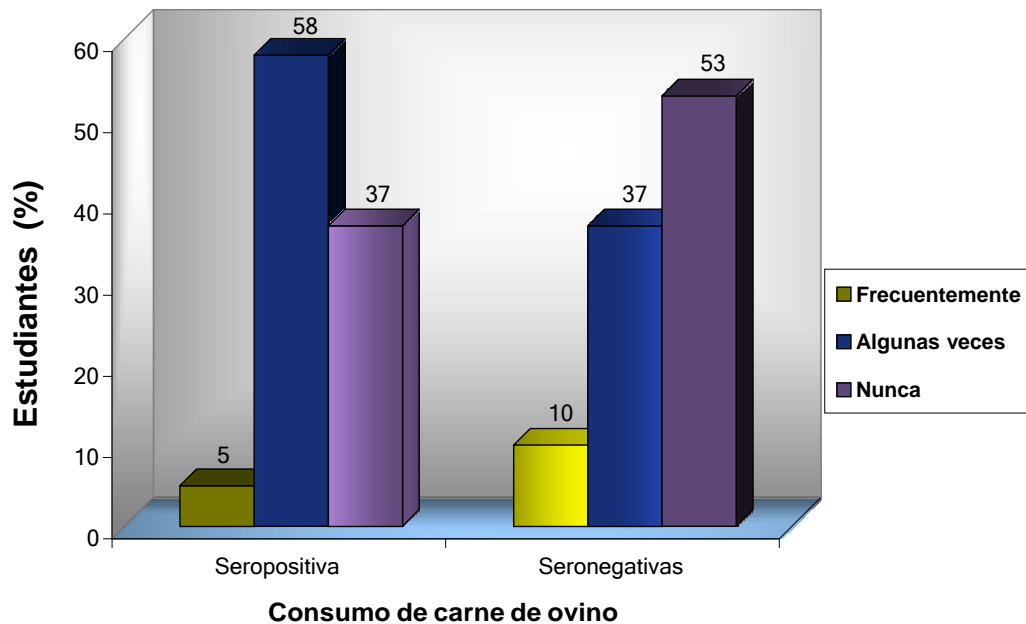
**Figura 6. Asociación de la cocción de la carne con el riesgo de adquirir la infección por *T. gondii*.**

Con respecto al consumo de carne de cerdo se evidencia que el mayor porcentaje de las estudiantes, tanto seropositivas como seronegativas, algunas veces comen este tipo de carne. Al aplicar la prueba de chi cuadrado se observó independencia estadística ( $p=0,55$ ) entre la presencia de anticuerpos anti-*T. gondii* y el consumo de carne porcina (Ver figura 7).



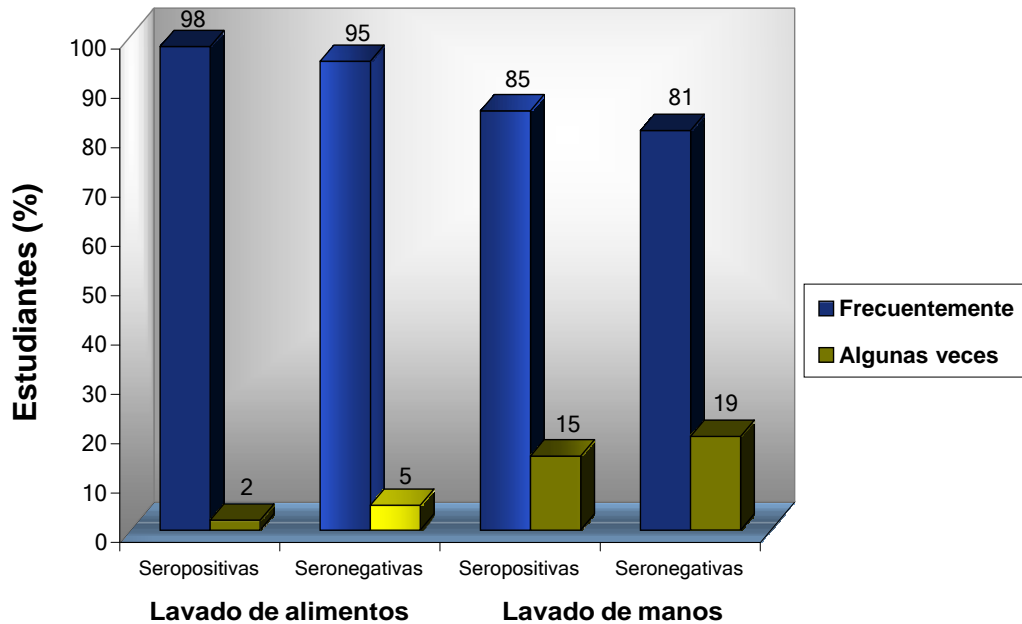
**Figura 7. Asociación del consumo de carne de cerdo con el riesgo de adquirir la infección por *T. gondii*.**

En la figura 8 se aprecia la distribución de las estudiantes de acuerdo al consumo de carne de ovejo, encontrándose que la mayoría de las pacientes seronegativas (53%) no consumen carne de ovino a diferencia de las pacientes que presentan la infección donde la mayor parte de las mismas (63%) si han consumido este tipo de carne. A través de la prueba de chi cuadrado se evidencia que existe correlación significativa ( $p=0,04$ ) entre el consumo de carne de ovejo y la presencia de la infección por *T. gondii*.



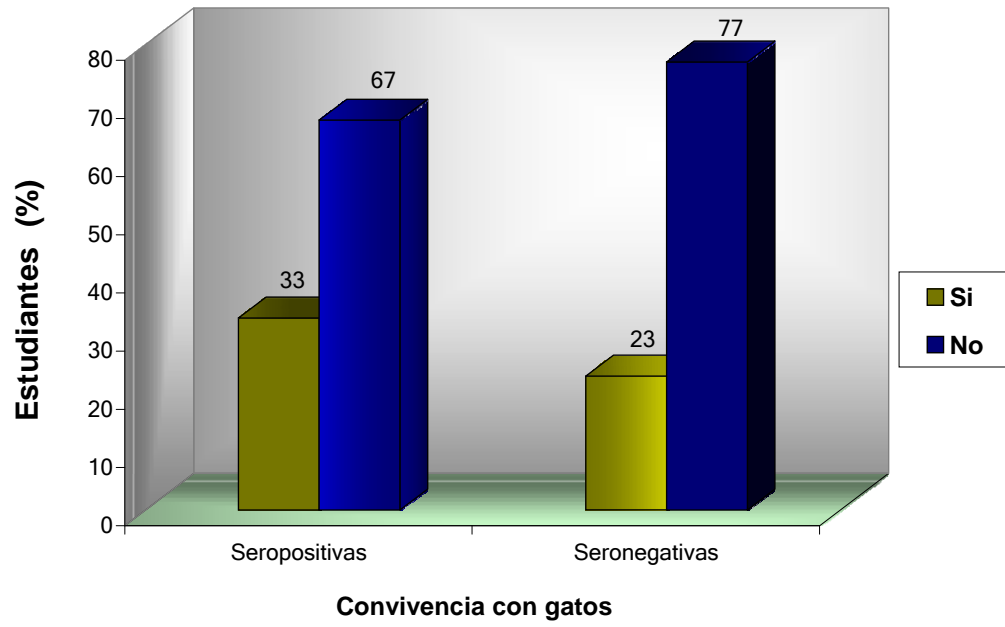
**Figura 8. Asociación del consumo de carne de ovino con el riesgo de adquirir la infección por *T. gondii*.**

También se considera un mecanismo de transmisión la ingestión de ooquistes esporulados por medio de alimentos e inclusive a través de las manos contaminadas con heces de gatos infectados con *T. gondii*, de allí radica la importancia de tomar en cuenta y ejecutar las medidas higiénicas necesarias para evitar adquirir la infección, como lavar bien los alimentos y lavar bien las manos antes de comer; siendo estas medidas profilácticas llevadas a cabo por la mayoría de las estudiantes analizadas en esta investigación, disminuyendo así la prevalencia de la infección por *T. gondii* (Ver figura 9).



**Figura 9. Asociación del lavado de manos y alimentos con el riesgo de adquirir la infección por *T. gondii*.**

Otro factor de riesgo involucrado en la transmisión de la infección por *T. gondii* es la convivencia con gatos, ya que este es el hospedador definitivo, lo cual coincide con los resultados arrojados en los estudios realizado por López y cols. (2005) y Aguiar y Borges (2007), manifestando que existe asociación positiva entre la convivencia con gatos y la presencia de anticuerpos anti- *T. gondii*. A su vez, esto se contradice con los resultados obtenidos en esta investigación ( $p=0,23$ ) y en otros estudios como los desarrollados en el año 2001 por León de Bracho y cols., Díaz y cols., determinando que existe independencia entre serología positiva para *T. gondii* y la cohabitación con gatos (Ver figura 10).



**Figura 10. Asociación de la convivencia con gatos antes y el riesgo de adquirir la infección por *T. gondii*.**

## CONCLUSIONES

1. La prevalencia de anticuerpos anti-*T. gondii* en 255 estudiantes femeninas de la Universidad de Carabobo, Sede Aragua en el año 2009 fue de 15,7% empleando la técnica de Hemaglutinación Indirecta, lo cual indica que existe una baja prevalencia en la población de estudiantes analizadas.
2. Los sueros de las pacientes seropositivas mostraron títulos comprendidos entre 1/16 y 1/4096, siendo los de mayor frecuencia 1/128 y 1/256 representando 25 y 27,5% respectivamente, asociándose con infecciones pasadas.
3. De acuerdo al tipo de inmunoglobulina involucrada en las 40 estudiantes seropositivas, se determinó que 10% presentaban anticuerpos IgM, mientras que las restantes (90%) mostraron IgG.
4. Por medio de la Prueba de chi cuadrado se determinó una asociación estadísticamente significativa entre el consumo de carne de ovino y la presencia de la infección.

## RECOMENDACIONES

- Reportar a las autoridades de salud competentes los hallazgos serológicos encontrados en este estudio, contribuyendo así con cifras estadísticas oficiales acerca de esta parasitosis, la cual representa un problema de salud en la población general.
- Se sugiere a las pacientes que resultaron seropositivas realizarse la determinación de anticuerpos IgM anti-*T. gondii* mediante la técnica de ELISA al momento de planificar un embarazo y/o al tener conocimiento de su estado de gravidez, con la finalidad de identificar si existe una reactivación de la infección y así llevar a cabo las medidas preventivas necesarias para evitar una toxoplasmosis congénita.
- Realizar en mujeres embarazadas un control inmunológico prenatal, que consiste en un seguimiento serológico que se realiza en forma seriada cada tres meses hasta finalizar el embarazo, con el fin de detectar posibles seroconversiones y aplicar tratamiento de inmediato.
- En el caso de las estudiantes que no presentaron anticuerpos anti-*T. gondii* se le sugiere aplicar las medidas profilácticas correspondientes para la prevención de esta parasitosis.

- Un mecanismo de transmisión de la infección es a través de transfusiones sanguíneas y trasplante de órganos, por lo cual se recomienda realizar a los donantes la determinación de anticuerpos anti-*T. gondii*.

- Extender estudios similares a este a otros grupos de interés médico sanitario, como por ejemplo, pacientes inmunosuprimidos y en comunidades de escasos recursos económicos y deficiente saneamiento ambiental.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acha, P., y Szyfres, B. (1986). *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. 2a ed. p 646-657. Publicación Científica 503. OPS. Washington, EEUU.
- Aguiar, B., y Borges, I. (2007). *Seroprevalencia de infección por Toxoplasma gondii en la comunidad El Viñedo, Municipio Girardot, Maracay, Estado Aragua*. Trabajo de grado no publicado para optar al título de Licenciado en Bioanálisis, Universidad de Carabobo, Maracay.
- Aguilar, C., Dávila, I., Pacheco, M., y Nino, R. (1996). *Parasitología*. (2<sup>da</sup> ed.) Valencia: Tatum.
- Álvarez, L., Pineda, N. y Rojas, E. (2003) Detección de Anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en una Comunidad Rural del Estado Trujillo, Venezuela. *Academia* [Revista en línea], 2(3), 36-38. Disponible: [http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/16900/2/alvarez\\_gonzalez.pdf](http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/16900/2/alvarez_gonzalez.pdf) [Consulta: Mayo 28, 2009].
- Aparicio, J. (1978). *Toxoplasmosis*. Madrid: Marban.
- Atias, A. y Thiermann, E. (1998). Toxoplasmosis. En, A. Atias (Ed.), *Parasitología Médica* (pp.265 - 279). Santiago: Mediterráneo.
- Botero, D. y Restrepo, M. (2003). *Parasitosis humanas*. (4<sup>ta</sup>ed.).Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas.
- Chacin, L., Sánchez, Y., Estevez, J., Larreal, I. y Molero, E. (2003). Prevalence of human toxoplasmosis in san carlos island, Venezuela. *Interciencia* [Revista en línea], 28(8), 457-462. Disponible:[http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442003000800005&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442003000800005&lng=pt&nrm=iso) [Consulta: Enero 8, 2008].

- Dardé, M. (2004). Genetic análisis of the diversity in *Toxoplasma gondii*. *Ann Ist Super Sanita* [Revista en línea], 40(1), 57-63. Disponible: <http://www.iss.it/binary/publ/cont/40157.1144748137.pdf> [Consulta: Marzo 8, 2009].
- Díaz, O., Parra, A., y Araujo, M. (2001). Seroepidemiología de la toxoplasmosis en una comunidad marginal del Municipio Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. *Investigación Clínica* [Revista en línea], 42(2). Disponible: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0535-51332001000200003&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0535-51332001000200003&script=sci_arttext) [Consulta: Enero 8, 2008].
- Euzéby, J. (1999). *Los parásitos de las carnes: epidemiología, fisiopatología, incidencias zoonóticas*. Zaragoza: Acribia.
- Goldsmith, R. y Heyneman, D. (1995). *Parasitología y Medicina Tropical*. Santa Fé de Bogota: El Manual Moderno.
- Guido, F., González, M., Natali, F., Cermeño, J., y Rivas, R. (2003). *Anticuerpos anti-Toxoplasma gondii en primigestas. Ambulatorio "Juan de Dios Holmquist", Soledad, estado Anzoátegui-Venezuela*. Trabajo presentado en XII Congreso de la Asociación Panamericana de Infectología, Caracas, Venezuela.
- León de Bracho, D., Sanoja, C., Granadillo, A. (2001). Seroepidemiología de la infección por *Toxoplasma gondii* en embarazadas. *Kasmera* [Revista en línea], 29(2). Disponible: [http://www.serbi.luz.edu.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0075-52222001012000006&lng=es&nrm=iso](http://www.serbi.luz.edu.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222001012000006&lng=es&nrm=iso) [Consulta: Enero 8, 2008].
- López, C., Díaz, J. y Gómez, J. (2005). Factores de riesgo en mujeres embarazadas, infectadas por *Toxoplasma gondii* en Armenia-

Colombia. *Revista de Salud Pública* [Revista en línea], 7(2). Disponible:[http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0124-00642005000200006&lng=pt](http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-00642005000200006&lng=pt) [Consulta: Marzo 29, 2008].

Lora, F., Jaime, H., Pérez, J., Arias, L., Idarraga, S., Mier, D., y Gómez, J. (2007). Detección de *Toxoplasma gondii* en carnes de consumo humano por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tres ciudades del eje cafetero: *Imbiomed* [Revista en línea], 11(3). Disponible:[http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id\\_articulo=48503&id\\_seccion=1178&id\\_ejemplar=4917&id\\_revista=93](http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=48503&id_seccion=1178&id_ejemplar=4917&id_revista=93) [Consulta: Marzo 29, 2008].

Luis, J., Gutiérrez, N., y Agrela, I. (2007). *Manual para el trabajo práctico en el laboratorio de inmunología*. (4<sup>ta</sup> ed.) Maracay: Universidad de Carabobo.

Maekelt, G. (2002). Toxoplasmosis. En, *Manual de medicina tropical*. Tomo II. (pp. 63 -75). Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.

Mollinedo, J. (s/f) Toxoplasmosis. *Galenored* [Revista en línea]. Disponible: <http://www.galenored.com/bolivia/reportajes/toxoplasmosis> [Consulta: Marzo 26, 2008].

Organización Mundial de la Salud. (2005). *El control de las enfermedades transmisibles*. Informe oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública. Washington. (Publicación Científica y Técnica n° 613).

Sierra, M., Bosh, J., Juncosa, T., Matas, L., y Muñoz, C. (s/f) Diagnóstico serológico de las infecciones por *Toxoplasma gondii*. *SEIMC* [Revista en línea]. Disponible: [http://www.seimc.org/control/revi\\_Sero/toxo.htm](http://www.seimc.org/control/revi_Sero/toxo.htm) [Consulta: Marzo 26, 2008].

- Soto, R. (1985). Relación entre aborto y serología positiva para *Toxoplasma. Ksmera* [Revista en línea], 13 (1/4): 67-75. Disponible: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/lah/online/?isisscript=iah/ah.xis&sre=google&lang=p&nextaction=ink&exprsearch=42321&indexsearch=id> [Consulta: Marzo 29, 2008].
- Trabattoni, E., Lavaroni, O., Vera, E., Garcia, N., Dalla Fontana, M., Achkar, G. y Rossi, A. (2008). Prevalencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* y *Trypanosoma cruzi* en alumnos de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, 2006. *Revista FAVE* [Revista en Línea], 7 (1-2). Disponible: [http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8180/publicaciones/bitstream/1/474/4/fave\\_vet\\_v7\\_n1\\_2\\_p83\\_90.pdf](http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8180/publicaciones/bitstream/1/474/4/fave_vet_v7_n1_2_p83_90.pdf) [Consulta: Mayo 28, 2009].
- Triolo, M., y Traviezo, V. (2006). Seroprevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en gestantes del municipio Palavecino, estado Lara, Venezuela. *Ksmera* [Revista en Línea], 34(1). Disponible: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0075-52222006000100002&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222006000100002&lng=en&nrm=iso) [Consulta: Enero 8, 2008].
- Zuzunaga, M., Chavéz, A., Li, O., y Evaristo, R. (2006). *Toxoplasma gondii* en vicuñas de la reserva nacional de Pampa Galeras. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* [Revista en línea], Disponible: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BvRevistas/veterinaria/v17\\_n2/pdf/a15v17n2.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BvRevistas/veterinaria/v17_n2/pdf/a15v17n2.pdf) [Consulta: Enero 8, 2008].

# **ANEXOS**

## ANEXO A

Universidad de Carabobo  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Escuela de Bioanálisis  
Sede Aragua  
Departamento de Parasitología

### SEROPREVALENCIA DE INFECCIÓN POR *TOXOPLASMA GONDII* EN ESTUDIANTES FEMENINAS DE LA UNIVERSIDAD DE CARABOBO, SEDE ARAGUA-2009

#### Consentimiento informado

Yo, \_\_\_\_\_, mayor de edad, titular de la Cédula de Identidad N° \_\_\_\_\_, autorizo a las bachilleres Lucianna Vaccaro y Berenice Villegas para realizar una obtención de muestra sanguínea y posterior análisis en el laboratorio, cuyos resultados serán utilizados en el estudio titulado “**SEROPREVALENCIA DE INFECCIÓN POR *Toxoplasma gondii* EN ESTUDIANTES FEMENINAS DE LA UNIVERSIDAD DE CARABOBO, SEDE ARAGUA-2009**” coordinado por el prof. José Fernández, titular de la Cédula de Identidad N° 9.825.002, cuya finalidad y procedimientos a emplear en dicho trabajo de investigación me fueron explicados.

Así mismo tengo conocimiento que toda información aportada por mi persona será utilizada de manera anónima y la muestra no va ser usada para otros estudios.

Conforme:

\_\_\_\_\_  
Firma

C.I.

Fecha:

## ANEXO B

### ENCUESTA

- **Finalidad del presente estudio:** Determinar la seroprevalencia de infección por *Toxoplasma gondii* en estudiantes femeninas de la Universidad de Carabobo, Sede Aragua, y establecer la relación entre los factores de riesgo más relevantes y la infección por dicho parásito.
- **Solicitud:** Se requiere que sus respuestas sean sinceras, ya que de las mismas dependerá el éxito de la interpretación estadística y diseminación de resultados confiables que aporten información veraz y valedera.
- **Instituciones que realizan la investigación:** Un requisito de pre-grado para las bachilleres Lucianna Vaccaro y Berenice Villegas de la Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Sede Aragua.
- **Instructivo:** La presente encuesta se realizará mediante la técnica del interrogatorio directo con ítems cerrados y varias alternativas. Marcar con una "X" la opción correspondiente a la respuesta suministrada por el paciente.

**Nombres y Apellidos:** \_\_\_\_\_

**Cédula de Identidad:** \_\_\_\_\_

**Edad:** \_\_\_\_\_ años

**Teléfono:** \_\_\_\_\_ **Celular:** \_\_\_\_\_

**Embarazo:** Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ **Tiempo de gestación:** \_\_\_\_\_

**Factores Sociodemográficos**

**Dirección:** \_\_\_\_\_

**Municipio:** \_\_\_\_\_

**Estado:** \_\_\_\_\_

**Estudia:**

Administración \_\_\_\_\_ Contaduría \_\_\_\_\_

Bioanálisis \_\_\_\_\_ Enfermería \_\_\_\_\_ Medicina \_\_\_\_\_

**Realiza oficios del hogar:**

Siempre \_\_\_\_\_ Frecuentemente \_\_\_\_\_ Algunas veces \_\_\_\_\_ Nunca \_\_\_\_\_

**Factores alimenticios e higiénicos:**

**Procedencia del agua de consumo:**

Potable \_\_\_\_\_ Hervida \_\_\_\_\_ Filtrada \_\_\_\_\_ De grifo \_\_\_\_\_ Otros \_\_\_\_\_

**Frecuencia de consumo de carne:**

Siempre \_\_\_\_\_ Frecuentemente \_\_\_\_\_ Algunas veces \_\_\_\_\_ Nunca \_\_\_\_\_

**Cocción de la carne**

Cruda \_\_\_\_\_ Término medio \_\_\_\_\_ Bien cocida \_\_\_\_\_

**¿Consumes carne de bovino?**

Siempre \_\_\_\_\_ Frecuentemente \_\_\_\_\_ Algunas veces \_\_\_\_\_ Nunca \_\_\_\_\_

**¿Consumes carne de cerdo?**

Siempre \_\_\_\_\_ Frecuentemente \_\_\_\_\_ Algunas veces \_\_\_\_\_ Nunca \_\_\_\_\_



**¿Consumo carne de ovino?**

Siempre\_\_\_\_\_ Frecuentemente\_\_\_\_\_ Algunas veces\_\_\_\_\_ Nunca\_\_\_\_\_

**¿Consumo carne de aves?**

Siempre\_\_\_\_\_ Frecuentemente\_\_\_\_\_ Algunas veces\_\_\_\_\_ Nunca\_\_\_\_\_

**¿Usted prueba la carne antes de cocinarla?**

Siempre\_\_\_\_\_ Frecuentemente\_\_\_\_\_ Algunas veces\_\_\_\_\_ Nunca\_\_\_\_\_

**¿Usted consume huevos crudos?**

Siempre\_\_\_\_\_ Frecuentemente\_\_\_\_\_ Algunas veces\_\_\_\_\_ Nunca\_\_\_\_\_

**¿Usted consume leche de vaca no pasteurizada?**

Siempre\_\_\_\_\_ Frecuentemente\_\_\_\_\_ Algunas veces\_\_\_\_\_ Nunca\_\_\_\_\_

**¿Usted consume leche de oveja no pasteurizada?**

Siempre\_\_\_\_\_ Frecuentemente\_\_\_\_\_ Algunas veces\_\_\_\_\_ Nunca\_\_\_\_\_

**¿Usted consume comidas rápidas?**

Siempre\_\_\_\_\_ Frecuentemente\_\_\_\_\_ Algunas veces\_\_\_\_\_ Nunca\_\_\_\_\_

**¿Usted lava los alimentos antes de consumirlos?**

Siempre\_\_\_\_\_ Frecuentemente\_\_\_\_\_ Algunas veces\_\_\_\_\_ Nunca\_\_\_\_\_

**¿Usted se lava las manos antes de comer?**

Siempre\_\_\_\_\_ Frecuentemente\_\_\_\_\_ Algunas veces\_\_\_\_\_ Nunca\_\_\_\_\_

**¿Usted come en restaurantes?**

Siempre\_\_\_\_\_ Frecuentemente\_\_\_\_\_ Algunas veces\_\_\_\_\_ Nunca\_\_\_\_\_

**Otros factores**

**¿Usted tiene gato en su vivienda?**

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

**¿Usted tiene perro en su vivienda?**

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

**¿En su vivienda hay cucarachas?**

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

**¿En su vivienda hay ratones?**

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

**¿Usted realiza labores de jardinería?**

Siempre \_\_\_\_\_ Frecuentemente \_\_\_\_\_ Algunas veces \_\_\_\_\_ Nunca \_\_\_\_\_

## ANEXO C



# 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 camero sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de superficie de *T. gondii*.

**GR no sensibilizados:** suspensión al 1% de eritrocitos de camero 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

a) **Recolección:** el paciente debe estar preferentemente en ayunas. Obtener suero de la manera usual. No usar plasma.

b) **Aditivos:** no se requieren. No agregar conservadores.

c) **Sustancias interferentes conocidas:** hemólisis o hiperlipemia (con quilomicronemia) son causa de resultados erróneos.

d) **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 traslúcido 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- ABSORCIÓN 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 ul de GR no sensibilizados provistos + 50 ul 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 ul 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

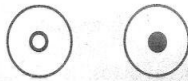
##### Titulación sin 2-ME

Títulos  $\geq 16$  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 1<sup>ra</sup> y 2<sup>da</sup> muestra indican infección recientemente adquirida.

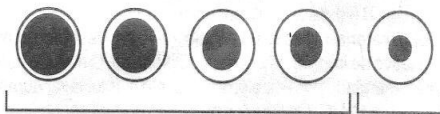
##### Titulación con 2-ME

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.

##### IMAGEN NEGATIVA



##### IMAGEN POSITIVA



(1)

(2)

(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

Equipo para 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).

Elaborado por:  
Wiener Laboratorios S.A.I.C.  
Riobamba 2944  
2000 - Rosario - Argentina  
<http://www.wiener-lab.com.ar>  
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola  
Bioquímica  
Producto Inscripto M.S.  
Disp. N°: 195/90 - 6293/96



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina