

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA DE TECNOLOGIA MEDICA - LABORATORIO CLINICO

"INCIDENCIA DE TOXOPLASMOSIS ASINTOMATICA EN LA POBLACION ASEGURADA DE LA ZONA METROPOLITANA DEL INSTITUTO SALVADOREÑO DEL SEGURO SOCIAL UTILIZANDO LA TECNICA DE HEMAGLUTINACION INDIRECTA T P M - TEST".

SEMINARIO DE GRADUACION
PRESENTADO POR:

ANA MARIA MENDEZ CORADO
LUCIA ESTELA VARELA GUARDADO
MARTA ISABEL LAZO BENITEZ

PREVIA OPCION AL TITULO DE LICENCIADO EN
LABORATORIO CLINICO

ASESOR: LIC. GUADALUPE DE BARAHONA

MARZO DE 1984



T
616.96
M538i

INCIDENCIA DE TOXOPLASMOSIS ASINTOMÁTICA EN
LA POBLACION ASEGURADA DE LA ZONA METROPOLITANA
DEL INSTITUTO SALVADOREÑO DEL SEGURO SOCIAL,
UTILIZANDO LA TECNICA DE HEMAGLUTINACION INDI-
RECTA T P M - TEST.



AGRADECIMIENTO

Agradecemos:

Al personal del Laboratorio del Hospital del Instituto Salvadoreño del Seguro Social, en especial al Coronel y Dr. Rodolfo Girón Flores y Dr. Rómulo Sosa; que con su valiosa ayuda fue posible la realización de este trabajo.

A los señores Mauro Martí y Charles E. Launder, representantes de la Casa Wampole, División de Carter Wallace, por la colaboración que prestaron para la elaboración de este trabajo.

A la Licenciada Guadalupe Hidalgo de Barahona por su desinteresada colaboración como Asesor para la realización de este seminario.

Asimismo a los miembros del Jurado Calificador:

Dr. Luis Alonso Aquiluz Ramos

Dr. Mauricio Sauerbrey

T.M. Diana Platero de Dimas

DEDICATORIA

- A DIOS TODOPODEROSO** : Que con infinita misericordia me ayudó a coronar mi ideal.
- A MIS PADRES** : Laureano Méndez
Josefina C. de Méndez
Con especial cariño y profundo agradecimiento por sus esfuerzos y sacrificios.
- A MIS HERMANOS** : Salvador Arturo
Martha Lidia de Melgar
Salvador Alfredo
Wilma de Soriano
Salvador Arístides
Carlos Alberto
Con fraternal cariño.
- A LOS SEÑORES** : Dr. Rómulo Sosa
Lic. Guadalupe de Barahona
Con mucho aprecio por haber tomado en sus manos la dirección de este trabajo gracias a la cual lo he terminado exitosamente.
- A MIS MAESTROS Y AMIGOS** : Que con su amistad y comprensión me impulsaron para concluir mi carrera.

DEDICATORIA

- A Dios Todopoderoso:** Por haberme permitido realizar mis aspiraciones, posibilitándome así recompensar a mi familia.
- A mi Esposo:** Ing. Julio César Alfaro Castro con profundo amor y agradecimiento.
- A mis Padres:** Timoteo Varela Canales
Amanda Guardado de Varela
Como reconocimiento a sus indeclinables sacrificios y esfuerzos puestos durante todos mis estudios.
- A mi Hijo:** Julio César
con infinito amor y cariño.
- A mis Hermanos:** Juan
María de la Paz
Oscar Orlando (Q.E.P.D.)
Timoteo (Q.E.P.D.)
Betty
Roberto
con amor fraternal y cariño.
- A mis Familiares:** Con mucho aprecio.
- A mis Amigos:** Que en una u otra forma colaboraron a coronar mi ideal.

DEDICATORIA

A DIOS TODOPODEROSO

CON TODA FE

A MIS PADRES:

DIONISIO LAZO Y

CONCEPCION DE LAZO

Agradecimiento a sus esfuerzos

A MI ESPOSO:

FRANCISCO ARTURO PLEITEZ LEMUS

Con amor

A MI ADORADA HIJA:

FLOR DE MARIA

A MIS HERMANOS:

MARIO

LUPITA

ANTONIO

ERNESTO

SONIA

Con cariño

A TODOS GRACIAS.

I N D I C E

| | Página |
|---------------------------------|--------|
| -RESUMEN | 1 |
| -INTRODUCCION | 4 |
| -MATERIALES Y METODOS | 12 |
| -RESULTADOS | 32 |
| -DISCUSION | 47 |
| -BIBLIOGRAFIA | 59 |

RESUMEN

Con el objeto de establecer la prevalencia de Toxoplasmosis asintomática en la población asegurada de la zona metropolitana del Instituto Salvadoreño del Seguro Social, con el fin de evidenciar la frecuencia e interesar al gremio médico y a salud pública en ella, con el propósito de que se establezcan las facilidades necesarias para su diagnóstico y prevención, se procesaron utilizando la técnica de Hemaglutinación Indirecta T P M Test*, 1024 muestras de sangre, obtenidas de adultos considerados sanos (de la población asegurada de la zona metropolitana). Las edades de las personas seleccionadas oscilaban entre los 18 y 65 años, de ambas edades inclusive, pertenecientes al sexo masculino y femenino.

Para determinar la incidencia de la enfermedad en la muestra estudiada, se calculó el porcentaje de casos positivos y negativos con respecto a la muestra total; luego se dividió la muestra total por sexo, obteniéndose el porcentaje de positividad y negatividad con respecto al número de casos estudiados en cada sexo. Además se dividieron estos casos en grupos etáreos con un rango de 5 años, obteniéndose el porcentaje de positivos y negativos en cada uno de estos grupos con respecto a la cantidad de casos estudiados en cada grupo etáreo.

*Laboratorios Wampole, Dist. División de Carter-Wallace, Inc., Cranbury, New Jersey 08512, U.S.A.

Los casos positivos obtenidos al realizar la prueba cualitativa fueron sometidos a la prueba cuantitativa, en la cual se distribuyeron las muestras por títulos, obteniéndose un porcentaje con respecto al total de muestras analizadas.

Se obtuvo una reactividad de 65.04%, resultado que es similar a los reportados por otros autores (8, 20). Este porcentaje tan elevado nos indica que grandes grupos de población en muchos países del mundo han sufrido la infección en un momento dado, pero que rara vez se hace diagnóstico de la infección por la escasez y lo confuso de los síntomas, - excepto cuando se transmite de madre a feto (2, 7, 8, 17, 19).

Encontramos que el método T P M - Test es una prueba diagnóstica, rápida, sencilla y específica, que no necesita de equipo especializado, ni requiere de conocimientos especiales para su realización, siendo esta prueba de gran utilidad para la detección de anticuerpos específicos contra el Toxoplasma gondii. Una característica exclusiva del T P M - Test es la técnica de normalización de los resultados, corrigiendo de esta manera las posibles variaciones entre los valores reportados por diferentes lotes (44).

Esta prueba es recomendada por algunos autores para controles epidemiológicos de grandes grupos de población (16, 39). Sin embargo, desde el punto de vista técnico, por la simplicidad puede ser utilizada en los laboratorios que realizan pruebas serológicas para Toxonlasmosis en pacientes con o sin sospecha de la enfermedad.

INTRODUCCION

La Toxoplasmosis, que durante muchos años pasó - inadvertida como entidad patológica para el hombre, ha adquirido gran importancia en los últimos años, siendo de interés para diferentes áreas de la medicina, desde la anatomía patológica hasta la serología, epidemiología, pediatría, oftalmología, neurología, radiología, gineco-obstetricia y medicina general. En la actualidad hay un gran número de - trabajos relacionados con la enfermedad. La comprobación de la patogenicidad del Toxoplasma ha hecho que surja mayor interés en el conocimiento de los aspectos clínicos y patoló- gicos del padecimiento (47). La Toxoplasmosis siempre es ad- quirida; la llamada Toxoplasmosis congénita no es más que - una Toxoplasmosis adquirida antes del nacimiento.

En las personas jóvenes y en los adultos la Toxo- plasmosis puede ser inaparente, debido a que el contacto con el Toxoplasma en la naturaleza les proporciona inmunidad, so lamente cuando hay una nueva infección masiva, una enferme- dad intercurrente, o una disminución de la inmunidad es cuan do pueden aparecer síntomas clínicos que aún cuando no sean característicos hagan pensar en la Toxoplasmosis (32).

Por ello la Toxoplasmosis en el adulto es de diág nostico mucho más difícil que la Toxoplasmosis congénita; - las manifestaciones clínicas son menos específicas y cuando se presentan, pueden simular distintos padecimientos.

Hay evidencias biológicas de gran contaminación con Toxoplasma en personas que no presentan ninguna manifestación clínica, aún en casos con títulos serológicos elevados y en madres de niños afectados seriamente de Toxoplasmosis congénita. Con frecuencia la Toxoplasmosis es una enfermedad sub-clínica, sin ninguna sintomatología general que oriente al diagnóstico, lo cual obliga al médico a depender de la asistencia del laboratorio clínico.

El Toxoplasma gondii fue observado por Laveran en gorriones de Java en 1900; pero el descubrimiento real de la Toxoplasmosis data de 1909, cuando el Toxoplasma fue reportado simultáneamente por Nicolle y Manceaux en un roedor del Norte de Africa (Ctenodactylus gondii), en la ciudad de Tunez, y por Splendore en un conejo, en Sao Paulo, Brasil.

En su primera publicación Splendore lo clasificó como un nuevo parásito protozoo del roedor; mientras que los franceses, en un principio, lo llamaron corpúsculo de Leishmania u organismo cerrado. Fue un año más tarde, cuando lo llamaron Toxoplasma gondii (40).

Anteriormente el Toxoplasma era subdividido en diferentes especies, tomando como base para esta clasificación al huésped en que era encontrado. Para aclarar esta

(1917) y Mesnil (1918), hicieron estudios sobre este tema, concluyendo que había una sola especie de *Toxoplasma* capaz de parasitar diferentes especies de animales. Sabin, en 1939, serológicamente confirmó esta conclusión, determinando que el *Toxoplasma* existente en el hombre como el de otros animales son de una misma especie, el *Toxoplasma gondii* (7).

La confirmación de la frecuencia de *Toxoplasmosis* en el humano fue descrita por Castellani (1914), observando el parásito en la sangre y en las vísceras de un niño de Ceylán. Castellani lo llamó *Toxoplasma pyrógene* (40). Siguió Federovith (1916), quien lo aisló en un niño de 10 años de edad; Chalmers y Kamar aislaron el *Toxoplasma* de la sangre de un soldado sudanés (7).

El oftalmólogo Dr. Joseph Janku (Praga, 1923), encontró quistes del parásito en la retina de un niño con hidrocefalia congénita y microcefalia, y lo relacionó con los esporozoarios; muchos investigadores lo consideran como el descubridor del primer caso de infección humana (7).

El parásito mide de 6 - 7 micras de largo por 2-4 micras de ancho; dividiéndose por fisión binarias; visto al microscopio, en preparaciones al fresco, se le observa un aparato de golgi atípico; una doble membrana citoplasmática;

en la porción basal del citoplasma, cerca del núcleo; un retículo endoplasmático de doble membrana con ribosomas - libres y fijos (21, 32).

En la naturaleza este parásito se encuentra en tres formas: Trofozoito, quiste tisular y ooquiste. El primero es la forma invasiva responsable de la etapa aguda de la infección; el quiste es la forma persistente o latente; y el ooquiste se encuentra sólo en el gato, en cuyo intestino se forma para ser expulsado con las heces, siendo su único papel el de reservorio del parásito para lo cual necesita un período de maduración en el medio ambiente que varía de 1 a 21 días.

La infección en hombres y animales generalmente se adquiere por vía bucal, después de la ingesta del quiste u ooquiste maduro, los cuales son rotos por las enzimas digestivas; los trofozoitos y esporozoitos invaden el epitelio intestinal diseminándose por vía hematógica, tanto al músculo uterino, donde hay transmisión transplacentaria, como a todos los demás órganos en donde se multiplica intracelularmente. Los quistes se forman principalmente en el cerebro, corazón y músculo esquelético (diagrama Pag.10) (5,16,24,35,36,37,43).

El diagnóstico específico se comprueba al descubrir el parásito (13, 6), aislándolo de los líquidos corporales y

de tejidos obtenidos por biopsia. Su presencia se establece por la coloración de Wright de Giemsa, que permite destacar el parásito entre los tejidos (16, 31, 45), o mediante la inoculación intracerebral e intraperitoneal de los líquidos corporales en un ratón que no tenga *Toxoplasma*. Los procedimientos serológicos tales como la coloración de Sabin Feldman, Prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes (PIAF), - Prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes IgM, Prueba de fijación de complemento y Prueba de hemaglutinación indirecta, son los más prácticos y completos.

Estudios epidemiológicos practicados en poblaciones diversas han demostrado altos índices de contaminación por el *Toxoplasma gondii*, sin manifestación clínica alguna (13).

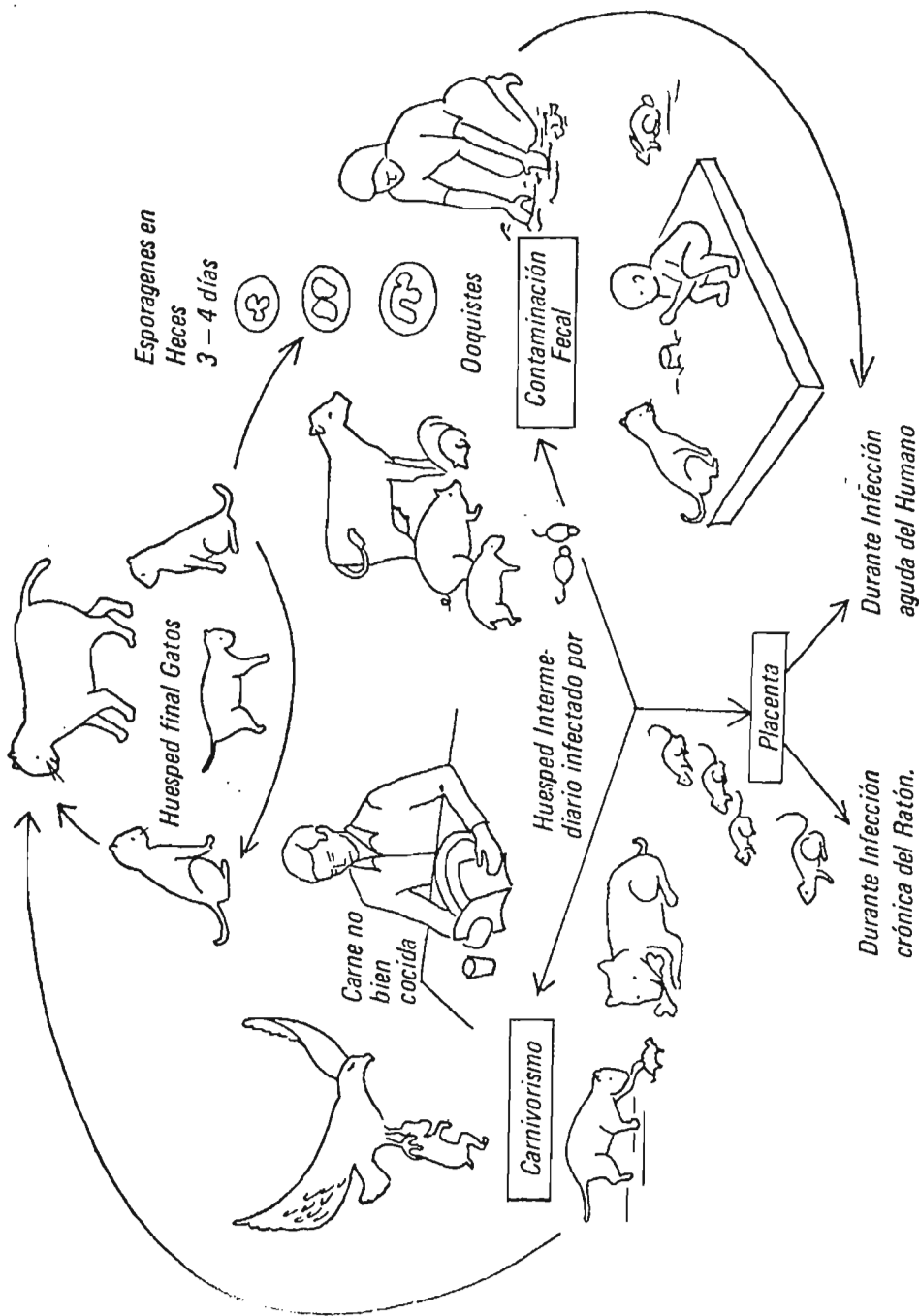
La incidencia de la Toxoplasmosis asintomática - aumenta con la edad, aproximándose de un 25 a un 50% en la población adulta de los Estados Unidos (17, 42); de un 60 a un 70% en la población adulta de Italia (2, 8); en un 64% - en la de Honduras (14, 22). En Guatemala y Costa Rica el porcentaje de positividad en individuos por arriba de 25 años, es de 94% en la primera, y del 88.5% en la segunda (19).

En nuestro país se han realizado otros trabajos -

serológicas positivas a Toxoplasmosis en grupos de poblaciones, obteniendo reactividad positiva en el 59%. Aumentando este porcentaje con la edad del individuo, llegando al 95% en los mayores de 50 años (20, 22). Con respecto a su relación con el embarazo, un estudio realizado en el Hospital de Maternidad, en 1970, señala una prevalencia de anticuerpos del 75% en mujeres gestantes (38); y otro estudio efectuado en el Hospital General del Instituto Salvadoreño del Seguro Social, en 1981, dejó una prevalencia de anticuerpos de 86.4% en los pacientes en estudio y de 89% en los pacientes en control (1). Este alto índice de infección, aunado a la inquietud de algunos médicos del departamento de gineco-obstetricia del Instituto Salvadoreño del Seguro Social, nos motivó a elaborar el presente trabajo de investigación, a fin de establecer la incidencia de Toxoplasmosis asintomática en la población asegurada de la zona metropolitana del Instituto Salvadoreño del Seguro Social, utilizando la técnica de Hemaglutinación indirecta (TMP-Test), que es una prueba diagnóstica sencilla y específica para la Toxoplasmosis y muy útil para conocer la epidemiología de esa enfermedad en grandes grupos de población.

OBJETIVOS

- 1) Evidenciar la frecuencia de Toxoplasmosis asintomática en la población asegurada de la zona metropolitana del Instituto Salvadoreño del Seguro Social.
- 2) Dar a conocer la técnica de Hemaglutinación Indirecta TPM - Test para el diagnóstico de Toxoplasmosis.



En este diagrama se demuestra al gato como el huésped definitivo y los otros animales incluyendo al humano como huéspedes intermedios. A la derecha del diagrama se muestra la infectividad via oocistas esporulados. Puesto que los oocistas pueden sobrevivir en tierra húmeda por varios meses; a tierra contaminada es la fuente de contaminación para el hombre y los animales. A la izquierda del diagrama la transmisión por carnivorismo se demuestra. Debido a que la infección crónica comunmente persiste, su carne puede infectar a humanos y otros animales. si un gato se come a un ratón infectado con toxoplasma el ciclo sexual puede ser iniciado en el gato induciendo a la producción de oocistas. Abajo la ruta placentaria de la infección es demostrada. a transmisión congénita puede ocurrir en el ratón durante la infección crónica y en el humano durante la infección aguda

MATERIALES Y METODOS

Este estudio se llevó a cabo en el laboratorio clínico del Hospital General del Instituto Salvadoreño del Seguro Social (ISSS). Se procesaron 1024 muestras de sangre obtenidas de adultos, considerados sanos, de la población metropolitana asegurada, cuyas edades oscilaron entre los 18 a 65 años, pertenecientes al sexo masculino y femenino.

Con el fin de determinar si las personas incluidas en este estudio eran verdaderamente asintomáticas; éstas fueron entrevistadas usando una hoja de encuesta de la cual se adjunta modelo (en Pág.30); la que contiene los siguientes datos: nombre, domicilio, edad, sexo, contacto con animales domésticos y datos clínicos relacionados con Toxoplasmosis.

COLECCION DE LAS MUESTRAS

Las muestras sanguíneas fueron colectadas en ayunas, por venopunción, en tubos con vacío sin anticoagulante. Se extrajo aproximadamente 5 ml de sangre a cada sujeto, teniendo cuidado de hacer en el sitio de la punción una buena asepsia, colectando la muestra con el menor éstasis sanguíneo para evitar la hemoconcentración y la hemólisis, con el objeto de disminuir al máximo la posibilidad de obtener datos falsos por una mala muestra.

Todas las muestras se tomaron siguiendo un calendario especial para las distintas empresas aseguradas, con el objeto de obtener las muestras de sujetos sanos; los cuales se sangraron en su sitio de trabajo, durante el período de recolección de muestras que fue de tres meses.

MATERIALES

- A) Material para extracción de sangre (agujas descartables para recolectar sangre al vacío 21, 1-1-1/2, sostenedor de tubo al vacío, algodón, alcohol).
- B) Tubos al vacío vacutainer tapón rojo, de 10 ml de capacidad sin anticoagulante.
- C) Pipetas serológicas de 5 ml
- D) Micropipetas de 25 microlitros.
- E) Puntas descartables para micropipetas de 0 a 100 microlitros.
- F) Tubos de ensayo de 12 por 75 mm.
- G) Bandejas de ensayo para procesamientos de muestras.
- H) Lápiz graso.
- I) Papel parafilm.
- J) Mesas de lecturas.
- K) Gradillas metálicas.

METODO

Las muestras fueron procesadas por el método TPM-Test, que se basa en el método de hemaglutinación indirecta

para detectar anticuerpos contra el Toxoplasma gondii, protozooario causante de la Toxoplasmosis.

PRINCIPIO DEL METODO

El reactivo principal del método TPM - Test (reactivo A) es una suspensión de eritrocitos de oveja estabilizados y sensibilizados con un extracto soluble de Toxoplasma gondii, obtenido mediante inoculación intraperitoneal en ratones o en cultivos de tejidos.

Si los sueros a ensayar contienen anticuerpos contra el Toxoplasma gondii serán capaces de aglutinar específicamente, eritrocitos recubiertos de antígenos, produciendo un sedimento característico en los pozos de las bandejas de ensayo. Paralelamente puede detectarse la presencia de aglutininas no específicas (como por ejemplo anticuerpos heterófilos) ensayando cada muestra de suero con eritrocitos de oveja estabilizados y no sensibilizados; la aglutinación de estos eritrocitos no sensibilizados indica la presencia en el suero de aglutininas no relacionada en modo alguno con los antígenos de Toxoplasma gondii. En este caso es posible eliminar dichas aglutininas mediante la absorción del suero utilizando un absorbente (suministrado con el set) de manera que el ensayo pueda verificarse sin ninguna interferencia.

Los resultados obtenidos por esta técnica son normalizados corrigiendo de esta manera las posibles variaciones en la potencia del antígeno para diferentes lotes (10).

REACTIVOS

- Reactivo A = Células sensibilizadas, eritrocitos de oveja estabilizados y sensibilizados con un extracto antigénico de Toxoplasma gondii. Concentración celular 0.5%.
- Reactivo B = Células no sensibilizadas, eritrocitos de oveja estabilizados, no sensibilizados, concentración celular 0.5%.
- Reactivo C = Diluyente, solución salina tamponada con preservativo y suero normal de conejo al 1%.
- Reactivo D = Absorbente, eritrocitos estabilizados de oveja no sensibilizados, concentración celular 10%.
- Reactivo E = Suero control positivo humano, título normalizado de 1:512, contiene preservativo.
- Reactivo F = Suero control negativo humano, contiene preservativo.

Tanto los reactivos como las muestras deberán estar a temperatura ambiente antes de iniciar la prueba. Los diferentes reactivos de un determinado set de TPM - Test -

han sido combinados cuidadosamente, por lo tanto no deben intercambiarse reactivos de diferentes sets si se quiere garantizar la máxima sensibilidad y exactitud posibles.

PROCEDIMIENTO

Las muestras a analizar se dejaban coagular a temperatura ambiente durante 10 minutos, centrifugándose a continuación a 3500 revoluciones por minuto; durante 10 minutos. El suero era transferido por simple decantación a un tubo de ensayo limpio, debidamente identificado, teniendo sumo cuidado de eliminar todos aquellos sueros límpidos y hemolizados con el objeto de evitar datos falsos positivos y negativos.

Si las muestras no eran procesadas el mismo día se dividían en dos alícuotas congelándose a -20°C hasta la fecha de su análisis, las alícuotas se utilizaban por separado para la verificación de las pruebas cualitativas y cuantitativas.

Cada semana se analizaban 200 muestras cualitativamente hasta completar 1024. Seleccionando las positivas, y descartando todas las muestras cuyos resultados eran negativos. Al concluir la evaluación cualitativa, se procedió a verificar el análisis cuantitativo, determinando el título de anticuerpos.

PROCEDIMIENTO CUALITATIVO

Las muestras fueron procesadas cualitativamente utilizando dos métodos de dilución:

- a) El método de microdilución.
- b) El método de macrodilución modificado.

METODO DE MICRODILUCION

Una vez rotulada la bandeja de ensayo para identificar cada muestra, incluyendo los controles (positivo y negativo) se preparaba una dilución de 1:64 de las muestras y de los controles mediante diluciones seriadas al doble, de la siguiente manera:

- A) Se destinaban seis pozos para cada espécimen, depositando 0.025 ml del diluyente (reactivo C) en cada pozo del 1 al 6;
- B) Se agregaba 0.025 ml de la muestra y de los controles respectivamente al pozo 1 mezclándose bien;
- C) Se transfería 0.025 ml del pozo 1 al pozo 2 mezclando su contenido;
- D) Se continuaba transfiriendo sucesivamente 0.025 ml de cada pozo desde el pozo 2 al pozo 6 inclusive, descartándose 0.025 ml del pozo 6 de manera que este pozo tuviése al final 0.025 ml de una dilución de la muestra y de los controles de 1:64;
- E) Al pozo 5 se le adicionaba 0.025 ml del diluyente (reactivo C) mezclando y descartando 0.025 ml de manera que este

pozo tuviese al final 0.025 ml de una dilución de la muestra y de los controles de 1:64

Luego se agitaba suavemente el reactivo de células sensibilizadas y no sensibilizadas de la prueba TPM - Test hasta obtener una suspensión homogénea. Apretando cuidadosamente el frasco gotero calibrado se agregaba una gota (0.05 ml) del reactivo A de la prueba TPM - Test al pozo 6 y posteriormente se agregaba una gota (0.05 ml) del reactivo B (control de células) al pozo 5. Se mezclaba el contenido de los pozos de las muestras y de los controles; golpeando ligeramente con la palma de la mano uno de los lados de la bandeja de ensayo; cubriéndola posteriormente con papel parafilm y dejándola reposar a temperatura ambiente ($25^{\circ} \text{C} \pm 5^{\circ} \text{C}$) de 2 a 3 horas, hasta que las células se sedimentaran, teniendo sumo cuidado de no mover la bandeja durante el período de incubación; al final de este período los resultados eran leídos por aglutinación.

METODO DE MACRODILUCION

Una vez identificada debidamente la bandeja de ensayo, las muestras y los controles (positivo y negativo) se procedía a efectuar una dilución de 1:64, tanto de las muestras como de los controles, de la siguiente manera:

A) En tubos de ensayo debidamente identificados se depositaba 1.575 ml del diluyente (reactivo C);

- B) Se agregaba 0.025 ml de la muestra y de los controles a cada uno de los tubos respectivos;
- C) Se transfería 0.025 ml de la dilución de 1:64 de la muestra y de los controles a cada uno de los pozos identificados 1 y 2 de la bandeja de ensayo.

Luego se agitaban suavemente los reactivos A y B de la prueba TPM - Test hasta restablecer completamente la suspensión celular; apretando cuidadosamente el frasco gotero calibrado, se transfería una gota (0.05 ml) del reactivo A de la prueba de TPM - Test al pozo 2 y una gota (0.05 ml) del reactivo B al pozo 1.

Mezclando luego el contenido de los pozos de las muestras y de los controles, golpeando ligeramente con la palma de la mano uno de los lados de la bandeja, cubriendo ésta posteriormente con papel parafilm y dejándola reposar a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) de 2 a 3 horas hasta que las células se sedimentaran; evitando no mover la bandeja durante el período de incubación. Y al final de este período los resultados eran leídos.

PROCEDIMIENTO CUANTITATIVO

Las pruebas cuantitativas fueron procesadas a partir de la segunda alícuota de la muestra respectiva; utili-

- A) El método de microdilución;
- B) El método de macrodilución modificado.

METODO DE MICRODILUCION

Una vez identificada debidamente la bandeja de ensayo con las muestras y controles (negativo y positivo); se proveían 11 pozos para cada muestra, y control positivo que iban a ser titulados haciendo diluciones seriadas al doble, desde 1:64 hasta 1:2048, de la siguiente manera:

- A) Se depositaban 0.025 ml del diluyente (reactivo C) a cada uno de los pozos del 1 al 11;
- B) Se añadía 0.025 ml de la muestra y el control respectivamente al pozo 1, mezclándose bien;
- C) Se transfería 0.025 ml desde el pozo 1 al pozo 2 mezclándose y así sucesivamente hasta llegar al pozo 11, descartándose de este último 0.025 ml de la dilución y obteniendo de esta forma las siguientes diluciones.

Pozo 6 - 1:64 (para control de células)

Pozo 7 - 1:128

Pozo 8 - 1:256

Pozo 9 - 1:512

Pozo 10- 1:1024

Pozo 11- 1:2048

E) Luego al pozo 5 se le añadía 0.025 ml del diluyente (reactivo C) mezclando y descartando 0.025 ml de manera que este pozo tuviése al final 0.025 ml de una dilución de la muestra y del control positivo de 1:64

Se agitaban suavemente el reactivo A y B de la prueba TPM - Test hasta que las células estuviéssen completamente suspendidas y no hubiése sedimento visible en el fondo de los frascos, apretando cuidadosamente el frasco gotero calibrado, se agregaba 1 gota (0.05 ml) del reactivo A comenzando con el pozo 6 hasta llegar al pozo 11, adicionando posteriormente 1 gota (0.05 ml) del reactivo B al pozo 5. El control negativo era procesado de la misma manera que en el método de microdilución cualitativo.

Se mezclaba el contenido de los pozos de las muestras y de los controles, golpeando ligeramente con la palma de la mano uno de los lados de la bandeja de ensayo, cubriéndose seguidamente la bandeja con papel parafilm e incubándola a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) de 2 a 3 horas hasta que las células se sedimentaran, teniendo sumo cuidado de no mover la bandeja durante el período de incubación. Al final de este período los resultados eran leídos.

Si en el pozo con la dilución 1:2048 se obtenía un resultado positivo, se continuaba haciendo diluciones hasta -

obtener un resultado negativo. Tomándose como título final la última dilución que presentara una reacción positiva. El resultado final era normalizado.

METODO DE MACRODILUCION

Se identificaban debidamente las bandejas de ensayo con los tubos (12 x 75 mm) que contenían las diluciones 1:64 de las muestras y de los controles. La dilución 1:64 se verificaba de la misma manera que para el método de macrodilución de la prueba cualitativa.

Se destinaban 6 pozos de la bandeja para cada muestra y control positivo que iban a ser titulados preparando diluciones seriadas al doble, de la siguiente manera:

- A) Se agregaba 0.025 ml del diluyente (reactivo C) a cada uno de los pozos, del 2 al 6;
- B) Se añadía 0.025 ml de la dilución de 1:64 del control positivo y de las muestras respectivamente, al pozo 1 y al pozo 2;
- C) Se continuaba transfiriendo sucesivamente 0.025 ml de cada pozo; del pozo 2 al 6, descartándose 0.025 ml de este último, de manera que al final se obtenían las siguientes diluciones:
 - Pozo 1 - 1:64 (para control de células)
 - Pozo 2 - 1:128

Pozo 3 - 1:256

Pozo 4 - 1:512

Pozo 5 - 1:1024

Pozo 6 - 1:2048

Luego se agitaban suavemente los reactivos A y B de la prueba TPM - Test, hasta que las células estuviesen completamente suspendidas y no hubiese sedimento visible en el fondo de los frascos. Se transfería apretando cuidadosamente el frasco gotero calibrado, 1 gota (0.05 ml) del reactivo A, comenzando con el pozo 2 hasta el pozo 6 y luego una gota (0.05 ml) del reactivo B al pozo 1. El control negativo era procesado de la misma manera que en el método de macrodilución cualitativo.

El contenido de los pozos de la muestra y de los controles se mezclaban bien golpeando ligeramente con la palma de la mano uno de los lados de la bandeja, cubriéndose posteriormente la bandeja con papel parafilm e incubándola a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) de 2 a 3 horas hasta que las células se sedimentaran, procurando no mover la bandeja durante el período de incubación. Y al final de este período los resultados eran leídos.

Si en el pozo con la dilución 1:2048 se obtenía -

hasta obtener un resultado negativo. Tomándose como título - final la última dilución que presentara una reacción positiva. El resultado final era normalizado.

De los dos métodos de dilución anteriormente descritos, utilizamos con mayor frecuencia en la realización de este estudio el método de macrodilución, tanto para la prueba cualitativa como para la prueba cuantitativa por considerar - que se reducía el error de dilución y el tiempo utilizado para hacer las diluciones, aumentando además el número de pruebas por placa de ensayo.

CONTROLES

El TPM - Test incluye entre sus reactivos sueros de control positivo y negativo para comprobar la sensibilidad y reproducibilidad del método. Estos sueros controles se preparaban diluyéndolos y procesándolos de la misma manera que el suero de los pacientes.

El suero control negativo (reactivo F) solamente se procesaba en la dilución del 1:64. Esta dilución se preparaba siguiendo los pasos descritos en la prueba cualitativa.

El suero control positivo (reactivo E) era titulado comenzando por los pasos de dilución descritos en la prueba

cualitativa y continuando con el procedimiento habitual de la titulación. Este control sirve para verificar la estabilidad de los reactivos, llamar la atención sobre los posibles errores de técnica y también para normalizar los resultados obtenidos con un determinado set de T P M - Test.

Al diluyente (reactivo C) se le hacía un control agregando 0.025 ml del diluyente a 2 pozos contiguos de la placa de ensayo; a uno de ellos se le adicionaba 0.05 ml - del reactivo A y al otro 0.05 ml del reactivo B.

Los controles positivos, negativos y del diluyente eran corridos cada vez que se verificaba la prueba. Puesto que estos controles nos servían para la identificación de falsos positivos y falsos negativos (46).

NORMALIZACION DE LOS RESULTADOS

La normalización se verifica con el objeto de corregir las variaciones en los títulos, que se observan debido a las diferencias en la potencia del antígeno utilizado para sensibilizar las células, lo que hace que éstas sean hemaglutinadas con mayor avidez. Por ello, para compensar estas variaciones y otras diferencias menos importantes atribuibles a variaciones de técnica de distintos laboratorios clínicos, cada set de T P M - Test incluye un suero de control positivo con un tí

El título normalizado del control positivo y el título bruto medido diariamente con la verificación de las pruebas se utilizaba para corregir los títulos brutos obtenidos con el set respectivo de T P M - Test.

El factor de conversión para la normalización se obtiene dividiendo el título normalizado del control positivo (1:512) entre el título bruto, obtenido en la titulación de éste, por cada set. Siendo el título bruto de una muestra o control, la dilución más alta que da un patrón de hemaglutinación.

$$\text{Factor de normalización} = \frac{512}{\text{Título bruto del control positivo}}$$

Por ejemplo: si el título bruto del control positivo de un set de T P M - Test es de 1:2048, el factor de normalización para dicho set será de: $\frac{512}{2048} = 1/4$

Para obtener los títulos normalizados de las muestras positivas bastará multiplicar el título bruto por el factor de normalización del set de T P M - Test, empleado en la verificación de la prueba.

El uso del título normalizado para expresar los resultados del T P M - Test tiene una gran importancia cuando se comparan muestras de un mismo paciente a lo largo de la -

fueron procesadas con sets de diferentes lotes de TPM - Test, como sigue:

| Fecha | Título bruto | Envase lote número | Factor | Título normalizado |
|---------|--------------|--------------------|--------|--------------------|
| 5-1-83 | 1:64 | 3C7234 | 1 | 1:64 |
| 10-2-83 | 1:256 | 2H7250 | 1/4 | 1:64 |

La comparación de los títulos normalizados en este ejemplo demuestra que no hubo un cambio real del título entre las fechas dadas; lo que pudiera indicar simplemente un estado post infeccioso (infección curada clínicamente), sin signos de reactivación; por el contrario, teniendo en cuenta solamente los títulos brutos, se hubiera podido pensar en un aumento significativo del título de anticuerpo, lo cual es indicativo de una infección activa (46).

LECTURA DE LOS RESULTADOS

Los resultados de ambos métodos, cualitativo y cuantitativo se obtienen mediante la lectura de los patrones de hemaglutinación en la bandeja. Clasificándose los resultados de acuerdo a la tabla de patrones de hemaglutinación que se presentan en la página 31.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

-Las muestras de suero que en la prueba cualitativa

o en la cuantitativa den una reacción (+), o más intensa con el reactivo de células no sensibilizadas (reactivo B) a la dilución de 1:64, deben ser absorbidas y procesadas nuevamente.

-Las muestras de suero que en la prueba cualitativa o cuantitativa den una reacción no superior a una (+) con el reactivo de células sensibilizadas (reactivo A) a la dilución de 1:64, son consideradas como negativas.

-Las muestras de suero que en la prueba cualitativa den una reacción (++) o mayor y den con el reactivo de células no sensibilizadas (reactivo B) una reacción (+), son consideradas como positivas.

Dichos sueros deben de ser titulados y valorados como título bruto; la mayor dilución que de una reacción (++) con el reactivo A. Los resultados finales deben darse en títulos normalizados.

Las muestras de suero que al ser tituladas den una reacción de (++) con el reactivo de células sensibilizadas (reactivo A) y que tengan un título bruto no superior a 1:64, deben considerarse como dudosas siempre que su título normalizado sea de 1:32 o inferior; en dicho caso la prueba debe repetirse con muestras nuevas para determinar si se trata de la

METODO DE ABSORCION DE AGLUTININAS NO ESPECIFICAS

- 1) Se agita suavemente el frasquito que contiene el absorbente (reactivo D) hasta la total resuspensión de las células;
- 2) Usando una pipeta serológica de 1 ml, se pipetea en tubo de ensayo 0.69 ml de absorbente (reactivo D);
- 3) Se agrega 0.02 ml del suero a absorber, sin diluir, al tubo de ensayo;
- 4) Agitando luego suavemente;
- 5) Se incuba la mezcla a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) durante una hora;
- 6) Centrifugando el tubo al final del período de incubación a 3500 revoluciones por minutos, durante 10 minutos;
- 7) El sobrenadante equivale a una dilución de 1:32 del suero problema absorbido. Diluyendo este sobrenadante con volumen igual de diluyente (reactivo C), obtendremos la dilución inicial de 1:64; a partir de ésta se continúa normalmente con los procedimientos descritos para la prueba cualitativa y cuantitativa.

HOJA PARA RECOLECCION DE DATOS

No. Entrada _____

Nombre del asegurado _____

Edad _____ Sexo M _____ F _____

Dirección Familiar _____

Nombre de la empresa _____ Dependencia _____

Contacto con animales domésticos SI__ NO__ Nombre del animal _____

DATOS CLINICOS

Actualmente adolece de alguna enfermedad _____

Embarazos SI__ NO__

al término _____

abortos _____

Transfusión Sanguínea SI__ NO__

Recibió antibiótico por alguna razón SI__ NO__

Sulfas _____

Bactrim _____

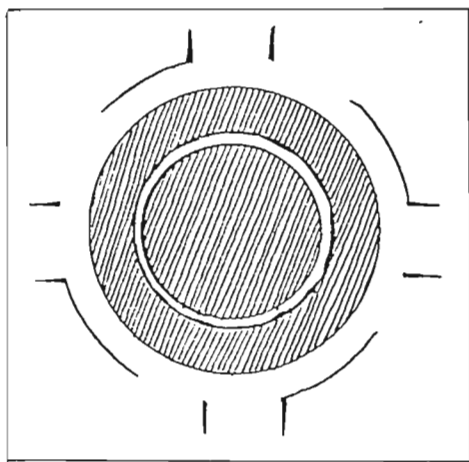
Ha presentado los siguientes síntomas:

Ganglios inflamados SI__ NO__

Dolores articulares SI__ NO__

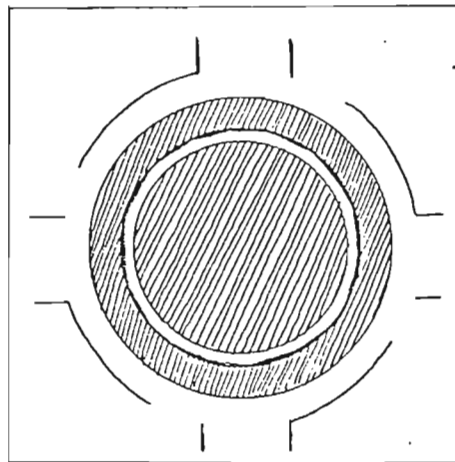
Cefaleas SI__ NO__

Temperatura elevada SI__ NO__



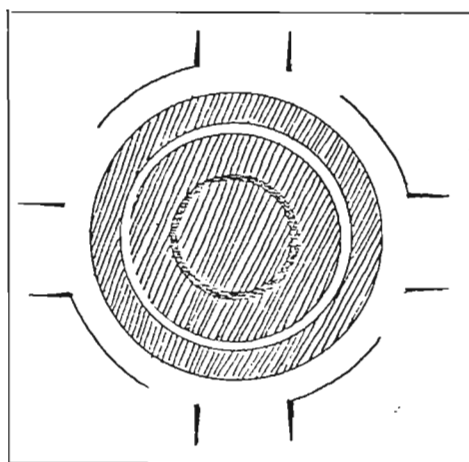
Sedimento uniforme de células que cubren todo el fondo y paredes del pocillo.

(+++++) Positivo



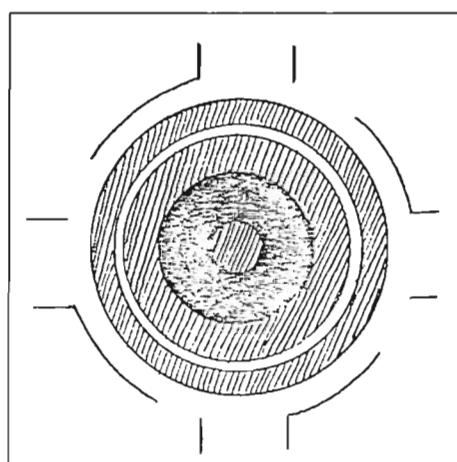
Sedimento uniforme de células que cubren una superficie menor del pocillo.

(+++) Positivo



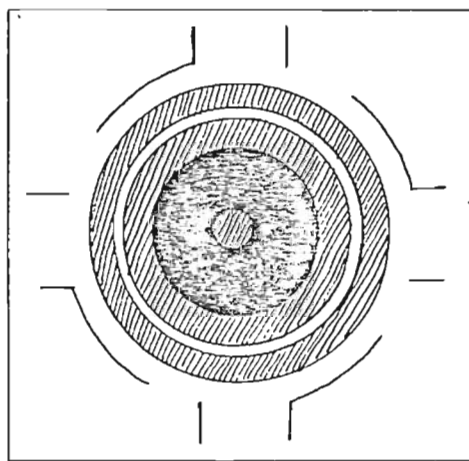
Sedimento uniforme de células rodeado de un círculo rojo.

(++) Positivo

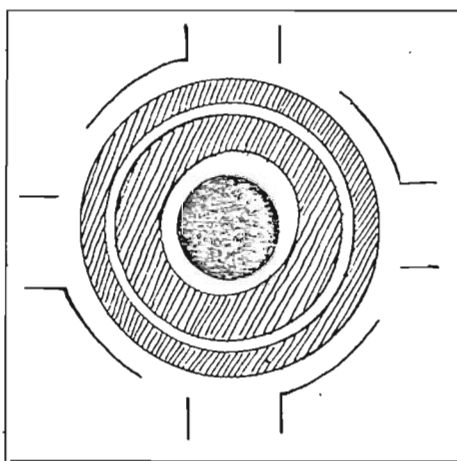


Pequeño sedimento de células rodeado de un denso círculo rojo.

(+) Negativo



Botón de Células con un pequeño orificio



Botón muy compacto de células que pue-

RESULTADOS

Para realizar la prueba de hemaglutinación indirecta TPM - Test, se tomaron muestras de 1031 personas consideradas sanas, de la población asegurada de la zona metropolitana. Las edades de las personas seleccionadas oscilaban entre los 18 y 65 años, ambas edades inclusive; ya que el límite inferior de edad para la clase trabajadora asegurada - considerada activa, para ambos sexos, es de 18 años y el límite superior para el sexo femenino es de 60 y 65 años, para el sexo masculino.

De las muestras de 1031 personas se eliminaron siete, a las cuales fue imposible realizarle la prueba por encontrarse los sueros hemolizados, reduciéndose así el muestreo total a 1024 personas.

Para determinar la incidencia de la enfermedad en la muestra estudiada, primero se calculó el porcentaje de casos positivos y negativos con respecto a la muestra total; luego se dividió la muestra total por sexo, obteniéndose el porcentaje de positividad y negatividad con respecto al número de casos estudiados en cada sexo. Finalmente se dividieron los casos estudiados en cada sexo en grupos etarios con un rango de 5 años, para encontrar el porcentaje de positividad y negatividad en cada uno de estos grupos con respecto a la cantidad de casos estudiados en cada grupo etario. Los casos positivos

obtenidos al realizar la prueba cualitativa fueron sometidos a la Prueba cuantitativa en la cual se distribuyeron las muestras por título, para obtener el porcentaje de éstas, respecto al total de muestras analizadas.

A continuación se analizan los resultados obtenidos en la prueba cualitativa de hemaglutinación indirecta - TPM- Test.

CUADRO No.1

En este cuadro se observa que de los 1024 casos analizados, 666 son positivos, los cuales representan un porcentaje del 65.04% de la población metropolitana asegurada estudiada, el resto de casos indica que el 34.96% de la población asegurada estudiada es negativa.

CUADRO No.2

Este cuadro presenta los resultados de las pruebas realizadas a los 399 casos del sexo femenino de la muestra total. De los cuales 247 casos fueron positivos y 152 casos negativos, que representan un porcentaje del 61.90% y 38.10% respectivamente, predomina siempre el porcentaje de positivos en la muestra.

CUADRO No.3A

En el cuadro 3A se distribuyen los 399 casos del

sexo femenino según el grupo etario a que pertenecen; obteniéndose los porcentajes de positividad y negatividad con respecto al número de casos estudiados por quinquenio.

Analizando la tendencia de los porcentajes de positividad obtenidos, se observa un leve aumento en la prevalencia de la Toxoplasmosis, paralela al incremento de las edades; exceptuando algunos grupos etarios que no siguen esta tendencia. Este criterio se refuerza si se consideran grupos etarios de mayor rango. Ya que la prevalencia es todavía más clara al incrementar la edad, como se observa en el cuadro 3B.

Se señala que el grupo etario de 61 a 65 años no fue considerado en este análisis, debido a que no se obtuvo ninguna muestra del sexo femenino que perteneciera a este rango de edad.

CUADRO No.4

Del cuadro No.4 se puede deducir que de las pruebas realizadas a los 625 casos correspondientes al sexo masculino se obtuvieron los siguientes resultados: 206 casos negativos, que representan el 32.96% del total de casos analizados, y 419 casos positivos que representan el 67.04% con respecto al total de casos estudiados.

Comparando el porcentaje de incidencia obtenido para el sexo masculino y el obtenido para el sexo femenino (cuadro No.2), se observa que en ambos sexos existe una similitud en cuanto a la incidencia de Toxoplasmosis. Siendo un poco más elevado el porcentaje de incidencia para el sexo masculino, lo cual no garantiza que el Toxoplasma incida más en el hombre que en la mujer.

CUADRO No.5A

De igual manera que se distribuyeron los casos correspondientes al sexo femenino, en este cuadro se distribuyen los 625 casos analizados del sexo masculino, obteniéndose los porcentajes de positividad y negatividad para cada grupo etario. Analizando estos, se observa que no hay una tendencia clara o concluyente de la incidencia de la Toxoplasmosis en relación con la edad (Cuadro 5B); sin embargo, considerando la separación por sexo es posible describir que sí se da esta relación en el grupo femenino analizado.

RESULTADOS CUANTITATIVOS

Los resultados obtenidos al aplicar la prueba cuantitativa de hemaglutinación indirecta TPM - Test a los 666 casos positivos obtenidos de la prueba cualitativa, fueron los siguientes:

Se obtuvieron en general títulos de 1:16 hasta títulos de 1:16834; detallándose la cantidad de casos y su respectivo porcentaje en los cuadros siguientes:

CUADRO No.6

En este cuadro se distribuyeron los 666 casos positivos por títulos y luego se obtuvo el porcentaje de estos con respecto al total.

Analizando los porcentajes obtenidos se puede decir que los mayores porcentajes se obtuvieron alrededor de los títulos considerados significativos para Toxoplasmosis que son de 1:64 a 1:512, obteniéndose el mayor porcentaje de 17:41% en este último título; además se observan porcentajes menores pero significativos dentro de los títulos considerados muy significativos para la Toxoplasmosis, (títulos del 1:1024 a 1:16834); títulos que no se esperaba obtener, debido a que se seleccionaron únicamente personas asintomáticas para ser sometidas a la prueba.

CUADROS No.7 y No.8

En estos cuadros se hizo la distribución por título de los 247 casos del sexo femenino y los 419 casos del sexo masculino. Los resultados obtenidos muestran un comportamiento similar, en ambor, al obtenido en los resultados globales del cuadro No.6; lo que a su vez evidencia que no existe di-

CUADRO No.1

RESULTADOS GLOBALES DE LA PRUEBA CUALITATIVA DE HEMAGLUTINACION
INDIRECTA TPM-TEST PARA LAS 1024 MUESTRAS ANALIZADAS

| TOTAL DE CASOS ESTUDIADOS | CASOS NEGATIVOS | % DE CASOS NEGATIVOS | CASOS POSITIVOS | % DE CASOS POSITIVOS |
|------------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|
| 1024 | 358 | 34.96 % | 666 | 65.04 % |

RESULTADOS DE LA PRUEBA CUALITATIVA DE HEMAGLUTINACION
INDIRECTA TPM-TEST PARA LOS 399 CASOS DEL SEXO FEMENINO

| TOTAL DE CASOS ESTUDIADOS | CASOS NEGATIVOS | % DE CASOS NEGATIVOS | CASOS POSITIVOS | % DE CASOS POSITIVOS |
|---------------------------|-----------------|----------------------|-----------------|----------------------|
| 399 | 152 | 38.10 % | 247 | 61.90 % |

PORCENTAJES OBTENIDOS EN LA PRUEBA CUALITATIVA DE HEMAGLUTINACION

INDIRECTA TPM-TEST PARA EL SEXO FEMENINO SEGUN EL GRUPO ETARIO A QUE PERTENECEN

| GRUPOS DE EDAD (AÑOS) | No. DE CASOS EN CADA RANGO | CASOS NEGATIVOS | PORCENTAJE DE LOS CASOS NE- GATIVOS | CASOS POSITIVOS | PORCENTAJE DE LOS CASOS POSITIVOS |
|--------------------------|-------------------------------|--------------------|---|--------------------|--------------------------------------|
| < - 20 | 11 | 9 | 81.82 % | 2 | 18.18 % |
| 21 - 25 | 79 | 33 | 41.77 % | 46 | 58.23 % |
| 26 - 30 | 112 | 44 | 39.29 % | 68 | 60.71 % |
| 31 - 35 | 84 | 42 | 50.00 % | 42 | 50.00 % |
| 36 - 40 | 53 | 11 | 20.75 % | 42 | 79.25 % |
| 41 - 45 | 34 | 8 | 25.53 % | 26 | 76.47 % |
| 46 - 50 | 14 | 2 | 14.29 % | 12 | 85.71 % |
| 51 - 55 | 10 | 3 | 30.00 % | 7 | 70.00 % |
| 56 - 60 | 2 | 0 | 00.00 % | 2 | 100.00 % |
| 61 - 65 | - | - | - | - | - |
| O T A L | 399 | 152 | | 247 | |

TENDENCIA DEL AUMENTO EN LA INCIDENCIA DEL TOXOPLASMOSIS
 CON LA EDAD EN GRUPOS ETARIOS DE MAYOR RANGO. SEXO FEMENINO

| UPO DE EDAD (AÑOS) | No. DE CASOS EN CADA RANGO | CASOS NEGATIVOS | PORCENTAJE DE LOS CASOS NE- GATIVOS | CASOS POSITIVOS | PORCENTAJE DE LOS CASOS PO- SITIVOS |
|-----------------------|-------------------------------|--------------------|---|--------------------|---|
| < - 25 | 90 | 42 | 46.66 % | 48 | 53.30 % |
| 26 - 35 | 196 | 86 | 43.87 % | 110 | 56.12 % |
| 36 - 45 | 87 | 19 | 21.83 % | 68 | 78.16 % |
| 46 - 55 | 24 | 5 | 20.83 % | 19 | 79.16 % |
| 56 - 65 | 2 | 0 | 0 % | 2 | 100.00 % |

RESULTADOS DE LA PRUEBA CUALITATIVA DE
HEMAGLUTINACION INDIRECTA TPM-TEST PARA EL SEXO MASCULINO

| TOTAL DE CASOS ESTUDIADOS | CASOS NEGATIVOS | % DE CASOS NEGATIVOS | CASOS POSITIVOS | % DE CASOS POSITIVOS |
|---------------------------|-----------------|----------------------|-----------------|----------------------|
| 625 | 206 | 32.96 % | 419 | 67.04 % |

INDIRECTA TPM-TEST PARA EL SEXO MASCULINO SEGUN EL GRUPO ETARIO A QUE PERTENECEN

| GRUPO DE EDAD (AÑOS) | No. DE CASOS EN CADA RANGO | CASOS NEGATIVOS | PORCENTAJE DE LOS CASOS NE- GATIVOS | CASOS POSITIVOS | PORCENTAJE DE LOS CASOS PO- SITIVOS |
|-------------------------|-------------------------------|--------------------|---|--------------------|---|
| < - 20 | 24 | 4 | 16.67 % | 20 | 83.83 % |
| 21 - 25 | 128 | 51 | 39.84 % | 77 | 60.16 % |
| 26 - 30 | 128 | 54 | 42.19 % | 74 | 57.81 % |
| 31 - 35 | 127 | 39 | 30.71 % | 88 | 69.29 % |
| 36 - 40 | 84 | 17 | 20.24 % | 67 | 79.76 % |
| 41 - 45 | 62 | 17 | 27.42 % | 45 | 72.58 % |
| 46 - 50 | 27 | 8 | 29.63 % | 19 | 70.37 % |
| 51 - 55 | 29 | 8 | 27.59 % | 21 | 72.41 % |
| 56 - 60 | 15 | 8 | 53.33 % | 7 | 46.67 % |
| 61 - 65 | 1 | 0 | 00.00 % | 1 | 100.00 % |
| TOTAL | 625 | 206 | - | 419 | - |

DISTRIBUCION DE LA TOXOPLASMOSIS EN GRUPOS ETARIOS
 DE MAYOR RANGO PARA EL SEXO MASCULINO

| O DE EDAD AÑOS) | No. DE CASOS EN CADA RANGO | CASOS NEGATIVOS | PORCENTAJES DE LOS CASOS NEGA- TIVOS. | CASOS POSITIVOS | PORCENTAJES DE LOS CASOS POSITIVOS. |
|---------------------|-------------------------------|--------------------|---|--------------------|--|
| - 25 | 152 | 55 | 36.18% | 97 | 63.81 % |
| - 35 | 255 | 93 | 36.47% | 162 | 63.52 % |
| - 45 | 146 | 34 | 23.28% | 112 | 76.71 % |
| - 55 | 56 | 16 | 28.57% | 40 | 71.42 % |
| - 65 | 16 | 8 | 50.00% | 8 | 50.00 % |

RESULTADOS GLOBALES DE LA PRUEBA CUANTITATIVA
DE LA HEMAGLUTINACION INDIRECTA TPM-TEST POR TITULO Y SUS PORCENTAJES

| TITULO | No. DE CASOS POR TITULO | PORCENTAJE CON RESPECTO AL No.TOTAL DE CASOS |
|-----------|-------------------------|---|
| 1:16 | 52 | 7.81 % |
| 1:32 | 61 | 9.16 % |
| 1:64 | 97 | 14.57 % |
| 1:128 | 103 | 15.47 % |
| 1:256 | 96 | 14.41 % |
| 1:512 | 116 | 17.41 % |
| 1:1024 | 63 | 9.46 % |
| 1:2048 | 52 | 7.81 % |
| 1:4096 | 7 | 1.05 % |
| 1:8192 | 11 | 1.65 % |
| 1:16834 | 8 | 1.20 % |
| T O T A L | 666 | 100.00 % |

CUADRO No.7

RESULTADOS DE LA PRUEBA CUANTITATIVA DE HEMAGLUTINACION
INDIRECTA TPM-TEST PARA EL SEXO FEMENINO POR TITULO Y SUS PORCENTAJES

| T I T U L O | No. DE CASOS POR TITULO | PORCENTAJE CON RESPECTO AL No. TOTAL DE CASOS |
|-------------|-------------------------|--|
| 1:16 | 19 | 7.69 % |
| 1:32 | 25 | 10.12 % |
| 1:64 | 37 | 14.98 % |
| 1:128 | 34 | 13.77 % |
| 1:256 | 44 | 17.81 % |
| 1:512 | 48 | 19.43 % |
| 1:1024 | 18 | 7.29 % |
| 1:2048 | 13 | 5.26 % |
| 1:4096 | 3 | 1.20 % |
| 1:8192 | 3 | 1.20 % |
| 1:16834 | 3 | 1.20 % |
| T O T A L | 247 | 100.00 % |

RESULTADOS DE LA PRUEBA CUANTITATIVA DE HEMAGLUTINACION
INDIRECTA TPM-TEST PARA EL SEXO MASCULINO POR TITULO Y SUS PORCENTAJES

| T I T U L O | No. DE CASOS POR TITULO | PORCENTAJE CON RESPECTO AL No. TOTAL DE CASOS |
|-------------|-------------------------|--|
| 1:16 | 30 | 7.16 % |
| 1:32 | 34 | 8.11 % |
| 1:64 | 60 | 14.32 % |
| 1:128 | 59 | 14.08 % |
| 1:256 | 56 | 13.37 % |
| 1:512 | 90 | 21.48 % |
| 1:1024 | 45 | 10.74 % |
| 1:2048 | 30 | 7.16 % |
| 1:4096 | 4 | 0.96 % |
| 1:8192 | 5 | 1.19 % |
| 1:16834 | 6 | 1.43 % |
| T O T A L | 419 | 100.00 % |

DISCUSION

Los resultados de este trabajo muestran que el 65.04% de la población estudiada presentan títulos positivos. Esta cifra es mayor que la citada por Herrera y colaboradores en El Salvador (21), y que el porcentaje reportado en la población adulta de los Estados Unidos (25 al 50%) es, similar a la reportada en Honduras (64%) (13) e Italia (60 - 70%) y menor a la reportada en Guatemala (94%) y Costa Rica (88.5%) (19,21).

Lo anterior demuestra que desde el punto de vista epidemiológico, la prevalencia de títulos de anticuerpos de *Toxoplasma* varía de país a país, y que existe una considerable diferencia en la incidencia geográfica, siendo rara en las regiones frías con una incidencia de un 0% en Alaska y el norte de Suecia y frecuente en las regiones tropicales o áreas costeras en las que se reporta hasta un 70% en Tahití (21, 31, 37).

La incidencia depende de factores como: condiciones de salubridad, hábitos alimenticios y capacidad inmunológica del huésped. Este último factor, aunado a la capacidad del parásito de penetrar y establecerse en los tejidos, aumenta la agresividad de la cepa del toxoplasma infectante, determinando las manifestaciones clínicas como enfermedad (1, 42).

Frente a la gran distribución geográfica mencionada, contrasta el hecho de que la Toxoplasmosis, como enfermedad, es relativamente rara, a juzgar por los porcentajes y títulos altos de las pruebas serológicas positivas obtenidas al azar en grupos de habitantes, en los diferentes países; nos dá la impresión que la infección pasa inadvertida en la gran mayoría de los casos, ya sea por ser asintomática o por presentar síntomas y signos discretos que no le son propios, tales como una linfadenitis benigna, semejante a la mononucleosis infecciosa, fiebre, exantema máculo papuloso, neumonitis, encefalitis y coriorretinitis.

Dentro del campo obstétrico el toxoplasma al penetrar y establecerse en el músculo uterino atraviesa la placenta haciendo posible que el parásito sea causante de abortos, partos prematuros, mal formaciones fetales, óbitos ó infección congénita, que puede ser manifiesta o latente, siendo innegable su relación con la patología obstétrica (31, 35, 36, 37, 40, 42, 47).

La toxoplasmosis adquirida de tipo asintomática es de primordial importancia en el campo de la obstetricia, pues la madre durante el embarazo puede contagiar al feto y ocasionarle lesiones severas que constituyen la llamada "forma congénita", la cual produce alteraciones que limitan la actuación del médico en beneficio del feto. Podríamos sumar a este hecho

que la buena medicina debe prever en vez de curar y que la intervención oportuna puede revelar la etiología del mal, ya que ésta causa lesiones generalmente incompatibles con la vida o por lo menos con la vida normal (43).

Comparando el número de casos con reacciones positivas dentro de los diferentes grupos étnicos, observamos que hay tendencia clara o concluyente al aumento de la incidencia de la toxoplasmosis, en relación con la edad, en el sexo femenino, y que no hay una diferencia significativa entre la incidencia en ambos sexos (cuadros 3B y 5B). Algunos autores han reportado curvas de progresión (11) o regresión (24) lineal del número de pacientes con títulos positivos y los grupos étnicos, para ambos sexos. En este estudio se ha demostrado una progresión solamente para el sexo femenino. Las rutas principales de transmisión parecen ser por vía oral y congénitas, existiendo únicamente presunciones sobre la fuente exacta de infección y el mecanismo de transmisión, ya que el parásito está ampliamente distribuido en la naturaleza. Pueden servir como reservorios: perros, gatos, roedores, cerdos, reses, ovejas, cabras y otros mamíferos, además de palomas, pollos y otras aves; los cuales se presume que se infectan al ingerir excremento de animales infectados o por contacto directo con ellos (31, 37).

Aunque datos recientes demuestran que los oocistos

son excretados únicamente por el gato y las áreas en las cuales han sido depositados son potencialmente peligrosas para el hombre y los animales domésticos, éstos últimos, al ingerir el parásito contaminan su carne, la cual en algunos de ellos es utilizada para el consumo humano. Se ha encontrado que el 10% de la carne de carnero contiene quistes de toxoplasma, 25% la de cerdo y 10% la de res (12, 23, 26, 27, 28, 30, 39), sirviendo como fuentes de infección para el hombre, si son ingeridas crudas o mal cocidas (29). Se considera que ésta es una de las causas principales de la alta prevalencia de la toxoplasmosis y no tiene ninguna relación con la incidencia probable que se encuentra en los diferentes sexos y edades.

La transmisión del toxoplasma por transfusión sanguínea no ha sido comprobada, pero puede suceder; se han reportado casos donde el toxoplasma ha sido recuperado de la sangre donada para transfusión de personas asintomáticas. - Los casos reportados habían sido transfundidos con sangre completa. Se sabe que el toxoplasma no invade eritrocitos y que permanece viable en los leucocitos, específicamente dentro de los monocitos y los neutrofilos (fagocitosis), pudiendo ser ésta otra de las vías de transmisión del parásito ya que ha sido demostrado que el organismo sobrevive en sangre total citratada almacenada a 4°C hasta por 50 días (20, 37, 43).

Basándose en los títulos obtenidos en nuestro estudio podemos decir que los mayores porcentajes de casos positivos oscilaron entre los títulos de 1:64, 1:128, 1:256 y 1:512, obteniendo en este último título el mayor porcentaje (17.41%).

Creemos que a pesar de que estos títulos son significativos de Toxoplasmosis, el alto índice de anticuerpos neutralizantes se debe al contacto que tiene el adulto con el toxoplasma en la naturaleza, proporcionándoles inmunidad, y solamente cuando hay una nueva infección masiva o la presencia de una enfermedad intercurrente o una inmunodepresión es cuando pueden aparecer síntomas clínicos que hacen pensar en la toxoplasmosis; desafortunadamente el feto está desprovisto de esta inmunidad y es así como vemos a madres supuestamente sanas tener hijos con cuadros graves de toxoplasmosis congénita (47).

En relación al porcentaje de casos positivos obtenidos con títulos de 1:1024, 1:2048, 1:4096, 1:8192 y 1:16384, la prevalencia fue baja pero para nosotros muy significativa, debido a que son títulos que no esperábamos obtener en las personas estudiadas por ser títulos altamente sugestivos de una infección reciente; pero también podían reflejar una exposición pasada, puesto que títulos elevados pueden persistir por años en ausencia de una infección activa; estos títulos en presencia con signos y síntomas clínicos de la toxoplasmosis son fuerte evidencia para el diagnóstico de esta enferme

medicado con antibióticos tipo Bactrim y sulfa, terapéuticos utilizados en nuestro medio frecuentemente para el tratamiento de enfermedades comunes como de vías respiratorias y de vías urinarias. Estos datos que pudimos obtener por medio de entrevistas que les hicimos a estas personas, previa a la obtención de las muestras, con el objeto de determinar si en verdad era asintomáticos.

Los porcentajes de casos positivos obtenidos en los títulos de 1:16 (7.81%) y de 1:32 (9.16%) son representativos, sugiriendo una infección previa con Toxoplasma gondii y probablemente inmunidad contra infecciones subsecuentes (25). Hasta donde se sabe, un paciente adquiere la infección solamente una vez (18). Un título inferior a 1:16 indica que el paciente no ha sido infectado y que no está inmune, o que ha contraído la enfermedad y aún no ha desarrollado anticuerpos ya que se necesitan por lo menos dos semanas a partir de la infección para desarrollar niveles detectables de anticuerpos.

Los anticuerpos del toxoplasma disminuyen lentamente, siendo detectables por años y pudiendo persistir de por vida. Lo anterior nos indica que un título estable de anticuerpos es significativo de que el paciente ha padecido la infección en algún tiempo.

La ausencia de anticuerpos contra toxoplasma sugiere que el paciente tiene el riesgo de adquirir la infección (25). Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran un porcentaje de 34.96% de los casos negativos.

Se comprobó que la prueba de hemaglutinación indirecta TPM-Test es una prueba diagnóstica, práctica, rápida, sencilla, que no precisa del empleo de microscopio de fluorescencia, ni requiere de conocimientos especiales para su realización.

El antígeno utilizado en la prueba TPM-Test para detectar los anticuerpos contra el Toxoplasma gondii, es mixto, estando constituido por componentes citoplasmáticos solubles y por compuestos insolubles de la membrana celular del toxoplasma, lo que hace posible revelar anticuerpos precoces relacionados directamente con la pared celular del protozooario, que son de tipo IgM, que aparecen en la etapa aguda de la infección, y también revele anticuerpos tardíos, relacionados directamente con los componentes citoplasmáticos del parásito, que son de tipo IgG, los cuales aparecen en la etapa crónica de la infección (gráfica Pag.58).

En particular este antígeno puede diferenciar los anticuerpos IgM de los IgG después de tratar el suero del paciente con 2-Mercaptoetanol (2-ME), que inhibe el poder -

de aglutinación de los anticuerpos IgM (3, 4, 9). Este reactivo no es proporcionado en el set. Siendo imposible obtener el 2-ME en el país, no pudimos comprobar la veracidad de lo afirmado.

Una característica exclusiva del TPM - Test, es la técnica de normalización de los resultados, corrigiendo de esta manera las posibles variaciones en la potencia del antígeno para diferentes lotes (10).

Las limitaciones del set son mínimas y se enumeran a continuación:

- 1) Aunque la aglutinación no específica con dilución de 1:64 es muy rara, en caso de producirse se detectará fácilmente por la aglutinación del reactivo B. En este caso el reactivo D absorbente es capaz de eliminar las aglutininas no específicas. No se encontró en este estudio ningún caso de aglutininas no específicas.
- 2) En general los títulos elevados son significativos de Toxoplasmosis, aunque el título en una sola muestra no tiene mayor significado, por ello cuando una muestra de suero de un paciente es positiva, debe repetirse la prueba con una nueva muestra después de dos a tres semanas. Un segundo título que sea por lo menos

cuatro veces superior al primero indica segura infección activa.

Siendo esta prueba de gran utilidad para la detec
ción de anticuerpos específicos contra Toxoplasma gondii
en controles epidemiológicos de grandes grupos de pobla-
ción (10, consideramos que desde el punto de vista técni-
co, por su simplicidad, puede ser utilizada en cualquier
laboratorio que realice métodos serológicos para la detec
ción de la Toxoplasmosis. Una de las ventajas de la prue-
ba es el uso de las cantidades mínimas de reactivos y de
suero de pacientes.

Es evidente la alta prevalencia de títulos posi-
tivos de anticuerpos en nuestra población (65.04%), lo -
cual señala que la infección por Toxoplasma gondii tiene
carácter endémico en nuestro país. Esta población ha ad-
quirido la infección en una forma tan discreta que ha pa
sado completamente inadvertida tanto para el paciente co
mo para el médico.

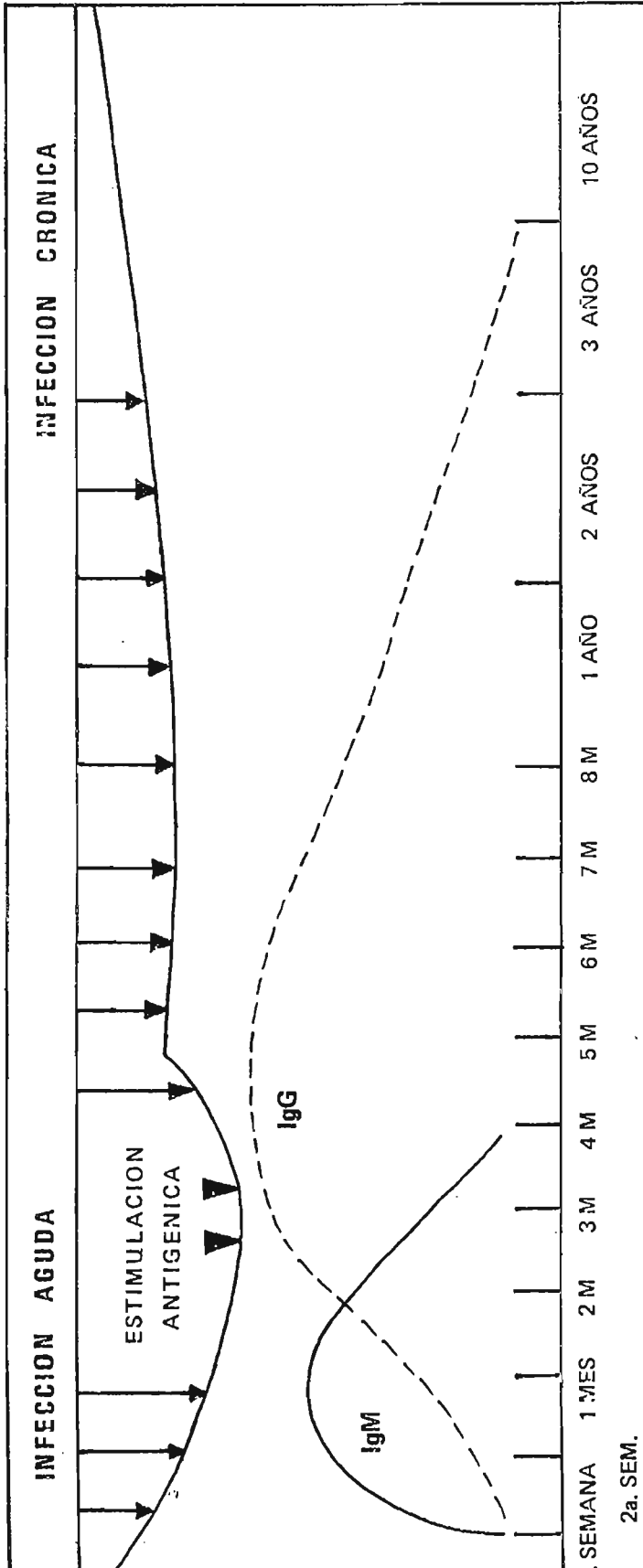
Recomendamos hacer pruebas serológicas en busca
de anticuerpos a toxoplasma en todas las futuras pacien-
tes obstétricas antes de embarazarse. Si la prueba de -

anticuerpos es positiva antes del embarazo, la paciente deberá evitar el riesgo a embarazarse antes del tratamiento. Y para aquellos pacientes con prueba negativa a toxoplasma, evitar la exposición con el protozoario durante el embarazo, ingiriendo únicamente carnes perfectamente cocidas, y evitando el contacto con ooquistes de Toxoplasma gondii (evitar los gatos, sus heces, cajones en que duermen, tierras de jardín, cajas con arena y otros objetos relacionados con éstos).

Los controles que se hagan posteriormente a un tratamiento deben de hacerse por lo menos con tres semanas de intervalo después de finalizado el tratamiento; para que estos títulos sean demostrativos de una infección activa o no.

Esperamos que en base a los resultados obtenidos en el presente trabajo todas aquellas instituciones relacionadas con la medicina se interesen en establecer campañas de divulgación especialmente en el medio profesional, con el fin de diagnosticar, prevenir y tratar apropiadamente esta infección de nefastas consecuencias.

PRODUCCION DE ANTICUERPOS EN UNA TOXOPLASMOSIS



2a. SEM.

AmBrose-Thomas P. La detection des anticorps IgG et IgM dans le diagnostic de la toxoplasmose acquise et la prevention de la toxoplasmose congenitale - Bull. Soc. Pathol. hum. et comp., 1972, 4, 211.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Aguiluz R.A.L., Toxoplasmosis y embarazo, trabajo de investigación correspondiente al primer año de la residencia de Gineco-Ostetricia. Hospital General del Seguro Social. San Salvador. 1981. Pág, 1-31.
- 2) Ambroise,- Thomas P.; la Toxoplasmosis - Cahiers Médicaux Lyonnais, 1972, 48.
- 3) Ambroise, - Thomas P.; la detection des anticorps IgG et IgM dans le diagnostic de la Toxoplasmosis adquirida et la Prevention de la Toxoplasmosis Congénitale - Bull. Soc. Pathol.hum.et comp. 1972, 4, 211.
- 4) Ambroise, - Thomas P., Simons J. et Rayard M., L'hemagglutination indirecte avec antigéne total mixte, dans le controle antitoxoplasmique et le Séro-diagnostic de la Toxoplasmosis humaine, Comparaison á L'immuno-Fluorescence. Biomedicine, 1978, 29, 245 - 248.
- 5) Beverly, J.k.A. Toxoplasmosis, British Med.J. 1973, vol.2 Pag, 475.
- 6) Bommer W. Höfiling H.K. y Heuner H.H. Mecanismo de entrada del toxoplasma a la célula. Medicina Alemana, 1962, vol.10 Pag, 238 - 236.

- 7) Cardoso, A., Gumaraes, N., y García, P.: "Congenital Toxoplasmosis". Human Toxoplasmosis. The VIII International congreco Paediatric Copenhagen. Denmark Proceedings of the conference on clinical aspects and Diagnostic problems of Toxoplasmosis in paediatrics. Revised and Edited 1959, Munksgaard 1960, 1 - 17.
- 8) Capron A., Wattré P., Vernes A. et Delaunoy G., Le Diagnostic immunologique de la Toxoplasmosis. Lille Médical, 1974, 19, 2, 147 - 150.
- 9) Date of File, Laboratory Bauty Diagnostici. S.P.A. Italiana, via Vanvitelli, 6 - Milano.
- 10) Date on File, Carter - Wallace, Inc.
- 11) Desmonts, G., Couvre, J. Congenital Toxoplasmosis. N.Eng. J. Med. 1974, Vol.290, Pag. 1110.
- 12) Dubay, J.P., Miller, N.L., and Frenkel, J.K.: Toxoplasma gondii life cycle in Cats, J. Amer. vet. Med. Ass. 1970, Vol. 157, Pag. 1767
- 13) Escapini Humbert. Toxoplasmosis un problema oftalmológico en el adulto, arch.col. med. El Salvador, 1970, Vol. 23 No.4, Pág. 181 - 193.

- 14) Escapini Humbert. Toxoplasmosis, Archivos del Colegio Médico de El Salvador. 1955. Volúmen 8 No.3, Pág. 177 - 190.
- 15) Espinosa V., Machain A.E. Estrada A., Medrano P.G., 1966, Semana Médica de Centroamérica y Panamá, Toxoplasmosis Humana, volúmen III No.32, Pág.167 - 174.
- 16) Faust F.C., Rusell P.F. Jung, R.C. Parásitología clínica, Salvat, 1974. 8a. Ed. Pág. 229 - 235.
- 17) Frenkel, J.K., Bioscience, 1973. vol. 23 pág. 343.
- 18) Fuchs, F., Kimball, A.C., Kean, B.H. Tratamiento de la Toxoplasmosis en el embarazo. Referencia proporcionada por el Dr. Jorge Benjamín Castillo A. citado por Aguiluz (1).
- 19) Gibson and Coleman. Inc. Prevalence of Toxoplasma Antibodies in Guatemala and Costa Rica .Tropical Med. and Hg. 1958, Vol. 7 Pág. 334.
- 20) Grignaschi J.V. Citoematología de Leishmaniasis, chagas, Paludismo y Toxoplasmosis, Revista de la Asociación Bioquímica Argentina, 1971, Vol.198, Pág. 296 - 298.

- 21) Herrera C.H., Vasquez L.E., Hasfura M. Toxoplasmosis en El Salvador, arch. Col.Méd. de El Salvador, 1974. Vol. 27 No.2, Pág. 118 - 124.
- 22) Harrinson y colaboradores. Texto de medicina 3a.edición, 1969, Pág. 1171 - 1173.
- 23) Hellman, E., and Tauscher, L.: Research into the occurrence of Toxoplasma in fresh beef and pork, Berlín, München -- Tieraerztl. Wschr, 1927, Vol . 80, Pág. 209.
- 24) Hume, O.S. Toxoplasmosis and pregnancy, Am. J. Obstet. Gynecol. 1972, vol. 114, Pág. 703.
- 25) International Diagnostic Tecnology, Fiax Test Kit for Toxoplasma G. antibodies, Santa Clara, California: IDT, 1981, Pág. 1 - 19.
- 26) Ishii, T., Kobayashi, A., Koyama, T., Kumada, M., and Komiya, Y.: estudies on Toxoplasma Jap J. Parasit.1962, Vol.11, Pág. 184.
- 27) Jacobs, L., Remington, J.S. and Melton, M.: A. Sorvey of meat samples from suvine, cattle and sheep for the presence of encysted Toxoplasma. J.Parasit. 1960, Vol.46, Pág.23.

- 28) Katsube, Y, Hagiwara, T., Miyakawa, H., Muto, T., Imaizumi, K., Masuda K. and Miyake, I.: Latent infection of *Toxoplasma* en swine eyes and diaphragm. Jap. J.Med. Sci.Biol.1968, Vol. 21, Pág. 427.
- 29) Kean, B.H., Kimball, A.C., and Christenson, W.N.: and epidemic of acute Toxoplasmosis, JAMA, 1969, Vol.208, Pág. 1002.
- 30) Komiya, Y., Kobayashi, A., and Koyama, T.: Human Toxoplasmosis particularly on the possible source of its infection in Japan. Jap. J.Med. Sci.Biol. 1961, Vol.14, Pág.157.
- 31) Krugman, S. Ward, R. Enfermedades Infecciosas, nueva edit. Interamericana 1974, 5a.Ed. Pág. 316 - 323.
- 32) Laboratory manual for medical Parasitology prepared by J. Walter Berck, ph. D. University of Miami School of medicine Florida, 1959, Pág. 35 - 36.
- 33) Lelong, M.: "Congenital Toxoplasmosis". Human Toxoplasmosis. The VIII International Congress Paediatrics. Copenhagen. Denmark, Proceedings of the Conference on Clinical Aspects Diagnostic Problem of Toxoplasmosis in Paediatrics. Revised and Edited 1959. Munksgard, 1960, Pág. 15 - 17.

- 34) Lunde, M.N., Jacobs, L., Wood, R.M.: Arch. Ophtal, 1963, Vol. 63, Pág.10.
- 35) Parson, L., Sommers, S.C. Gynecology. Philadelphia, -- saunder Co., 1978, Pág. 76 - 391 - 478.
- 36) Reimann, H.P., Meyer M.E. et al. Toxoplasmosis in an infant fed unpasteurized goat milk. J. pediatrics, 1975, vol. 87, Pág. 617.
- 37) Remington, J.S., Toxoplasmosis in Charles, A., Finland, M. Editors: obstetrics and perinatal infections. Lea and Febiger, publishers, 1973, Pág. 27.
- 38) Remingtón, J.S., Efrom, B., Cavanaugh, E. Simón, H.J., Trejos, A. Studies of Toxoplasmosis in El Salvador. Trns. Roy, soc. Trop. Med. Hyg. 1970, vol.64, pág. 252.
- 39) Remingtón, J.S.: Toxoplasmosis and congenital infección. Intrauterine Infecciones. Birth Defects original article Series, 4:47, New York, the national Foundati6n, March of Dimes, 1968.
- 40) Sepúlveda, P. (1958): "Toxoplasmosis" u "Revisi6n Bibliográfica". Tesis doctoral folleto H-64 Facultad de Medicina. Universidad de El Salvador, C.A.

- 41) Schweinsberg H. Serodiagnóstico en Toxoplasmosis. Hojas de Laboratorio para el diagnóstico médico. 1975, Pág.25.
- 42) Shafer, N. New York Journal Med.1975, Vol.75, Pág.1049.
- 43) Stray - Pedersen, B., Lorentzen - Strys, A. Uterine Toxoplasma infección and repeated abortión. am. J. Obstet. Gynecol. 1977, vol.128, pág.716.
- 44) Talice, R.M., Gurri J. Royol, J., and Pérez - Moreira,L.; Investigaciones sobre la Toxoplasmosis en el Uruguay, aun. Fac.Med. Montev. 1957, vol.42, pág.143.
- 45) Tood Sanford: Diagnóstico clínico por el Laboratorio, - Edit Salvat, 1978, 15a. Ed.Pág. 887 - 891.
- 46) T P M - Test.Procedure and practice, Indirect Hemagglutination Test for the quealitative and quantitative determination of antibodies to Toxoplasma gondii in serum. Carter Wallace Inc., Dist.Half Acre Road, Cranbury, N.J. 08512 U.S.A.
- 47) Urrutia Centeno, Luis E. Transmisión placentaria de anticuerpos de Toxoplasma Gondii. Tesis Recepcional. México. D.F. 1960, Pág. 1 - 38.