

**Universidad de Costa Rica**

**Facultad de Microbiología**

**Sección de Protozoología**

**Trabajo final de graduación para optar por el título de  
Licenciatura en Microbiología y Química Clínica**

**Determinación de anticuerpos contra  
*Toxoplasma gondii* en niños de edad  
escolar, en San José, Costa Rica.**

**Alejandro Hernández Bolaños.**

**Tutora: Dra. Liliana Reyes Lizano.**

**Ciudad Universitaria Rodrigo Facio O.**

**Junio, 2002.**

**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA**  
**FACULTAD DE MICROBIOLOGIA**  
**SECCION DE PROTOZOOLOGIA**

**DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA**  
***TOXOPLASMA GONDII* EN**  
**DE NIÑOS DE EDAD ESCOLAR, EN SAN JOSÉ,**  
**COSTA RICA.**

Coordinadora del proyecto: Dra. Liliana Reyes Lizano.

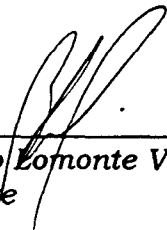
Realizado por: Alejandro Hernández Bolaños. 961451

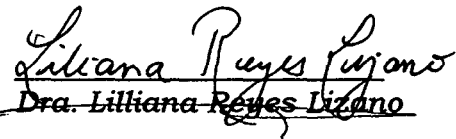
**CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO O.**

**JUNIO, 2002.**

**Informe Final de Práctica Dirigida de Graduación presentado a la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el Título de Licenciado en Microbiología y Química Clínica y grado profesional de Doctor en Microbiología y Química Clínica.**

**El Tribunal Examinador estuvo integrado por los siguientes miembros:**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Bruno Eomonte Vigliotti**  
**Presidente**

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Lilliana Reyes Lizano**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Alfredo Castro Castillo**

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Elizabeth Abrahams Sandi**

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Ileana Holst Schumacher**

## INDICE

TÍTULO	PÁGINAS
• Agradecimiento -----	3
• Marco Teórico -----	4 – 14
• Objetivos -----	15
• Materiales y Métodos -----	16 – 18
• Resultados -----	19 – 23
• Discusión -----	24 – 29
• Bibliografía -----	30 – 34
• Anexos -----	35 - 36

**A mis padres, por su apoyo incondicional durante mi vida, y a toda mi familia,  
porque sin ellos nunca hubiera logrado mis metas.**

## MARCO TEÓRICO

La toxoplasmosis es una infección producida por el protozoo intracelular de la clase Coccidia, *Toxoplasma gondii*.<sup>1, 2</sup> capaz de infectar un amplio rango de hospedadores intermediarios, principalmente mamíferos.<sup>8</sup> Esta parasitosis es una zoonosis y el huésped más importante para su diseminación es el gato doméstico (Fam. Felidae.), animal en donde se da la fase de reproducción sexual del parásito<sup>8</sup>, productora de ooquistes los cuales son excretados por las heces y se convierten en una de las formas infectantes para el hombre y otros vertebrados. Los ooquistes maduran en el medio externo a temperatura ambiente y con suficiente humedad. Entre 24 y 48 horas después de haber sido expulsados, se forman los esporozoitos, que corresponden a las formas infectantes. La maduración se retarda o no se realiza en condiciones ambientales hostiles, como falta de oxígeno, temperaturas bajas o muy altas, superiores a 35°C<sup>2</sup>. Cuando los ooquistes maduros son ingeridos, pueden repetir su ciclo sexual en un felino o si es ingerido por cualquier otro mamífero diferente a un felino, incluyendo al hombre, inicia una fase de reproducción asexual caracterizada por la presencia de taquizoitos y quistes tisulares con bradizoitos<sup>9, 10</sup>

La infección en los seres humanos se puede dar por varios mecanismos: 1) ingestión de ooquistes que son eliminados en la materia fecal de los felinos (Fam. Felidae)<sup>2</sup>, vía más importante de transmisión de esta parasitosis en nuestro país<sup>4</sup>, 2) ingestión de quistes tisulares en carne semi-cocida de animales infectados<sup>1</sup> como, por ejemplo, ganado porcino y bovino, animales en donde se presenta una alta prevalencia

de *Toxoplasma gondii*<sup>6</sup>, 3) por vía congénita<sup>1</sup>, 4) transfusión sanguínea y 5) transplante de órganos<sup>1</sup>, los dos últimos aunque clínicamente importantes son epidemiológicamente raros.<sup>3</sup>

En la mayoría de los países, la prevalencia de *Toxoplasma gondii* se encuentra entre un 40 y un 50%<sup>4</sup>. Las características del medio ambiente influyen en esta prevalencia, ya que es mayor en regiones calientes y húmedas y baja en zonas con climas secos y fríos<sup>2</sup>. Los factores sociales y económicos no tienen relación especial con este parásito, pero los factores culturales influyen, pues la costumbre de comer carne cruda o mal cocida y la de tener gatos en las casas favorecen la infección<sup>2</sup>.

La toxoplasmosis en los seres humanos puede cursar como una infección asintomática o puede producir la enfermedad como tal<sup>4</sup>. Estudios serológicos indican que en varios grupos poblacionales la prevalencia de infecciones por *Toxoplasma gondii* aumenta con la edad<sup>5</sup>, variando desde menos de un 5 por ciento hasta un 70 e incluso un 80 por ciento en ciertos grupos etarios<sup>11</sup>. De estos casos son muy pocos los que se pueden reconocer clínicamente por lo cual usualmente se asume que las infecciones por toxoplasma generalmente cursan asintomáticas<sup>11</sup>. Las manifestaciones más importantes de la enfermedad incluyen retinocoroiditis, encefalitis y miositis. Primariamente se podría manifestar como una linfadenopatía localizada o generalizada<sup>11</sup> la cual se puede dar, por lo general, con desarrollo de inmunidad<sup>4</sup>. Las glándulas afectadas generalmente aumentan de tamaño y se inflaman pero no producen ninguna supuración. Por lo general son infecciones autolimitadas y se podrían confundir

con una mononucleosis infecciosa<sup>11</sup>. Son frecuentes los hallazgos ocasionales de anticuerpos circulantes, sin que previamente hubieran existido síntomas de la infección inicial<sup>2</sup>. Las infecciones crónicas son más frecuentes que las agudas<sup>2</sup>. En la infección aguda donde las células son destruidas por la rápida proliferación de los microorganismos se puede dar fiebre, neumonía e inflamación del músculo cardíaco, hígado y piel(rash)<sup>4</sup>. Al final de este período, o seguido de una infección subclínica aguda se observa una inflamación localizada o generalizada de los ganglios linfáticos.<sup>4</sup> La mortalidad y morbilidad producidas por este parásito son muy difíciles de calcular debido a que la mayoría de las infecciones cursan asintomáticas.

La infección por *Toxoplasma* repercute en forma más notoria en mujeres que se infectan durante el embarazo, por el riesgo de la transmisión al hijo<sup>2,5</sup>. La transmisión al feto esta limitada casi solamente a aquellas mujeres que adquirieron la infección durante su gestación; aquellas que ya habían tenido contacto con el parásito previo a su embarazo prácticamente no tienen riesgo de infectar al bebé, a no ser que estén seriamente inmunocomprometidas. En la actualidad, debido al aumento de mujeres embarazadas que están coinfectadas con *Toxoplasma gondii* y el virus de inmunodeficiencia adquirida (HIV), se les puede producir una reactivación de alguna infección latente por *Toxoplasma*, lo que se ha asociado a un mayor grado de infección de neonatos en la actualidad con las consecuentes complicaciones para los mismos.<sup>7</sup>

La mayoría de las madres que dan a luz bebés infectados presentan una infección asintomática<sup>4</sup>. Los síntomas presentes en el recién nacido dependen del momento de la



infección del feto<sup>2</sup>. Se da infección asintomática si la transmisión ocurre al final del embarazo; encefalitis subaguda, si se da alrededor de la mitad del embarazo; y secuelas irreversibles (calcificaciones, hidrocefalia y coriorretinitis) cuando se produce al inicio del embarazo<sup>2</sup>. Debido a que la mayoría de los recién nacidos presentan una infección subclínica a la hora de su nacimiento, no se detectan y por lo tanto no se tratan, teniendo como consecuencia que estos niños sufran de las secuelas de su infección congénita.<sup>7</sup>

La producción de anticuerpos frente a un parásito, que en este caso pasa por diferentes estadios biológicos a lo largo de su ciclo, es muy compleja y depende tanto de la cepa infectante como de la fase en que se encuentre dentro del ciclo.<sup>21</sup> Básicamente estos antígenos pueden encontrarse sobre la membrana o en el citoplasma del parásito. Cuando ocurre la lisis de los mismos, los antígenos citoplásmicos liberados solo inducen de forma importante la producción de IgG frente a ellos.

Individuos que han tenido contacto con el *Toxoplasma* podrían no tener niveles detectables de anticuerpos tipo IgG en las primeras etapas de la infección. Los niveles de IgG comienza a aumentar de 1 a 2 semanas posteriores a la infección, llegando a tener un pico máximo entre las 6 y 8 semanas, para posteriormente ir disminuyendo en forma gradual durante un período de tiempo que va desde meses hasta años.<sup>7</sup> Los niveles bajos de IgG son detectables generalmente durante toda la vida. Los niveles de anticuerpos de tipo IgM son detectables antes o poco después de la aparición de la

sintomatología en el paciente. Estos anticuerpos (IgM) normalmente disminuyen en un período de 4 a 6 meses, pero podrían persistir como niveles bajos por más de un año.<sup>7</sup> Generalmente los niveles de anticuerpos no correlacionan con la severidad de la enfermedad.

En la actualidad se está dando un aumento evidente de pacientes que han sido inmunosuprimidos debido a las terapias por tumores o por transplantes de órganos, los cuales desarrollan una toxoplasmosis generalizada que podría ser fatal.<sup>43</sup> Pacientes con linfomas Hodgkin o no-Hodgkin parecen ser especialmente vulnerables. Se había pensado por largo tiempo que estos casos representaban primoinfecciones, pero se ha observado que estos pacientes, generalmente, presentaban anticuerpos antes de su inmunosupresión y esto ha llevado a la conclusión de que estos casos representan infecciones recrudescentes de toxoplasmosis, las cuales resultan de la diseminación de una forma enquistada del *Toxoplasma* debido al grado de inmunocompromiso del individuo.<sup>11</sup> En el caso de personas con transplante de órganos hay dos explicaciones diferentes. En algunos casos el individuo se encuentra crónicamente infectado y debido a la intensa inmunosupresión se da la infección recrudescente y la consecuente distribución del parásito por todo el organismo. En otros casos el individuo nunca a estado expuesto al *Toxoplasma* y no presenta anticuerpos contra el mismo con lo cual es totalmente susceptible a la infección por los parásitos que se encuentren viables en el órgano que vaya a recibir como riñones, corazón o hígado. Debido a que el receptor está inmunocomprometido, la infección se puede esparcir fácilmente a partir del órgano transplantado hacia el resto del cuerpo produciendo una toxoplasmosis generalizada. En

estos casos si no se detecta la infección podría ser fatal. Debido a lo anterior se hace prudente tener donadores de órganos que estén negativos por anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* para receptores que tampoco posean anticuerpos en los casos que sea necesario. Esto eliminaría o reduciría la transmisión del parásito por esta vía.<sup>43, 44,45</sup>

La toxoplasmosis es una enfermedad de difícil diagnóstico parasitológico, pues no es fácil demostrar el agente etiológico y establecer la relación entre infección y enfermedad. Su diagnóstico se basa generalmente en una combinación de signos, síntomas, serología, histopatología y aislamiento del parásito. Dado que la infección en los humanos es muy común, esto hace que la prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* sea muy frecuente en la población normal, por lo que una prueba serológica positiva en una persona es índice de una infección presente o pasada, pero no necesariamente de enfermedad.<sup>2, 12</sup>

El diagnóstico de una infección por toxoplasma se basa generalmente en la demostración serológica de anticuerpos IgG y/o IgM. Desde la primera descripción de Voller et al.<sup>13</sup> de un inmunoensayo ligado a enzimas en microplatos (ELISA), estas pruebas se han convertido en los procedimientos más utilizados para la detección de anticuerpos IgG específicos contra *Toxoplasma gondii*.<sup>14</sup> Desde sus primeras descripciones hasta la actualidad, el desarrollo que han tenido estos métodos y sus variaciones ha sido enormes. La introducción de la tecnología de anticuerpos monoclonales en las técnicas inmunoenzimáticas, ha permitido mejorar su estandarización, reproducibilidad, especificidad y límites de detección. Actualmente los

inmunoensayos enzimáticos se han convertido en técnicas de gran importancia en el trabajo de laboratorio, tanto de investigación como de diagnóstico. El mercado mundial de estuches de reactivos basados en principios inmunoenzimáticos es uno de los más vastos de la industria biotecnológica actual.<sup>15</sup>

Hay gran cantidad de pruebas diferentes para realizar el diagnóstico de una toxoplasmosis. En el cuadro #1 se describen las que tradicionalmente han sido más empleadas.<sup>18</sup>

CUADRO 1. PRINCIPALES TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO DE TOXOPLASMOSIS.

**MARCADORES DE ACTIVIDAD DEL PARASITO**

Visualización del parásito. Detección directa. Antígenos. DNA.

- \* Inoculación animal.
- \* Tinción
- \* Cultivo.
- \* Detección de antígenos.

**MARCADORES SEROLÓGICOS**

- \* Sabin Feldman.
- \* Inmunofluorescencia indirecta.
- \* Fijación de Complemento.
- \* Hemaglutinación indirecta.
- \* Aglutinación directa.
- \* Latex.
- \* ISAGA (Inmunoadsorción hemaglutinación)
- \* ELISA IgG e IgM.

**OTRAS METODOLOGIAS**

Hay varias técnicas que permiten la detección del parásito, sus principales antígenos y las más recientes su ácido desoxirribonucleico. Estas técnicas tienen como ventaja que permiten realizar un diagnóstico de infección aguda con gran seguridad.

La demostración directa del parásito, utilizando para ello las técnicas corrientes que se aplican para el diagnóstico parasitológico, en líquido cefalorraquídeo, líquido amniótico, sangre, esputo, saliva, etc., o en preparaciones con aposición o cortes histológicos de tejidos es muy difícil y sólo se consigue en casos esporádicos.<sup>12</sup> La muestra se centrifuga a 3.000 revoluciones por minuto y el sedimento es observado con 400 aumentos (10x40). Sólo la observación de algunos taquizoitos confirmará el diagnóstico.<sup>18</sup> Debido a lo anterior es preferible utilizar el método indirecto, o sea, probar si el material sospechoso es capaz de infectar animales susceptibles, como ratones blancos o hámster, libres de infección natural. La inoculación en ratón es un método que puede emplearse con cualquier tipo de muestra. Después de preparada la muestra se inocula en la cavidad peritoneal. ( o subcutánea si hay contaminación) Se vigila el líquido peritoneal semanalmente durante cuatro o seis semanas en busca del parásito, al fresco, o en preparaciones teñidas con Wright. Si para entonces los parásitos no aparecen, se sacrifica el animal y se realiza la detección de anticuerpos en suero y la búsqueda del parásito en el líquido cefalorraquídeo y otros tejidos del animal.<sup>12, 18</sup> Se puede realizar un subcultivo en fibroblastos. La sensibilidad de esta prueba es comparable a la inoculación en un animal, con la ventaja de que en 3-6 días puede verse ya el parásito. Las pruebas para la detección del parásito mediante cultivos celulares,

inoculación de animales o detección de su ADN por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) representan buenas alternativas para el diagnóstico de la infección. La tinción resulta especialmente útil con los métodos inmunohistoquímicos que permiten poner de manifiesto de forma rápida y específica los quistes tisulares.<sup>12</sup>

La demostración de la existencia de diferentes clases de anticuerpos específicos para los diversos antígenos del *Toxoplasma* y en diferentes estadios de la infección ha impulsado al desarrollo de muchas y variadas pruebas de diagnóstico serológico.<sup>14</sup> Todas ellas se emplean con un objetivo: poder asegurar la infección y fijar en el tiempo el momento de la primoinfección o diagnosticar con seguridad una reactivación o una infección. Durante la fase inicial de la infección los anticuerpos IgG, IgM e IgA están dirigidos contra los antígenos mayores de la membrana y que la liberación de antígenos citoplásmicos sólo produce estímulo de las IgG.<sup>16</sup>

La prueba de Sabin y Feldman fue descrita en 1948.<sup>12</sup> Con ella se definieron los estándares con los que las demás pruebas para la detección de IgG deben compararse. Un título de 1/16 a 1/256 es compatible con infección antigua inactiva.<sup>12</sup> Mide fundamentalmente IgG. Consiste en comprobar la lisis de los toxoplasmas en presencia de los anticuerpos del suero problema.

La inmunofluorescencia indirecta (IFA) es otro procedimiento de medida de anticuerpos. Los resultados obtenidos son superponibles a los de la prueba anterior. Existen técnicas automatizadas para la lectura de esta reacción. Con ella podemos medir anticuerpos IgG e IgM.<sup>18</sup> Estos últimos aparecen en la primera semana de la infección, suben rápidamente y luego caen a títulos bajos que normalmente desaparecen en meses.<sup>12</sup>

La técnica de ELISA IgG es la metodología más empleada. Los resultados obtenidos con ella se correlacionan bien con los del resto de las pruebas.<sup>14</sup> La técnica de ELISA IgM es el método más frecuentemente utilizado para la detección de este tipo de anticuerpos. La presencia de anticuerpos de tipo IgM determina, generalmente, una infección aguda; pero en ciertos casos no se da la presencia de estos anticuerpos y si hay infección aguda, debido a la rápida disminución de la IgM en los pacientes.



## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar la seroprevalencia contra *T. gondii* en una población de niños de edad escolar, en la provincia de San José, Costa Rica.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la seroprevalencia contra el parásito en una población de niños de edad escolar en relación con los grupos etarios específicos.
- Determinar la seroprevalencia contra el parásito en una población de niños de edad escolar en relación con el sexo.
- Establecer el grupo etario con mayor susceptibilidad a la infección.

## **MATERIALES Y METODOS**

### **SUEROS**

Se procesaron un total de trescientos cincuenta y cuatro sueros obtenidos por punción venosa de estudiantes de la escuela Juan Enrique Pestalozzi en Guadalupe, Goicoechea; las muestras fueron obtenidas a través del banco de sueros del EBAIS (Equipo Básico de atención integral de salud) y cumplen con todos los permisos necesarios para poder realizar este trabajo. Los sueros fueron almacenados a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  por un período de tiempo no mayor a cuatro meses.

La distribución de los sueros según edad y sexo se da en el cuadro 2.

### **ELISA HUMAN IgG ANTI-*Toxoplasma gondii*.**

El análisis serológico de las muestras de suero se realizó utilizando la técnica del Elisa comercial Human (Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH, Alemana) para la detección de anticuerpos de tipo IgG anti *Toxoplasma gondii*.

La metodología utilizada fue brevemente la siguiente:

Las muestras de suero fueron diluidas 1/100 con buffer de dilución.

Se colocaron 100ul de control negativo, de control de punto de corte, de control positivo bajo, de control positivo medio y de control positivo alto y de muestras diluidas en cada uno de los micropocillos recubiertos con antígeno de *Toxoplasma* y se incubaron a temperatura ambiente (17-25 °C) por 30 minutos. Posteriormente se aspiró el contenido de los pocillos y se agregó a cada pocillo 400 ul de solución de lavado de trabajo y se incubaron las placas por 15-30 segundos y se procedió a aspirar nuevamente. Se realizaron 4 ciclos de lavado. Luego se dispensaron 100 ul de conjugado anti-IgG en todos los pocillos excepto en el blanco de sustrato y se incubaron a temperatura ambiente (17-25 °C) por 30 minutos. Durante el tiempo de incubación se preparó la solución de 3,3',5,5'tetrametilbenzidina (TMB) de trabajo en suficiente cantidad para la cantidad de micropocillos en uso. Finalizada la incubación se procedió a lavar las placas y se agregó 100 ul de solución TMB de trabajo a todos los pocillos. Se incubó a temperatura ambiente (17-25 °C) por 15 minutos en la oscuridad. Se detuvo la reacción enzimática agregando 100 ul de solución de detención (ácido sulfúrico). La lectura de absorbancia se realizó a 450 nm en un lector de ELISA Bio-Rad modelo 550.

Se calcularon los valores promedio de absorbancia del control negativo (MNC), valor del punto de corte (MCC) y controles positivos (MPC bajo, medio, alto).

Se consideró válida una prueba si cumplía con los siguientes criterios:

1. Blanco de sustrato en pocillo  $A_1 < 0.150$
2.  $MNC \leq 0.250$
3.  $MPC \geq 0.750$
4.  $MPC : MNC \geq 5$

Teniendo que:

$MNC =$  Absorbancia del control negativo.

$MPC =$  Absorbancia del control positivo.

Todas las series analíticas realizadas se consideraron válidas con los valores obtenidos.

## RESULTADOS.

Fueron analizados ciento sesenta y seis niñas y ciento ochenta y ocho varones para una población total de trescientos cincuenta y cuatro muestras cuya edad oscilaba entre los 6 y 15 años y todos se encontraban realizando sus estudios escolares. De la población total, un 27.1% de los sueros resultaron positivos. La distribución por grupo etario fue: a los 6 años se obtuvo una positividad de 6.9%, a los 7 años 10.3%, a los 8 años 14.7%, a los 9 años 31.9%, a los 10 años 28.2%, a los 11 años 39.1%, a los 12 años 28.9% y por último a los 13-15 años una seropositividad de 51.5%. (Figura 1)

De la distribución por sexo se desprende que la mayor seroprevalencia se dio en los hombres en el grupo de edad comprendido entre los 13 y los 15 años, siendo este de un 70.0%. En el caso de las mujeres la mayor seroprevalencia se dio a los 11 años con un valor de 36.11%

En el grupo etario de los 10 años la seroprevalencia es mayor en las mujeres con relación a los hombres en donde, difiriendo ambos valores en un 0.79%. (H = 27.78%, M = 28.57%)

Los valores más bajos se obtuvieron a la edad de 6 años en donde ninguna muestra de las 9 analizadas en el caso de las niñas fue positiva y del total de 20 muestras analizadas para los varones solamente 2 fueron positivas para un porcentaje de tan sólo 10% para los hombres y de 0% para las mujeres.

En general se obtuvo una mayor seroprevalencia en los hombres que en las mujeres teniendo como excepción las edades de 8 y 10 años en los cuales se invertía la situación. (Figura 2)

CUADRO 2. DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO DE ACUERDO  
CON LA EDAD Y EL SEXO.

<b>EDAD</b>	<b>MASCULINO</b>	<b>FEMENINO</b>	<b>TOTAL</b>
6-7 Años	20	9	29
7-8 Años	33	25	58
8-9 Años	15	19	34
9-10 Años	22	25	47
10-11 Años	18	21	39
11-12 Años	33	36	69
12-13 Años	27	18	45
13-15 Años	20	13	33
<b>TOTAL</b>	<b>188</b>	<b>166</b>	<b>354</b>

CUADRO 3. PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA TOXOPLASMA GONDII CON RELACION A LA EDAD Y AL SEXO.

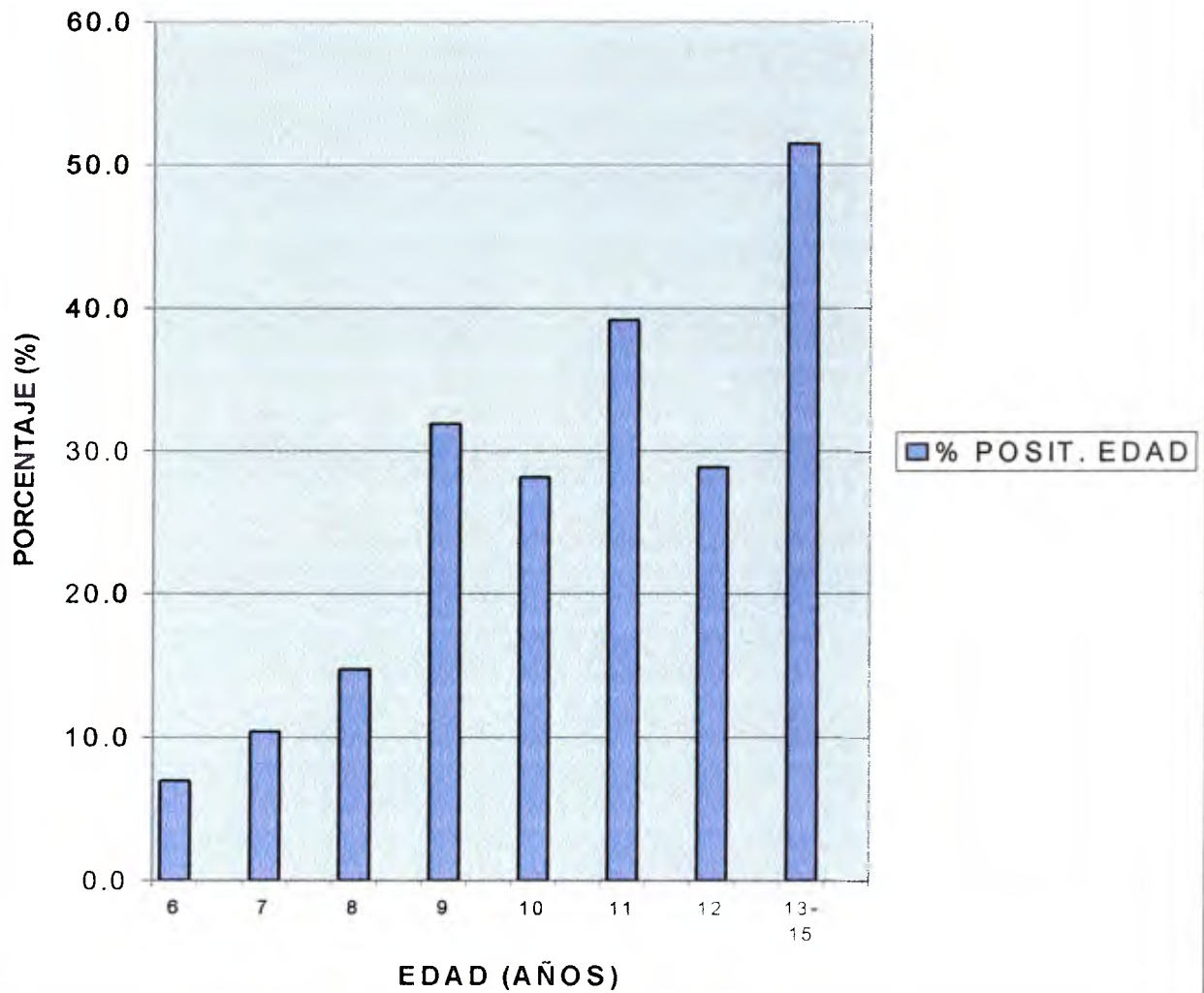
<b>Presencia de anticuerpos</b>				
	<b>Positivos</b>		<b>Negativos</b>	
<b>Edad (años)</b>	<b>Masculino n(x)</b>	<b>Femenino n(x)</b>	<b>Masculino n*(x)</b>	<b>Femenino n*(x)</b>
6-7	2 (20)	0 (9)	18 (20)	9 (9)
7-8	4 (33)	2 (25)	29 (33)	23 (25)
8-9	2 (15)	3 (19)	13 (15)	16 (19)
9-10	9 (22)	6 (25)	13 (22)	19 (25)
10-11	5 (18)	6 (21)	13 (18)	15 (21)
11-12	14 (33)	13 (36)	19 (33)	23 (36)
12-13	9 (27)	4 (18)	18 (27)	14 (18)
13-15	14 (20)	3 (13)	6 (20)	10 (13)
<b>TOTAL</b>	<b>59(188)</b>	<b>37(166)</b>	<b>129(188)</b>	<b>129(166)</b>

n = número de positivos

n\* = número de negativos

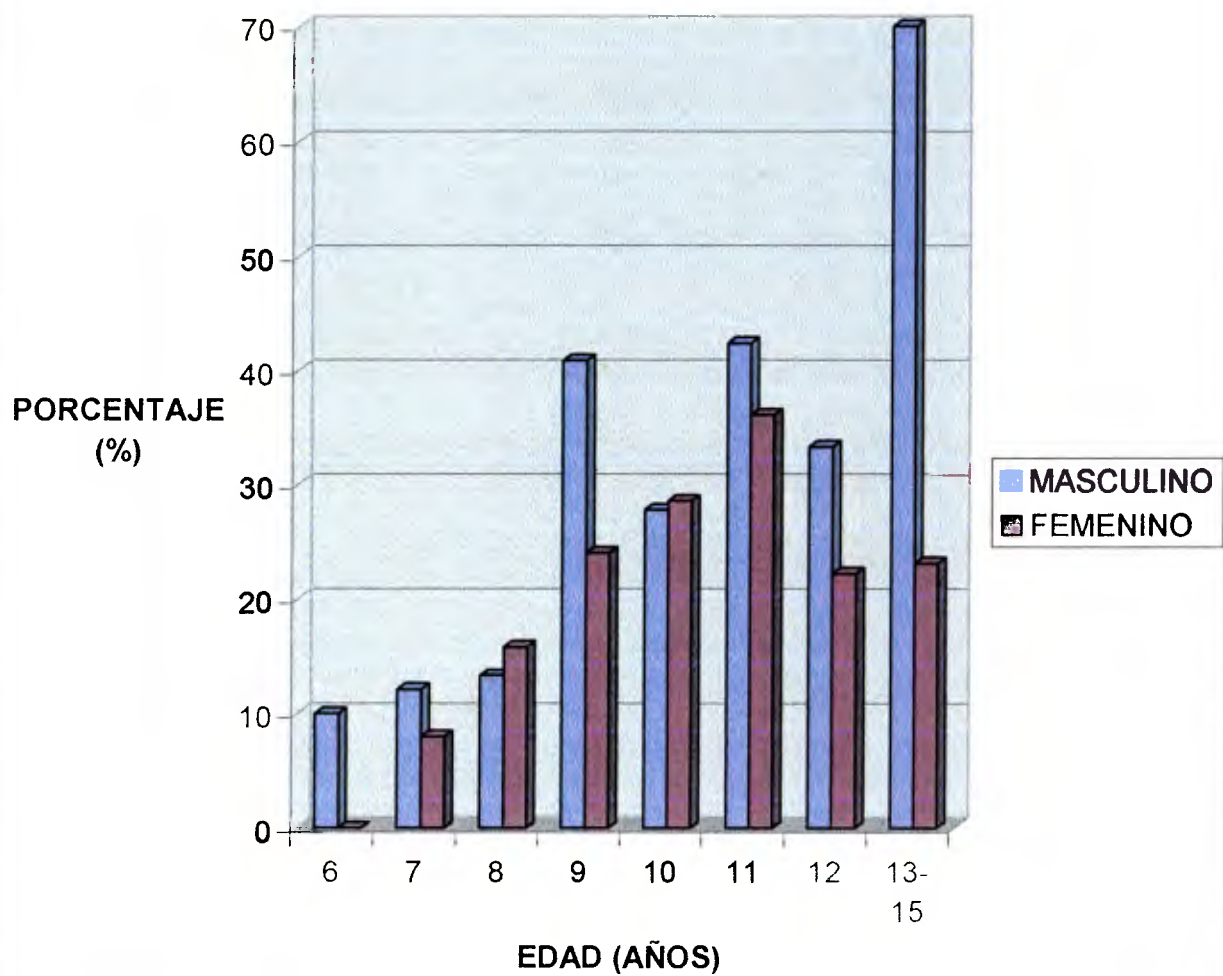
x = población total

**FIGURA 1 : PORCENTAJE DE SEROPOSITIVIDAD EN RELACIÓN CON LA EDAD.**





**FIGURA 2: PORCENTAJE DE SEROPOSITIVIDAD EN RELACIÓN CON LA EDAD Y EL SEXO.**



## DISCUSION.

La seroprevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* a nivel mundial es muy diferente entre los países,<sup>36</sup> llegando a porcentajes tan altos como un 80%, obtenidos por Remington *et al*<sup>35</sup> en un estudio realizado en los años de 1970 en El Salvador y tan bajos como un 10% en Hong Kong.<sup>36</sup> Las diferentes tasas de prevalencia varían según los distintos lugares debido a las diferentes condiciones climáticas y sociales que afectan directamente al parásito y a su ciclo de vida. En los países centroamericanos, donde la humedad del ambiente es alta y las condiciones socioeconómicas no son muy buenas, el parásito tiene mayor oportunidad de llevar a cabo su ciclo vital y por ende la seroprevalencia contra este parásito es elevada, por ejemplo en Guatemala se informa de un 90% de positividad en el año de 1958 según los trabajos de Gibson *et al*.<sup>24</sup> En otras zonas del orbe la seroprevalencia es muy baja como en Japón que es de tan solo un 7% según los datos obtenidos por Nguyen *et al* en el año de 1994.<sup>36</sup> En Costa Rica según los datos obtenidos por Arias *et al* la seroprevalencia es de un 76% para el año de 1996.<sup>23</sup> Por otro lado en estudios realizados por Frenkel y Ruiz durante la década de 1980, ellos obtuvieron un porcentaje de positividad del 61.3%.<sup>4</sup>

En el presente trabajo se obtuvieron resultados que se diferencian a lo obtenido anteriormente por otros autores que han trabajado con este parásito de una manera similar. En lo que respecta a los diferentes grupos etarios, la mayor seroprevalencia se encuentra entre los 13 y 15 años siendo de un 51.5%; mayor para los hombres (70%)

que para las mujeres (23.7%), valores que están muy por debajo a los obtenidos por los trabajos tanto de Frenkel y Ruiz como de Arias *et al.* En los resultados por Arias *et al* ya se informan porcentajes de positividad tan altos como 60% para niñas entre el año y 4 años de vida.<sup>23</sup> Por otro lado Frenkel y Ruiz reportaron porcentajes de 51.4% para poblaciones urbanas (área metropolitana) con edades entre los 15 y 16 años<sup>4</sup>. Estos últimos datos son más difíciles de relacionar con los obtenidos en esta investigación dado la diferencia en la población de estudio.

En otro estudio realizado en Panamá por Frenkel *et al*<sup>25</sup> se encontró una positividad entre los 6 y los 10 años de 47.1% para la ciudad de Panamá y de 49.1% para los Altos del Jobo<sup>25</sup>, valores que aun están por encima de los obtenidos durante esta investigación pero no tan elevados como los obtenidos por Arias *et al*<sup>23</sup>, que a los 5 y 9 años ya arrojaban resultados de 76% para los varones y de 74% para las mujeres.<sup>23</sup>

En trabajos realizados en las Antillas Holandesas en una población de 5 a 14 años, Roever-Bonnet *et al.*<sup>27</sup> obtuvieron porcentajes de positividad que oscilaban entre 37.2% y 51.6% para diferentes regiones. Estos sueros fueron examinados por medio de la técnica de inmunofluorescencia indirecta. Estos valores son muy similares a los obtenidos en la presente investigación. La gran diferencia entre ambos trabajos es que estos autores obtuvieron un porcentaje mayor de positividad en las mujeres que en los hombres, situación inversa a lo encontrada tanto en este trabajo (Cuadro 3), como por Arias *et al*<sup>23</sup> y por Frenkel y Ruiz.<sup>4</sup> En nuestro país se da una mayor seroprevalencia de anticuerpos anti-Toxoplasma en los hombres dada su característica social de jugar más

en el suelo y tener un mayor contacto con los posibles lugares de excreción de ooquistes por parte de los felinos infectados con el parásito, esta situación ya fue definida por Frenkel y Ruiz.<sup>4</sup>

Frenkel *et al* en una investigación realizada en Colombia obtuvieron un 56.3%<sup>5</sup> de positividad en una población comprendida entre los 16 y los 20 años, los cuales se asemejan más a los obtenidos en este estudio (Cuadro #3). Es importante recalcar que las condiciones climáticas colombianas no distancian mucho de las de Costa Rica con lo cual podrían compararse ambos resultados.

Las diferencias encontradas con respecto a los resultados obtenidos durante esta investigación se podrían explicar en primer grado en la diferencia de técnicas utilizadas. En las investigaciones de Frenkel y Ruiz se utilizaba el ensayo de Sabin y Feldman modificado para determinar los seropositivos y en el caso de Arias *et al*, la técnica utilizada era la inmunofluorescencia indirecta. Ambas técnicas difieren a la utilizada para realizar esta investigación (ELISA), la cual ha sido modificada con el transcurso del tiempo para su mejoramiento y se volvió la una técnica muy utilizada dada su alta sensibilidad y especificidad analíticas.<sup>13,14,28,29</sup>

Las tasas de infección en países desarrollados, como los Estados Unidos, son muy bajas (16%)<sup>32</sup>. Costa Rica, a pesar de ser un país en vías de desarrollo, posee muy buenos índices en lo que a salud y a educación se refiere. La situación socioeconómica costarricense es muy diferente a la de los demás países centroamericanos y su esquema

de salud sobresale en el área, llegando a compararse inclusive con los de países desarrollados, con lo cual es de esperar que la tasa de infección del parásito haya disminuido notablemente en los últimos años, razón por la cual se podría explicar los valores obtenidos durante la realización de esta investigación.

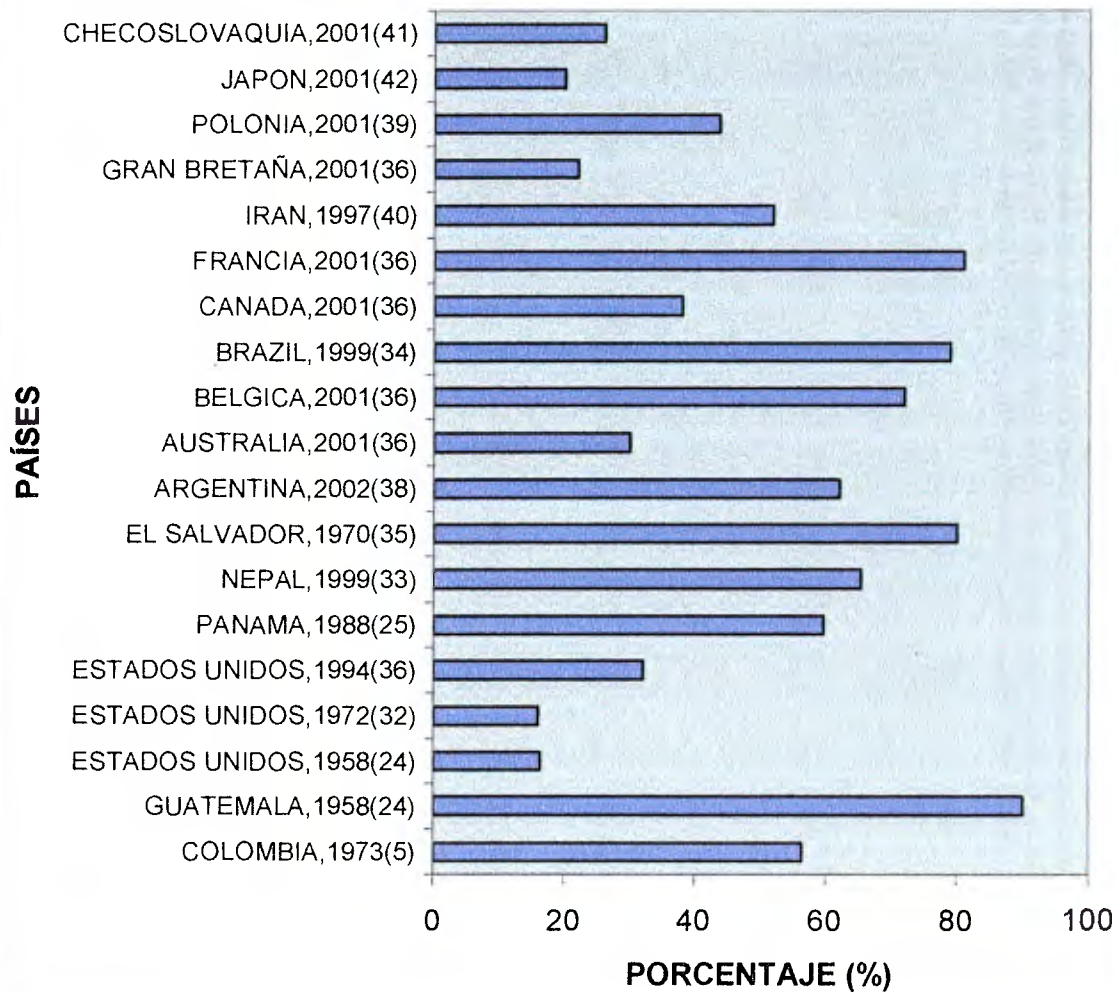
Por otro lado, tomando en cuenta que la calidad de vida en nuestro país, en lo que se refiere al desarrollo tecnológico, ha ido en aumento en los últimos años y que las industrias de alimentos deben cumplir una mayor cantidad de medidas de higiene para poder mantenerse en funcionamiento, ésta podría ser una situación que también explicaría la baja en la tasa de infección del *Toxoplasma*. Por último, el hacinamiento que se está dando en el área metropolitana no deja espacio a mascotas en los hogares, como los gatos, principal agente diseminador de la enfermedad, al contrario de lo informado por Frenkel y Ruiz en 1981, en que se estimaba un número de 1750 a 3333 gatos por kilómetro cuadrado<sup>46</sup>, con lo cual la enfermedad disminuiría su seroprevalencia, dado a que no se está diseminando.

Los resultados obtenidos por esta investigación parecen indicar que se ha presentado una disminución en la presencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en la población escolar estudiada, sin embargo, dado el tamaño de la muestra y su posición geográfica específica, se hace necesario realizar un estudio más completo sobre el tema.

Se debe considerar que al disminuir la seroprevalencia contra *Toxoplasma*

*gondii*, como se refleja en este estudio, se incrementa el porcentaje de personas susceptibles, esta consideración cobra una mayor importancia en el caso de mujeres que se encuentran en edad fértil y por ende susceptibles ha sufrir una primoinfección por *Toxoplasma* durante el embarazo, con los posibles riesgos para el feto, por lo que las medidas de prevención y control se deben ver incrementadas.

**FIGURA 3 :SEROPREVALENCIA ANTI-TOXOPLASMA EN DIFERENTES PAÍSES**



## REFERENCIAS

- 1 - Jeffrey, J. S. et al. 1982. **Toxoplasmosis Infection Associated With Raw Goat's Milk.** *Jama.*
- 2 - Botero, D., Restrepo, M. 1984. **Parasitosis Humanas.** Corporación Para Investigaciones Biológicas. pp: 279-295.
- 3 - Frenkel, J. et al. 1995. **Transmission Of *Toxoplasma gondii* in Panamá City, Panamá: A Five Year Prospective Cohort Study Of Children, Cats, Rodents, Birds, And Soil.** *Am. J. Trop. Med. Hyg.* pp: 458-468.
- 4 - Frenkel, J. K. and Ruiz., A. 1980. **Human Toxoplasmosis And Cat Contact In Costa Rica.** *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 29: 1167-1180.
- 5 - Frenkel. , J. K. et al. 1973. **Toxoplasmosis: Títulos de Anticuerpos en Humanos y Gatos Domésticos de Medellín, Colombia.** *Antioquia Médica.* Vol. 23.
- 6 - Arias, M. L. et al. 1994. **Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in meat producing animals in Costa Rica.** *Rev Biol. Trop.* 42. pp: 15-20.
- 7 - Wong, Sin-Yen and Remington, Jack S. 1994. **Toxoplasmosis in pregnancy.** *Clinical infectious diseases.* pp: 853-862.
- 8 - Cerdas, C. et al. 2002. **Porcentaje de positividad por *Toxoplasma gondii* en perros mascota de la provincia de San José, Costa Rica.** *Rev. Ciencias Veterinarias.*
- 9 - Dubey, J.P. 1976 **A review of Sarcocystis of domestic animals and other coccidia of cats and dogs.** *Journal of American Veterinary Medical Association.* 169. pp: 1061-1078.



- 10 - Frenkel, J.K. 1973. **Toxoplasma in and around us.** Bioscience. 23. pp: 343-352.
- 11 - Feldman, Harry A. 1982. **Epidemiology of Toxoplasma infections.** Epidemiologic Review. 4. pp: 204-213.
- 12 - Frenkel, J.K. and Ruiz, A. 1973. **Toxoplasmosis humana – Una revisión.** Acta medica costarricense. 16. pp: 5-73.
- 13 - Voller, A. et al. 1976. **A microplate enzyme – inmunoassay for toxoplasma antibody.** Journal of Clinical Pathology. 29. pp: 150-153.
- 14 - Verhofstede, C. et al. 1987. **Ability of Enzyme – Linked Immunosorbent Assays to Detect Early Immunoglobulin G Antibodies to *Toxoplasma gondii*.** European Journal of Clinical Microbiology. 6. pp: 147-151.
- 15 - Lomonte, B. y Rojas, G. 1996. **Inmunología, Manual de laboratorio.** U.C.R. 2. pp: 53-67.
- 16 - Miles H. Beaman et al. 1995. ***Toxoplasma gondii* Principles and Practice of Infectious Diseases.** Mandel, Douglas and Bennett's. 4.
- 17 - P.Hohlfeld, et al. 1994. **Prenatal Diagnosis of congenital Toxoplasmosis with a Polimerase-Chain- Reaction Test on Amniotic Fluid.** N.E.J.Med. 331. pp: 695-700.
- 18 - Picazo J.J. y Fuertes Ortiz De Urbina A. 1998. **Protocolos Clínicos de Diagnóstico Serológico Comentado.** Innogenetics Diagnóstica y Terapéutica. 6.
- 19 - Prescott L., Harley J.P. and Klein D.A. 1999. **Microbiology.** Ed. McGraw-Hill, 4ª ed. pp: 828.
- 20 - Forbes B.A., Sahn D.F. and Weissfeld A.S. 1998. **Diagnostic Microbiology.** Ed Mosby, 10a ed. pp: 782-868.
- 21 - Roitt I. , Brostoff J. y Male D. 1998. **Inmunología.** Ed. Harcourt Brace, 4a ed.

- 22 - Reyes, L. et al. 2001. **Transmisión de *Toxoplasma gondii*. Un concepto actualizado.** Acta medica costarricense. 43.
- 23 - Arias, M.L. et al. 1996. **Seroepidemiology of Toxoplasmosis in human: possible transmission routes in Costa Rica.** Rev. Biol. Trop. 44. pp: 377-381.
- 24 - Gibson, C., Coleman, N. 1958. **The prevalence of toxoplasma antibodies in Guatemala and Costa Rica.** Am. J. Trop. Med. Hyg. 7. pp: 334-338.
- 25 - Sousa, O., Saenz, R., Frenkel, J. 1988. **Toxoplasmosis in Panamá. A 10-year study.** Am. J. Trop. Med. Hyg. 38. pp: 315-322.
- 26 - Díaz, J. et al. 1988. **Seroepidemiología de la toxoplasmosis en una población gestante de Ceuta.** Rev. Diag. Biol. 47. pp: 106-116.
- 27 - Roever-Bonnet, H. et al. 1980. **Serological and clinical evidence of toxoplasmosis on the upper Leeward Islands.** Trop. Geog. Med. 32. pp: 53-56.
- 28 - Van Loon, A., Van Der Veen, J. 1980. **Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of Toxoplasma antibodies in human sera.** J. Clin. Pathol. 33. pp: 635-639.
- 29 - Herbink, P. et al. 1987. **Interlaboratory evaluation of indirect enzyme-linked immunosorbent assay, antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblotting for detection of immunoglobulin M antibody to *Toxoplasma gondii*.** J. Clin. Microb. 25. pp: 100-105.
- 30 - Chinchilla, M. 1978. **Epidemiología de la toxoplasmosis en Costa Rica: importancia de los roedores domésticos.** Rev. Biol. Trop. 26. pp: 113-124.
- 31 - Ruiz, A. and Frenkel, J.K. 1980. **Intermediate and transport host of *Toxoplasma gondii* in Costa Rica.** Am. J. Trop. Med. Hyg. 29. pp: 1161-1166.

- 32 - Peterson, P.R., Tranco, E., Banin, P. 1972. **Human toxoplasmosis prevalence and exposure to cats.** Am. J. Epide. 96. pp: 215-218.
- 33 - Shiba, R. et al. 1999. **High toxoplasmosis seroprevalence associated with meat eating habits of locals in Nepal.** Asia. Pac. J. Pub. H. 11. pp: 89-93.
- 34 - Rey, L.C. and Ramalho, I. 1999. **Seroprevalence of Toxoplasmosis in Fortaleza, Cear. Brazil.** Rev. Inst. Med. Trop. 41.
- 35 - Remington, J.S. et al. 1970. **Studies on toxoplasmosis in El Salvador. Prevalence and incidence of toxoplasmosis as measured by the Sabin-Feldman dye test.** Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 64. pp: 252-267.
- 36 - Diagnostic Products Corporation. **Toxoplasmosis. New methods for diagnosing and monitoring a difficult disease.** ([http://www.dpcweb.com/medical/infectiousdisease/toxoplasmosis\\_int.html](http://www.dpcweb.com/medical/infectiousdisease/toxoplasmosis_int.html)) 2002.
- 37 - Vanderbilt Medical Center. **Toxoplasmosis.** (<http://www.mc.vanderbilt.edu/adl/pathfinders/toxo/epidemiology.html>).
- 38 - Chiaretta, A. et al. 2002. **Serología contra Toxoplasma en niños de una zona rural de Córdoba, Argentina.** (<http://www.congresocbta.unam.mx/MV02.htm>).
- 39 - Paul, M., Petersen, E. and Szczapa, J. 2001. **Prevalence of congenital *Toxoplasma gondii* infection among newborns from the Poznan region of Poland: validation of a new combined enzyme immunoassay for *T. gondii* specific immunoglobulin A and immunoglobulin M antibodies.** J. Clin. Microb. 39.
- 40 - Assmar, M. et al. 1997. **Toxoplasmosis in Iran, results of seroepidemiological investigation.** Bulletin de la Société de Pathologie exotique.

- 41 - Flegr, J., Hrdá, S. and Tachezy, J. 2001. **The role of psychological factors in questionnaire-based studies on routes of human toxoplasmosis transmission.** (<http://www.nature.cuni.cz/flegr/tox97.htm>).
- 42 - Flegr, J. and Havlicek, J. 2001. **Changes in personality profile of young woman with latent toxoplasmosis.** Abstracts of Folia · Parasitologica. 46. (<http://paru.cas.cz/folia/abstracts%201/abstracts199.htm>).
- 43 - Rynning, F. et al. 1979. **Probable transmission of *Toxoplasma gondii* by organ transplantation.** Annals of internal medicine. 90. pp: 47-49.
- 44 - McGregor, C. et al. 1984. **Disseminated toxoplasmosis in cardiac transplantation.** J. Clin. Pathol. 37. pp: 74-77.
- 45 - Rose, a. et al. 1983. **Toxoplasmosis of donor and recipient hearts after heterotropic cardiac transplantation.** Arch. Pathol. Lab. Med. 107. pp: 368-373.
- 46 - Frenkel, J, and Ruiz, A. 1981. **Endemicity of Toxoplasmosis in Costa Rica.** American Journal of Epidemiology. 113. pp: 254-269.

## ANEXO

Los reactivos utilizados durante el proceso se enumeran a continuación:

\* Buffer de dilución IgG. ( pH 6.5 +/- 0.2 )

buffer de fosfato ( 10 mmol/l), cloruro de sodio ( 8 g/l ) y albúmina ( 10 g/l ).

\* Buffer de sustrato. ( pH 3.9 +/- 0.2 )

citrato de potasio ( 0.2.mol/l ) y peróxido de hidrógeno ( 6 mmol/l ).

\* Solución de lavado. ( pH 7.2 +/- 0.2 )

buffer de Tris ( 10mmol/l ) y cloruro de sodio ( 8g/l ). Concentrado para prepara 1000 ml

\* Solución TMB.

3, 3', 5, 5' - terametilbenzidina ( 20 mmol/l )

\* Solución de detención.

Ácido sulfúrico (1.5 mol/l ).

\*Conjugado anti-IgG

conjugado de peroxidasa – anti-IgG humana ( conejo )

\*Micropocillos

tiras de 8 micropocillos desprendibles recubiertos con antígenos sonicados de

*Toxoplasma gondii*.

El lector de Elisa utilizado es de la casa comercial BioRad y es modelo 550.