



**UNIVERSIDAD PARTICULAR
DE CHICLAYO
ESCUELA DE POSTGRADO ALTAGORA**



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

TESIS

**INFECCIÓN POR TOXOPLASMA GONDII Y FACTORES
ASOCIADOS EN DONANTES DEL BANCO DE SANGRE
DEL HOSPITAL II-2 TARAPOTO, PERÚ. JULIO A
DICIEMBRE DEL 2019**

**PARA OPTAR EL TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIDAD
EN HEMOTERAPIA Y BANCO DE SANGRE**

**AUTOR:
MSc. T.M. TEÓFANEZ ADOLFO DÍAZ GINÉZ**

**ASESOR:
Dr. HEBER SILVA DÍAZ**

**LAMBAYEQUE - PERÚ
2019**

UNIVERSIDAD DE CHICLAYO
ESCUELA DE POSGRADO
SEGUNDA ESPECIALIDAD EN HEMOTERAPIA Y
BANCO DE SANGRE



PARA OPTAR LA SEGUNDA ESPECIALIDAD EN
HEMOTERAPIA Y BANCO DE SANGRE

TESIS

INFECCIÓN POR TOXOPLASMA GONDII Y FACTORES
ASOCIADOS EN DONANTES DEL BANCO DE SANGRE
DEL HOSPITAL II-2 TARAPOTO, PERÚ. JULIO A
DICIEMBRE DEL 2019

AUTOR:
MSc. T.M. TEÓFANEZ ADOLFO DÍAZ GINÉZ

ASESOR:
Dr. HEBER SILVA DÍAZ

LAMBAYEQUE - PERÚ
2019

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN

Infección por *Toxoplasma gondii* y factores asociados en donantes del Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú. julio a diciembre del 2019.

**TESIS PRESENTADA PARA OPTAR LA SEGUNDA ESPECIALIDAD EN
HEMOTERAPIA Y BANCO DE SANGRE**

MSc. Teófanez Adolfo Díaz Ginéz

Autor

Dr. Heber Silva Díaz

Asesor

Aprobada por el siguiente jurado:

Dra. Vilma Monteagudo Zamora

Presidente

MSc. Jose Gerardo Chancafe Rodriguez

Secretario

MSc. Esp. Carlos Francisco Cadenillas Barturen

Vocal

DEDICATORIA

A DIOS

Por haberme dado salud y fortaleza para lograr mis objetivos, además de su misericordia y amor.

A MI MADRE SILVIA

Por sus consejos, valores, paciencia, humildad, sencillez y amor infinito.

A MI PADRE CARLOS

Porque fuiste perseverante, orgulloso, trabajador y responsable con su familia.

A MIS HERMANOS

Por ese apoyo motivacional que me dan para seguir superándome cada día.

A MIS HIJOS

Porque siempre están en mi corazón y quiero guiarles a través del ejemplo y el estudio a que sean unas personas de bien para la sociedad y su familia. “Los amo mucho, Carlos, Fabricio y Cadi Kalet”.

A MIS MAESTROS

Dr. Heber Silva Díaz por el asesoramiento y aprendizaje compartido y por impulsarme para ser cada día mejor y al MSc. Esp. Carlos Francisco Cadenillas Barturen por ser gran amigo y guía profesional.

Adolfo

AGRADECIMIENTO

A mis padres, hijos, hermanos y amigos que contribuyeron en mi vida para seguir adelante.

Al Dr. Heber Silva Díaz, por invertir tiempo, conocimientos, experiencia, consejos y paciencia para poder prepararme en este estudio.

Al Dr. Max Mundaca Monja que en su condición de Director de la escuela de posgrado “Altgora”, me brindo facilidades y dio viabilidad a mi proyecto ya que mi estancia en la ciudad de Chiclayo es muy corta y por motivos de trabajo me regresaba rápidamente a la ciudad de Tarapoto.

A la Dra. Diana Santillan Ruiz por darme facilidades en los horarios de trabajo y poder viajar para seguir realizando mis estudios de segunda especialidad.

A la Dra. Angélica Alicia Ávila Aranda por haber permitido que desarrolle esta tesis en el Centro de Hemoterapia de Banco de Sangre de Tarapoto.

A los Licenciados Tecnólogos Médicos Cristhian Royce Becerra Dávila , Marjorie Melisa Ucañan Polo y Leydi Villanueva Díaz por apoyarme incondicionalmente en la ejecución de este proyecto, sin su ayuda no podría haber culminado exitosamente esta tesis.

INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una enfermedad infecciosa parasitaria de distribución mundial, causada por el protozoo apicomplejo *Toxoplasma gondii*. Afecta a la mayoría de animales homeotermos, incluido el humano. La infección se adquiere principalmente de tres formas: a) A través de la ingestión de alimentos o agua contaminados, b) Vía transplacentaria, de madre a hijo y c) Por transfusión sanguínea u órgano trasplantado. No obstante, la transmisión sexual también podría ser una probable forma.

La enfermedad inicia con un cuadro agudo, febril, parasitemia y linfadenopatía. Posteriormente la infección es controlada por el sistema inmunológico pudiendo volverse latente y reaparecer más adelante en circunstancias donde el sistema inmunológico se vea perturbado. La morbilidad y mortalidad más importante de la enfermedad es la toxoplasmosis congénita debido a transmisión vertical que afecta al sistema nervioso central y el sentido de la vista.

Por otro lado, la hemoterapia es un tratamiento importante y ampliamente usado en los sistemas de salud del Perú y del mundo, pero por los riesgos de transmisión de enfermedades es que los procedimientos de donación y control de calidad al hemocomponente son rigurosos. No obstante, en estas pruebas de tamizaje no se incluye a la toxoplasmosis, debido a falta de información que lo sustente.

Es por esta razón que el presente estudio determinó la frecuencia y los factores asociados a la infección por *T. gondii* en donantes de sangre del Hospital II Tarapoto.

En el presente informe se inicia exponiendo el “problema de investigación”, relacionado a la toxoplasmosis en donantes de sangre; luego se describen aspectos “teóricos-científicos”

que sustentan el tema y objetivo de estudio. Posteriormente exponemos la metodología usada para responder a la cuestión, luego se exponen detalladamente los resultados encontrados, así como sus implicancias y significación de los mismos. Finalmente anunciamos las conclusiones del estudio y proponemos algunas recomendaciones para completar la resolución del problema científico, así como acciones inmediatas para contener las consecuencias.

Creemos, pues, que siendo la toxoplasmosis una zoonosis desatendida y con una alta frecuencia de exposición y enfermedad en el Perú, como ha sido observado en el presente estudio, es que sugerimos la valoración de incluir esta infección en las pruebas de tamizaje realizadas a los hemocomponentes donados antes de su transfusión.

RESUMEN

Introducción. La toxoplasmosis es una infección parasitaria de distribución mundial causada por *Toxoplasma gondii* y que puede transmitirse a través de las transfusiones sanguíneas.

Objetivo. Determinar la frecuencia y los factores asociados de la infección por *T. gondii* en donantes del servicio de Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, julio a diciembre del 2019.

Material y métodos. Estudio transversal analítico realizado en una muestra de 92 donantes. La infección se determinó mediante la detección anticuerpos séricos IgM e IgG anti *T. gondii* por la técnica de Elisa. Los factores sociodemográficos, ambientales y hábitos se recolectaron mediante la aplicación de una entrevista a cada participante voluntario.

Resultados. La muestra de donantes se caracterizó por una mediana de edad fue de 30 años, género masculino (76,1 %), zona domiciliaria urbana (81,5 %) y ocupación estudiante (34,8 %); asimismo el 29,4 % manifestó ingerir agua no potable y el 61,9% tener contacto con tierra o arena. El 77,2% (IC95 %: 68,6 - 85,8) de donantes presentaron infección pasada. No se observó casos de infección activa. El contacto con gatos y animales domésticos estuvo asociado con la infección por *T. gondii* ($p=0,037$; $RP=1,28$ e $IC95 \%=1,02 - 1,61$).

Conclusiones. Se observó alta frecuencia de toxoplasmosis en donantes del servicio de Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto. Se sugiere la posibilidad de transmisión mediante transfusión sanguínea, por lo que es necesario valorar la inclusión de la toxoplasmosis como prueba de tamizaje.

Palabras clave: Toxoplasma, Donantes de Sangre, Transfusión sanguínea, Factores predisponentes (Fuente: DeCs-BIREME).

ABSTRACT

Introduction. Toxoplasmosis is a worldwide distributed parasitic infection caused by *Toxoplasma gondii* and that can be transmitted through blood transfusions.

Objective. To determine the frequency and associated factors of *T. gondii* infection in donors of the Blood Bank service of the Hospital II-2 Tarapoto, Peru, July to December 2019.

Material and methods. Analytical cross-sectional study conducted on a sample of 92 donors. Infection was determined by detection of IgM and IgG anti *T. gondii* serum antibodies by the Elisa technique. Sociodemographic, environmental and habits factors were collected by applying an interview to each volunteer participant.

Results. The sample of donors was characterized by a median age of 30 years, men (76.1%), urban residential area (81.5%) and student occupation (34.8%); also 29.4% said they drink non-potable water and 61.9% have contact with soil or sand. 77.2% (95% CI: 68.6-85.8) of donors had past infection. No cases of active infection were observed. Contact with cats and pets was associated with *T. gondii* infection ($p = 0.037$; $RP = 1.28$ and 95% CI = 1.02 - 1.61).

Conclusions. High frequency of toxoplasmosis was observed in donors of the Blood Bank service of Hospital II-2 Tarapoto. The possibility of transmission by blood transfusion is suggested, so it is necessary to assess the inclusion of toxoplasmosis as a screening test.

Keywords: Toxoplasma, Blood donors, Blood Transfusion, Risk factors (Source: MeSH-NLM).

ÍNDICE

Introducción

Resumen

Abstract

I.	CAPÍTULO I: EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN.....	01
1.1.	Realidad problemática.....	01
1.2.	Formulación del problema	03
1.3.	Delimitación de la investigación	03
1.4.	Planteamiento del problema	04
1.5.	Justificación e importancia de la investigación.....	04
1.6.	Limitaciones de la investigación	05
1.7.	Objetivos de la investigación	06
II.	CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO-CIENTÍFICO	07
2.1.	Antecedentes de la investigación.....	07
2.2.	Base teórico-científico	12
2.3.	Hipótesis	19
2.4.	Variables.....	20
III.	CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO DE LA INVESTIGACIÓN.....	23
3.1.	Tipo de investigación.....	23
3.2.	Diseño de investigación.....	23
3.3.	Población y muestra.....	23
3.4.	Materiales, técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	24
3.5.	Validación y confiabilidad de los instrumentos.....	25

3.6. Métodos y procedimientos para la recolección de datos	25
3.7. Control de calidad y validación de los resultados.....	28
3.8 Análisis estadístico	29
3.9. Consideraciones éticas.....	29
IV. CAPÍTULO IV: RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN	29
4.1. Presentación y análisis de resultados	29
4.2. Discusión de resultados	36
V. CAPÍTULO V: PROPUESTA DE INVESTIGACIÓN	40
5.1. Conclusiones.....	40
5.2. Recomendaciones	41
VI. CAPÍTULO VI: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
ANEXOS	49

**Infección por *Toxoplasma gondii* y factores asociados en
donantes del Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú
julio a diciembre del 2019**

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Realidad problemática

La toxoplasmosis es una enfermedad infecciosa causada por el parásito protozoo *Toxoplasma gondii*, y que afecta a la mayoría de animales homeotermos, incluida el humano. Considerada una zoonosis reemergente y cosmopolita, cuyo hospedero definitivo es el gato y otros felinos (1,2). La infección humana es frecuente y se transmite mediante la ingestión de alimentos crudos o poco cocidos y agua contaminados, transplacentaria de madre a feto, y a través de la transfusión de sangre o transplantes, principalmente (2–4).

La infección en personas inmunocompetentes es subclínica o con manifestaciones clínicas leves y autolimitadas, sin embargo el parásito puede “ocultarse” y mantenerse inactivo por años y reactivarse cuando el sistema inmunológico se vea perturbado (4,5). La infección primaria en gestantes es la condición en que mayor daño produce *T. gondii*, la transmisión hematógena vía transplacentaria infecta al feto produciendo muerte o toxoplasmosis congénita (lesión neurológica y ocular), con secuelas permanentes y discapacitantes (6–8). Al respecto, un estudio recientemente reportó una frecuencia de 30,0% (18/60) de toxoplasmosis en gestantes de un hospital público; donde el 28,3 %

tuvieron antecedentes familiares de aborto, y el 20,0 % y 66,7 % tuvieron contacto con suelo y perros, respectivamente (9).

Por otra parte en personas con inmunocompromisos: síndrome de la inmunodeficiencia humana (SIDA) y cáncer principalmente; la infección primaria, secundaria por reactivación, representa alta carga de morbilidad y mortalidad (5,10–12). Asimismo, estudios recientes han relacionado a la toxoplasmosis y la Esquizofrenia (13).

Alrededor del mundo la exposición a *T. gondii* en donadores de sangre es de 33%. Brasil, un país limítrofe a Perú y con semejantes características climáticas y ambientales, es donde se ha reportado la más alta seroprevalencia con 75% (14). Mientras que en Perú, el único reporte al respecto se realizó en un hospital de Pasco, donde se encontró 83,9% de frecuencia de anticuerpos IgG anti *T. gondii*. (15). Al respecto, debe considerarse que cada año se realizan cientos de miles de transfusiones de sangre en una práctica médica cada vez común en el Perú y el mundo.

Sin embargo, en la macroregión norte del Perú, y en todo el resto del país, actualmente se desconoce la prevalencia de la toxoplasmosis en la población general, o en poblaciones específicas (mujeres en edad fértil, donantes de sangre e inmunocomprometidos), donde la enfermedad representa alta morbilidad, mortalidad y discapacidad. En este mismo sentido, también se desconocen los factores de riesgo locales y nacionales relacionadas a la infección; y los factores de riesgo ampliamente conocidos, aunque en controversia aún: consumo de carne cruda y mal cocida, consumo de agua y vegetales crudos contaminados, contacto con gatos o arena (3,14,16), requieren ser confirmados.

Por lo antes expuesto, se interpreta que el desconocimiento de la frecuencia y los factores asociados a la infección por *T. gondii* en donantes de sangre de un hospital de alta complejidad; representa una carga de salud pública para el país y un riesgo de vida para quienes lo podrían contraer mediante una transfusión sanguínea.

1.2. Formulación del problema

A. Problema general

¿Cuál es la frecuencia de la infección por *Toxoplasma gondii* y factores asociados en donantes del servicio de Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, julio a diciembre del 2019?

B. Problemas específicos

¿Cuál es la frecuencia de la infección aguda y crónica por *Toxoplasma gondii* y factores asociados en donantes del servicio de Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, julio a diciembre del 2019?

¿Cuáles son los factores asociados a la Toxoplasmosis en los donantes del servicio de Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, julio a diciembre del 2019?

1.3. Delimitación de la investigación

La presente investigación estudió la frecuencia de la infección por *T. gondii* y sus factores asociados en una muestra de la población de donantes del servicio de Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, durante julio a diciembre del 2019.

1.4. Planteamiento del problema

La toxoplasmosis es una infección parasitaria por el protozoo apicomplejo *T. gondii*; se transmite vía oral a través de la ingestión de agua o alimentos contaminados con el parásito, o por transplacentaria, o vía parenteral a través transfusiones sanguíneas. Sin embargo, en Perú se desconoce la frecuencia de la infección por este parásito en población de donantes de sangre, existiendo por tanto una probabilidad y riesgo presentes de transmitirse la enfermedad mediante una transfusión sanguínea.

Cabe destacar que, en Perú, las pruebas de tamizaje en hemodonaciones para enfermedades infecciosas no comprende a *T. gondii*. Por otra parte, también se desconocen los factores asociados (sociodemográficos, ambientales y hábitos), a la infección por *T. gondii* en la población de estudio.

1.5. Justificación e importancia de la investigación

La presente investigación permitirá obtener mayor entendimiento de la epidemiología de la toxoplasmosis transmitida a través de transfusiones sanguíneas en la macrorregión norte del Perú, toda vez que hasta ahora se desconocen estos aspectos de la enfermedad en el ámbito de estudio. Asimismo, constituirá conocimiento útil para diseño de estrategias de salud pública para el control de este problema parasitario.

La investigación también será útil para comparar la situación epidemiológica de esta enfermedad respecto a otras regiones del Perú y el Mundo. Los donantes de sangre voluntarios que participen en el estudio tendrán la oportunidad de ser diagnosticadas y de resultar positivas para la enfermedad, podrán ser tratadas oportunamente.

La información obtenida será de interés para las autoridades de salud pública, saneamiento ambiental y sociedad involucrada en los servicios de salud, para quienes la toxoplasmosis es un importante problema de salud. Las medidas de control adecuado tomado a partir de este estudio permitirán reducir los costos sociales y económicos que significa la atención de la toxoplasmosis congénita a largo plazo y de la toxoplasmosis en pacientes inmunocomprometidos.

Finalmente, la investigación tendrá interés científico, debido a que sentará las bases iniciales de comparación para posteriores investigaciones relacionadas con el tema.

1.6. Limitaciones de la investigación

El estudio tuvo algunas limitaciones. Primero, el diseño de investigación, observacional analítico de tipo transversal, no permitió demostrar relaciones de causalidad entre los factores evaluados y la presencia de infección por *T. gondii*; no obstante, varios factores evaluados son ampliamente reconocidos como factores de riesgo de la toxoplasmosis, además, los resultados abren nuevas líneas de investigación y son antecedentes para posteriores estudios complementarios. Segundo, la reducida muestra de estudio pudo haber influenciado en los estimadores estadísticos para demostrar asociación de los factores estudiados con la toxoplasmosis.

1.7. Objetivos de la investigación

A. Objetivo general

Determinar la frecuencia de la infección por *Toxoplasma gondii* y los factores asociados en donantes del servicio de Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, julio a diciembre del 2019.

B. Objetivos específicos

Determinar la frecuencia de infección aguda y crónica por *Toxoplasma gondii* en donadores del Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, durante julio a diciembre del 2019.

Identificar los factores asociados a la toxoplasmosis en donadores del Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, durante julio a diciembre del 2019.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO-CIENTÍFICO

2.1. Antecedentes de la investigación

Contexto internacional

En Egipto, un estudio en 260 donantes de sangre, mediante el análisis serológico mediante el método ELISA, se comprobó que el 59,6% de los donantes fueron positivos para anticuerpos IgG contra *T. gondii*. Además, se demostró una asociación entre la positividad de *T. gondii* y el consumo de carne procesada (17).

Asimismo, en un hospital al norte de la India fueron examinados 493 donantes de sangre, para detectar anticuerpos IgG e IgM contra *T. gondii* por el método ELISA, concluyendo que la prevalencia de anticuerpos IgG e IgM fueron 5,8% y 5,0%, respectivamente. La prevalencia fue mayor en mujeres (89,2%) y en donantes de reemplazo (donantes de reemplazo = 63,2%, donantes voluntarios = 33,5%) (18).

En el hospital general de Papua Nueva Guinea, se realizó un estudio seroepidemiológico en 301 participantes (120 donantes de sangre normales y 181 pacientes infectados con VIH), con el fin de estimar la prevalencia de la infección por *T. gondii*. Se obtuvo una tasa de prevalencia de anticuerpos global del 53% en la población y una tasa de infección significativamente mayor entre los pacientes con VIH (OR=2,14). A la luz de la epidemia actual de VIH/SIDA, las infecciones oportunistas como la toxoplasmosis serán causa de una considerable morbilidad y mortalidad (12).

En Irán se realizó una revisión sistemática y meta-análisis referido a la seroprevalencia de *T. gondii* en donantes de sangre iraníes, buscando estudios epidemiológicos publicados hasta julio del 2016. El estudio concluyó que la seroprevalencia de anticuerpos IgM e IgG entre los donantes de sangre fue de 2,74% y 31,84%, respectivamente. La seroprevalencia de *T. gondii* se asoció significativamente con respecto al grupo sanguíneo, pero esta relación no fue significativa con la transfusión de sangre (19).

Asimismo, en el mismo país de Irán, ciudad de Mashhad, se realizó otro estudio donde se evaluó la prevalencia y factores asociados de anticuerpos IgM e IgG contra *T. gondii* mediante ELISA en muestras de suero de 500 donantes de sangre sanos; observándose que el 29,6% dieron positivo para anticuerpos contra *T. gondii*, 25,0% solo anticuerpos IgG, 1,4% tanto IgM como IgG y 3,2% anticuerpos IgM solos. Varios factores de riesgo se relacionaron significativamente con la seropositividad de *T. gondii*: sexo femenino (OR = 3,222), edad de más de 40 años (P = 0,026) y consumo de salchichas/perros calientes (OR = 4,472) (20).

Por su parte, una investigación realizada en la ciudad de Shijiazhuang, China, en 864 estudiantes (422 hombres y 442 mujeres) de 4 universidades y 95 adultos sanos de la ciudad, donde los anticuerpos IgG específicos para *T. gondii* se detectaron mediante el uso de ELISA; demostrando que las tasas positivas de anticuerpos IgG específicos para *T. gondii* fueron de 5,1% y 7,4% en donantes de sangre de estudiantes universitarios y adultos sanos respectivamente. Las tasas positivas no fueron significativamente diferentes entre los sexos (5,0% para los hombres y 5,2% para las mujeres donadoras de sangre de estudiantes universitarios) y entre las diferentes universidades (P> 0,05) (21).

De forma muy similar, otro estudio realizado en la misma ciudad de ciudad de Shijiazhuang, provincia de Hebei, China, en 1 630 donantes de sangre sanos, de los cuales 7,73% (126/1 630) fueron positivos para la detección de anticuerpos contra *T. gondii*. Las frecuencias positivas entre los diferentes sexos, edades, ocupaciones y niveles de educación fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$); mientras que referente a los diferentes lugares de residencia no se observó diferencias significativas ($p > 0,05$). Asimismo, la infección por *T. gondii* está estrechamente relacionada con tener mascotas, comer afuera con frecuencia, comer asado/barbacoa, compartir tabla de cortar para alimentos cocidos y crudos, y no tener el hábito de lavarse las manos antes de las comidas (22).

Así también, una revisión sistemática y meta-análisis realizado en China, año 2018, analizó 40 trabajos publicados entre 1986 a 2017 en un total de 49 784 donantes de sangre, siendo la seroprevalencia de IgG de la infección por *T. gondii* de 6,26%. Se encontró una correlación estadísticamente significativa entre la seroprevalencia de la infección por *T. gondii* y el método de detección y el nivel educativo ($p < 0.01$). No hubo relación entre edad, sexo, ocupación y tipo de sangre y seroprevalencia de *T. gondii* ($p > 0.05$) (23).

Contexto latinoamericano

En un hospital de Tijuana, México se realizó un estudio prospectivo observacional con donadores voluntarios para detectar anticuerpos anti-toxoplasma IgG e IgM, encontrándose personas positivas a estos anticuerpos en adultos hombres y mujeres que además tienen perros y gatos en sus casas (24).

Una investigación realizada en 143 mujeres donantes en el hospital de San Miguel, El Salvador, después de realizar la prueba rápida utilizando método cualitativo toxo IgG/IgM, 86 mujeres resultaron aptas para donación. Del 100% de las donantes muestreadas, se obtuvo el 17.44% de reactividad de anticuerpos de tipo IgG pero no para IgM; y el 83.56% de la población presentó no reactividad para IgG e IgM (25).

Un trabajo realizado en la clínica cardiovascular en Medellín, Colombia, en donantes de sangre, a los cuales se les tomó una muestra de sangre venosa para determinar los niveles séricos de IgG contra *T. gondii* mediante una técnica de inmunoensayo por electroquimioluminiscencia; el 29,9% de los donantes presentó una serología reactiva para anticuerpos IgG contra el parásito (26).

En la ciudad de Hermosillo, México, se determinó la prevalencia de *T. gondii* en 408 donantes de sangre sanos y, la asociación de la infección de *T. gondii* con las características sociodemográficas, clínicas y de comportamiento de los donantes, demostrando que el 13.5% fueron positivos para anticuerpos IgG de *T. gondii*, y 21.8% de ellos también fueron positivos para anticuerpos IgM de *T. gondii*. El análisis multivariado mostró que la seropositividad a *T. gondii* se asoció con la edad (OR = 1.74) y consumo de tabaco (OR = 2.09) (16).

Un trabajo realizado en el III Hospital Clínico Quirúrgico, provincia de Holguín, Cuba, para conocer la seroprevalencia en 892 muestras de sueros de donantes de sangre, mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta se concluyó que la seropositividad para inmunoglobulina G, anti *Toxoplasma gondii* es de un 38,2% (27).

Se realizó un estudio en la provincia de Guantánamo, Cuba, en 562 muestras de donantes de sangre, resultando positivos para IgG anti *T. gondii* el 47,0 %, con más

del 62 % de positividad en los municipios de Baracoa y Maisí, con mayor prevalencia en áreas rurales; los valores de seropositividad observados en los grupos etáreos estudiados y la relación entre sexo no fue significativa, aunque el contacto con el parásito en el grupo de edad entre 18 y 40 años fue superior (28).

Se realizó un estudio en 922 donantes del Banco de sangre en La Habana, con la finalidad de conocer la prevalencia de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, y el comportamiento de la seropositividad con la edad; encontrándose una seroprevalencia contra *T. gondii* de 73,43%, además de un incremento de la seropositividad con la edad y una disminución de los porcentajes de reactividad en la medida que aumentan los títulos. La presencia de anticuerpos IgG específicos se comportó de manera similar para los grupos etarios de 20-24, 25-29 y 30-34 años, no encontrándose diferencias significativas entre ellos ($p>0,05$) (29).

Contexto Nacional

Una investigación realizada en un hospital de Tingo María Perú, en 192 muestras de sangre de donantes se identificó la seroprevalencia de toxoplasmosis, concluyendo que el 90.3% presenta un resultado negativo para IgM al donar sangre y un 83.9% presenta una seroprevalencia de toxoplasmosis de característica IgG dando un resultado positivo a una reacción de memoria, posiblemente haya estado expuesto al parásito (15).

2.2. Base teórico-científico

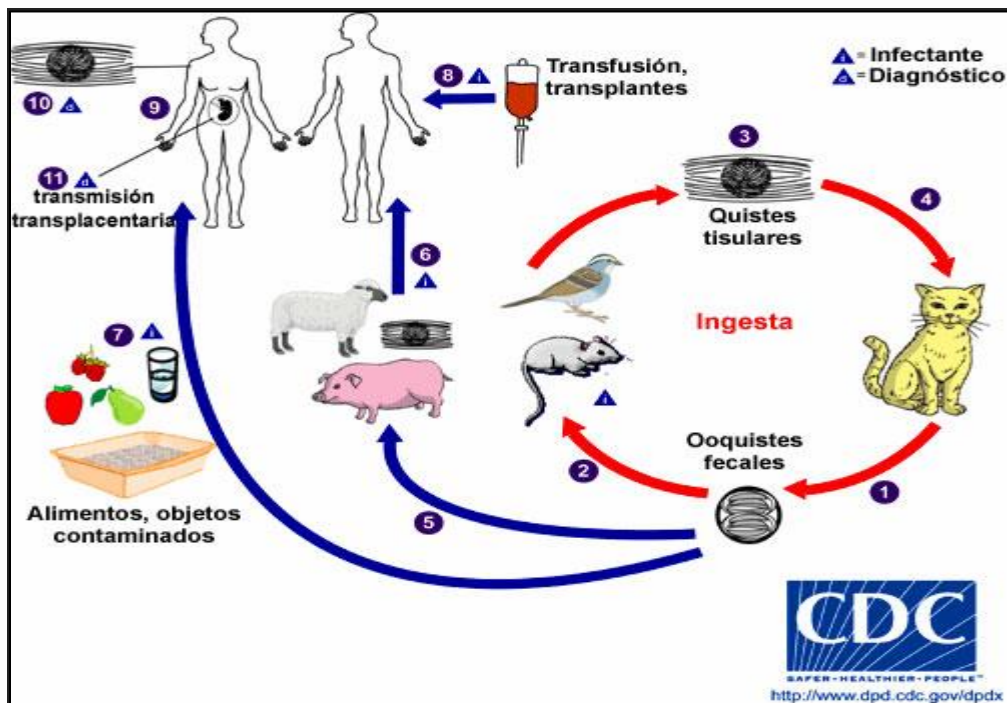
Biología de *Toxoplasma gondii*

T. gondii es un protozoo intracelular obligado, de grupo de los coccidios y es capaz de infectar a diferentes especies. Los hospederos definitivos son los felinos y los humanos hospederos intermediarios, al igual que los mamíferos cuadrúpedos y un grupo variado de aves(1,30).

Las formas sexuales del parásito se encuentran en el epitelio intestinal de los huéspedes definitivo: gatos domésticos y otros felinos; en él se transforman en ooquistes que posteriormente se desprenden y eliminan en el ambiente. Los huéspedes intermediarios en la naturaleza se infectan después de ingerir tierra, agua o material vegetal contaminado con ooquistes. Los esporozoitos del interior de los ooquistes se transforman en taquizoitos (multiplicación rápida) en el tejido neural y muscular (1,2). El estadio de bradizoito en el interior de quistes tisulares (músculo esquelético, el miocardio, el cerebro y los ojos), el parásito puede persistir en el interior de las células humanas durante períodos prolongados y la infección latente puede reactivarse, por lo general, en el caso del SIDA, donde la reactivación de *T. gondii* es causa de toxoplasmosis cerebral (5,10).

“Los gatos se infectan después de consumir huéspedes intermedios que albergan quistes de tejidos. Los gatos también pueden infectarse directamente por ingestión de ooquistes esporulados. Los animales criados para consumo humano y caza silvestre también pueden infectarse con quistes tisulares después de la ingestión de ooquistes esporulados en el medio ambiente. “Los seres humanos pueden infectarse por cualquiera de varias rutas” (1):

- Comer carne cruda o poco cocida de animales que albergan quistes de tejidos.
- Consumir alimentos o agua contaminados con heces de gato o por muestras ambientales contaminadas (como suelo contaminado con heces o cambiar la caja de arena de un gato).
- Transfusión de sangre o trasplante de órganos. Vía placentaria de la madre al feto.



Fuente: Centers for Disease Control and Prevention. CDC - Toxoplasmosis - Biology
 [Internet]. CDC. 2018.

Las toxoplasmosis

La enfermedad presenta diferencias en la morbilidad y mortalidad de las personas afectadas según el tipo de infección: a personas sanas e inmunocompetentes (excepto mujeres embarazadas), vertical o congénita, ocular y oportunista (en personas con compromiso inmunológico) (5). A saber:

- Infección en personas sin compromiso inmunológico. “Las personas sanas que se infectan con *T. gondii* a menudo no tienen síntomas porque su sistema inmunológico generalmente evita que el parásito cause enfermedades.

Cuando ocurre una enfermedad, generalmente es leve con síntomas "similares a la gripe" (por ejemplo, ganglios linfáticos sensibles, dolores musculares, etc.) que duran de semanas a meses y luego desaparecen. Sin embargo, el parásito permanece en el cuerpo de la persona en un estado inactivo. Puede reactivarse si la persona queda inmunosuprimida” (5).

- Infección vertical (madre a hijo o congénito). “En general, si una mujer se infectó antes de quedar embarazada, se protegerá al feto porque la madre ha desarrollado inmunidad. Si una mujer se infecta de nuevo con Toxoplasma durante o justo antes del embarazo, puede transmitir la infección a su bebé por nacer (transmisión congénita). El daño al feto a menudo es más grave cuanto más temprano en el embarazo se produce la transmisión. Los resultados potenciales pueden ser un aborto involuntario, un niño muerto o un niño nacido con signos de toxoplasmosis congénita (p. Ej., macro o microcefalia). Los bebés infectados antes del nacimiento a menudo no muestran síntomas al nacer, pero pueden desarrollarlos más adelante en la

vida con una posible pérdida de la visión, discapacidad mental y convulsiones” (5,6).

- Infección ocular. “Las lesiones oculares por infección congénita a menudo no se identifican al nacer, pero ocurren en el 20-80% de las personas infectadas congénitamente en la edad adulta. (...) La infección ocular conduce a una lesión inflamatoria aguda de la retina, que se resuelve dejando cicatrices retinocoroideas. Los síntomas de la enfermedad ocular incluyen dolor de ojo, sensibilidad a la luz (fotofobia), lagrimeo de los ojos, visión borrosa.

La enfermedad ocular puede reactivarse meses o años después, causando cada vez más daño a la retina. Si las estructuras centrales de la retina están involucradas, habrá una pérdida progresiva de la visión que puede conducir a la ceguera” (5).

- Infección oportunista (personas con inmunológicos comprometidos). Las personas con sistemas inmunitarios comprometidos pueden experimentar síntomas severos si se infectan con Toxoplasma mientras se suprime el sistema inmunitario. Las personas que adquieren la infección por el VIH y no se infectaron previamente con Toxoplasma tienen más probabilidades de desarrollar una infección primaria grave.

Las personas inmunocomprometidas que se infectaron con Toxoplasma en algún momento antes de ser inmunosuprimidas corren el riesgo de desarrollar una recaída (reactivación) de la toxoplasmosis. Por ejemplo, una persona que está infectada con el VIH y que ha reactivado la infección por Toxoplasma puede tener síntomas que incluyen fiebre, confusión, dolor de cabeza,

convulsiones, náuseas y falta de coordinación. La infección por Toxoplasma puede reactivarse en mujeres embarazadas inmunocomprometidas que se infectaron con Toxoplasma antes de su embarazo, y esto puede conducir a una infección congénita (2,5,31).

El diagnóstico de la toxoplasmosis se realiza indirectamente mediante la detección de anticuerpos (IgM, IgG e IgA), por técnicas inmunoserológicas. También se utilizan técnicas directas, como la histopatología, cultivo de células y técnicas moleculares. Las infecciones congénitas se puede lograr mediante la detección del ADN del parásito en el líquido amniótico, sangre o tejido fetal mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (2,32).

Epidemiología y factores de riesgo

“La infección suele ser más alta en áreas del mundo que tienen climas cálidos y húmedos y altitudes más bajas, porque los ooquistes sobreviven mejor en este tipo de entornos” (3). La toxoplasmosis no se transmite de persona a persona, excepto en casos de transmisión de madre a hijo (congénita) y transfusión de sangre o trasplante de órganos. Según el Centro de Prevención y Control de las enfermedades, las personas típicamente se infectan por tres rutas principales de transmisión (3) :

Transmisión alimentaria

- La forma tisular del parásito (un quiste microscópico que consiste en bradizoitos) puede transmitirse a los seres humanos mediante alimentos. Las personas se infectan por:
- Comer carne poco cocinada y contaminada (especialmente cerdo, cordero y venado) o mariscos (como ostras, almejas y mejillones).
- Ingesta accidentalmente de carne o mariscos poco cocidos, o después de manipularlos y no lavarse las manos a fondo (Toxoplasma no puede absorberse a través de la piel intacta).
- Comer alimentos contaminados con cuchillos, utensilios, tablas para cortar u otros alimentos que hayan estado en contacto con carne o mariscos crudos y contaminados.
- Beber leche de cabra sin pasteurizar (taquizoitos).

Transmisión zoonótica. Los gatos juegan un papel importante en la propagación de la toxoplasmosis. Se infectan al comer roedores, aves u otros animales pequeños infectados. El parásito se pasa luego a las heces del gato en forma de ooquiste, que es microscópico.

- Ingestión accidental de ooquistes después de limpiar la caja de arena de un gato cuando el gato ha arrojado Toxoplasma en sus heces.
- Ingesta accidental de ooquistes después de tocar o ingerir cualquier cosa que haya estado en contacto con las heces de un gato que contienen Toxoplasma.

- Ingestión accidental de ooquistes en suelos contaminados (por ejemplo, no lavarse las manos después de la jardinería o comer frutas o verduras sin lavar de un jardín)
- Agua potable contaminada con el parásito *Toxoplasma*.

Transmisión congénita. Una mujer recién infectada con *Toxoplasma* durante o justo antes del embarazo puede transmitir la infección a su hijo por nacer (infección congénita). Es posible que la mujer no tenga síntomas, pero puede haber consecuencias graves para el feto, como las enfermedades del sistema nervioso y los ojos.

Raras instancias de transmisión. Los receptores de trasplantes de órganos pueden infectarse al recibir un órgano de un donante positivo para *Toxoplasma*. En raras ocasiones, las personas también pueden infectarse al recibir sangre infectada mediante una transfusión. Los trabajadores de laboratorio que manipulan sangre infectada también pueden adquirir la infección por inoculación accidental.

Por otro lado, un estudio reciente ha presentado una hipótesis sugiriendo que la toxoplasmosis es transmitida sexualmente, desde un hombre infectado a una mujer no infectada durante una relación sexual no protegida. Lo cual puede resultar en la forma más seria de la enfermedad, la toxoplasmosis congénita (33). Los autores argumentan su hipótesis en que: 1) los taquizoitos de *T. gondii* están presentes en líquido seminal y tejido testicular de varios animales, incluyendo al humano. 2) más de las dos terceras partes de la infección en gestantes no tuvieron exposición a ningún factor de riesgo conocido. 3) la prevalencia de toxoplasmosis en mujeres en edad fértil co-varió con la incidencia de enfermedades de transmisión sexual.

2.3. Hipótesis

A. Hipótesis general

La infección por *Toxoplasma gondii* en donantes del servicio de Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, julio a diciembre del 2019; es de alta frecuencia y los factores asociados es la edad, ocupación agricultor y la ingestión de vegetales sin lavar.

B. Hipótesis específicas

Los donantes del Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, durante julio a diciembre del 2019, presentan alta frecuencia de infección crónica por *Toxoplasma gondii*.

Los factores asociados a la toxoplasmosis en donadores del Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, durante julio a diciembre del 2019; son la edad mayor a 30 años, ocupación agricultor y la ingestión de vegetales sin lavar.

2.4. Variables

A. Identificación de variables

Variable independiente: Factores asociados a la toxoplasmosis.

Variable dependiente: Infección por *T. gondii* en donadores de sangre.

B. Definición conceptual

Infección por *T. gondii*. Ingreso, multiplicación e invasión del parásito *T. gondii* en el hospedero humano, quién organiza una respuesta inmunológica.

Factores asociados: Condiciones, circunstancias o hábitos que favorecen la probabilidad de presentar infección por *T. gondii*.

C. Cuadro de operalización

Variable	Definición operacional	Indicadores	Índices	Escala	Instrumento
V. Dependiente: Infección por <i>T. gondii</i> .	Presencia de anticuerpos séricos IgM o IgG contra <i>T. gondii</i>	IgM IgG	Positivo, Negativo	Nominal	Ficha de inmuno-análisis
V. Independiente: factores asociados	Condiciones, circunstancias o hábitos que favorecen la probabilidad de presentar infección por <i>T. gondii</i> .	Sexo	M, F	Nominal	Guía entrevista
		Edad	Años	Razón	Guía entrevista
		Grupo etario	18-29, 30-60	Nominal	Guía entrevista
		Zona residencia	Rural, urbano	Nominal	Guía entrevista
		Lugar procedencia	Lugar	Razón	Guía entrevista
		Ocupación	Denominación	Nominal	Guía entrevista
		Contacto con gatos	Sí, No	Nominal	Guía entrevista

		Contacto con perros	Sí, No	Nominal	Guía entrevista
		Contacto con animales domésticos	Sí, No	Nominal	Guía entrevista
		Contacto con animales silvestres	Sí, No	Nominal	Guía entrevista
		Consumo de agua no potable	Sí, No	Nominal	Guía entrevista
		Ingestión de carnes crudas o mal cocidas	Sí, No	Nominal	Guía entrevista
		Consumo de vegetales crudos sin lavar	Sí, No	Nominal	Guía entrevista
		Contacto con suelo o arena	Sí, No	Nominal	Guía entrevista

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de investigación

Investigación de tipo transversal analítico.

3.2. Diseño de la investigación

Diseño tipo observacional analítico tipo prevalencia.

3.3. Población y muestra

Población: Aproximadamente 1 200 donantes del Servicio de Banco de Sangre del Hospital II-2 de Tarapoto durante los meses de julio a diciembre del año 2019.

Muestra: Está constituido por 92 donantes, tamaño obtenido a través de la fórmula para estimar una proporción cuando la población es conocida, nivel de confianza al 95%, error de 8% y una prevalencia esperada de 83,6 %, según referencia (15). El muestreo fue aleatorio simple.

Criterios de inclusión: Donantes que pudieron leer, entender y firmar el consentimiento informado.

Criterios de exclusión: Los que no firmaron el consentimiento informado.

3.4. Materiales, técnicas e instrumentos de recolección de datos

DETECCIÓN DE TOXOPLASMOSIS

La detección de la infección se realizó buscando anticuerpos séricos IgM e IgG anti *Toxoplasma gondii* en el suero de la paciente. Para tal motivo, se recolectó 6 mL de sangre por punción venosa para después separar el suero y conservarlo a -70°C.

Las pruebas serológicas se estandarizaron usando el ensayo inmuno-absorbente ligado a enzima (Elisa, por sus siglas en inglés Enzyme Linked Immunosorbente Assay); siguiendo las recomendaciones del fabricante (Vircell ®). Se evaluaron cualitativamente los anticuerpos IgM, IgG contra *T. gondii*. La interpretación positiva, según el kit, serán los valores índices mayores de 11, en ambas determinaciones.

Interpretación de la infección aguda y crónica de *T. gondii* será como sigue:

1. Toxoplasmosis aguda (infección activa): cuando las muestras resulten positivas a IgM e IgG, o cuando se evidencie seroconversión de la IgM a IgG o incremento de más de cuatro veces el título de la IgG en la segunda muestra.
2. Toxoplasmosis crónica: Cuando las muestras resulten positivas únicamente a IgM o IgG, y no se evidencia seroconversión o incremento de títulos en la segunda muestra en la IgM e IgG respectivamente.

FACTORES ASOCIADOS

La recolección de datos referente a los factores asociados, se realizó mediante la aplicación de una entrevista a cada participante.

3.5. Validación y confiabilidad de los instrumentos

Los kits diagnósticos utilizados para la detección de la toxoplasmosis mostraron información escrita inserta que validaba su propósito. La sensibilidad y especificidad descritas para los kits fueron de 100,0 % y 97,0 % para el IgM y 98,0 % y 100,0 % para el IgG, respectivamente. A los donantes cuyas muestras resulten únicamente positivas a IgM o IgG, se solicitará una segunda muestra 15 a 21 días después para evaluar seroconversión (de IgM a IgG) o incremento de títulos en la IgG.

El instrumento tipo guía de entrevista se utilizó para recolectar los factores asociados y este fue evaluado por expertos en Infectología y Microbiología, y contuvo preguntas referentes a las variables sociodemográficas, ambientales y hábitos alimenticios (ver anexo 4).

Los equipos en donde se procesó las muestras fueron en un lavador semiautomatizado de ELISA de la marca Rayto, modelo RT-2600 y el lector de placas de la marca Rayto, modelo RT-2100C. Ambos equipos antes del proceso contaban con la ficha técnica de mantenimiento al día.

3.6. Métodos y procedimientos para la recolección de datos

Protocolo de ELISA para detección de IgM anti toxoplasma (Kit Toxoplasma Elisa IgM capture-Vircell ®):

- “Se ajustó el baño maría de agua a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Sacó todos los reactivos una hora antes de la realización del test para que alcancen la temperatura ambiente, evitando sacar la placa del envase. Agitar todos los componentes.
- Sacó el número de pocillos necesarios para el número de sueros que se van a procesar, más otros cuatro pocillos, uno para el control positivo, uno para el control negativo y dos para el suero cut off. Colocar el resto de los pocillos en el sobre y volver a cerrarlo.
- Añadió 100 µl de diluyente de muestras a todos los pocillos que se vayan a emplear, excepto a los de los controles. Añadir 5 µl de las muestras, 100 µl del control positivo, 100 µl del suero cut off (en duplicado) y 100 µl del control negativo en los pocillos correspondientes.
- Tapó mediante lámina adhesiva e incubó en estufa/baño durante 60 minutos a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Preparó la solución de conjugado según se indica en “Preparación de los reactivos”.

- Se retiró la lámina adhesiva, aspiró el contenido de todos los pocillos y lavó cada uno de ellos 5 veces con 0,3 ml de solución de lavado, asegurándose que no quedan restos de solución de lavado.
- Se añadió inmediatamente 100 µl de conjugado reconstituido (preparado anteriormente) a todos los pocillos. Se tapó mediante lámina adhesiva e incubó en estufa/baño durante 60 minutos a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Se retiró la lámina adhesiva, aspirar el contenido de todos los pocillos y lavar cada uno de ellos 5 veces con 0,3 ml de solución de lavado, asegurándose que no quedan restos de solución de lavado.
- Se añadió inmediatamente 100 µl de solución de sustrato a todos los pocillos. Incubó a temperatura ambiente durante 20 minutos, en la oscuridad.
- Se añadió inmediatamente 50 µl de solución de parada a todos los pocillos.
- Se valoró espectrofotométricamente la densidad óptica 450/620 nm, antes de 1 hora de acabado el ensayo.
- **Cálculos.** Se realizó el cálculo del valor índice mediante la siguiente fórmula:
Índice de anticuerpos = (densidad óptica de la muestra / media de la densidad óptica del cut off) x 10.
- **Interpretación.** Negativo: < 9, Indeterminado: 9 – 11 y Positivo: >9. Los resultados con interpretación indeterminada fueron repetidos 15 días después, si la interpretación persistió se registró como negativo.

Protocolo de ELISA para detección de IgG anti toxoplasma (Kit Toxoplasma Elisa IgG capture-Vircell ®):

El protocolo es el mismo que para el Kit Toxoplasma Elisa IgG, descrito previamente. Asimismo, el flujograma de la corrida se encuentra en el (Ver anexo 1).

3.7. Control de calidad y validación de los resultados.

Para la validación de los resultados se efectuó el control de calidad interno proporcionado por el fabricante. Es decir, se aplicó los valores establecidos en el inserto de toxoplasmosis IgG e IgM de la marca vircell para el control Positivo, control Negativo y para el cut-off. Si algunos de estos controles nos salían por encima o por debajo de los valores establecidos en el inserto, se invalidaba los resultados. (Ver anexo 7).

Se presenta a continuación los valores establecidos por el inserto de toxoplasmosis IgG e IgM para los controles Positivos, Negativos y Cut-Off. (Anexo 2)

- Toxoplasmosis IgG :

- Control Positivo: > 0.9
- Control Negativo: < 0.5
- Cut-Off: $0.5 - 1.5$

- Toxoplasmosis IgM :

- Control Positivo: > 0.9
- Control Negativo: < 0.5
- Cut-Off: $0.5 - 1.5$

3.8. Análisis estadístico

Los datos recolectados fueron organizados en una base de datos en Microsoft Excel 2013. Posteriormente, los datos fueron analizados con el programa estadístico Stata vs 11.1; y se realizará según la naturaleza de cada variable. Se realizará un análisis descriptivo de las variables cualitativas por frecuencias absolutas y relativas, e intervalos de confianza al 95% (IC95 %). Las variables cuantitativas, previo estudio de normalidad con el test de Shapiro-Wilk, asimismo se presentarán como medidas de tendencia central y dispersión generando tablas para su análisis.

El análisis bivariado de asociación de toxoplasmosis y los factores se realizará mediante el test de la Chi cuadrado de Pearson o el test exacto de Fisher y un nivel de significancia el valor de $p < 0,05$. La medición de las asociaciones entre los factores y la mayor frecuencia de la infección por *T. gondii* se presentarán en forma de razones de prevalencias (RP) con un intervalo de confianza del 95%.

3.9. Consideraciones éticas

Para la realización de este estudio se contó con el permiso institucional del banco de sangre del Hospital II-2 de Tarapoto. Asimismo se solicitó la revisión y aprobación del protocolo por el comité de ética institucional e independiente del Hospital Regional Lambayeque. También se garantizó en todo momento el cumplimiento de criterios de autonomía y anonimato de cada participante; asimismo, la participación en el estudio será voluntaria y después de haber leído, entendido y firmado el consentimiento informado escrito (Ver Anexo 3).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. Presentación y análisis de resultados

Se estudiaron 92 donantes en el Hospital II Tarapoto, setiembre a diciembre del 2019.

La mediana de edad fue de 30 años, intervalo intercuartílico 22 a 36 años.

En cuanto a la sociodemografía, la muestra de donantes en el periodo de estudio se caracterizó por un predominio del género masculino (76,1 %), procedencia de la región San Martín (90,2 %), zona domiciliaria urbana (81,5 %) y ocupación estudiante (34,8 %). Ver tabla 1.

Respecto al aspecto ambiental y hábitos, la muestra se caracterizó por un predominio de no contacto con gatos, perros, animales domésticos o silvestres, con 66,3 %, 60,9 %, respectivamente. Asimismo, el 29,4 % ingiere agua no potable y el 61,9% manifiesta tener contacto con tierra o arena (Ver tabla 2).

Tabla 1. Características sociodemográficas de los donantes del Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, julio a setiembre del 2019.

Características sociodemográficas	n	%
Edad (años)		
18 a 29	44	47,8
30 a 59	48	52,2
Sexo		
Femenino	22	23,9
Masculino	70	76,1
Procedencia		
San Martín	83	90,2
Otros	9	9,8
Zona domiciliaria		
Rural	17	18,5
Urbano	75	81,5
Ocupación		
Agricultor-obrero	19	20,6
Casa	9	9,8
Comerciante	19	20,6
Estudiante	32	34,8
Oficina	9	9,8
Salud	4	4,4

Fuente: Datos obtenidos por medio de la entrevista.

Tabla 2. Características ambientales y hábitos de los donantes del Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, julio a diciembre del 2019.

Características	n	%
ambientales y hábitos		
Contacto con gatos		
Sí	31	33,7
No	61	66,3
Contacto con perros		
Sí	36	39,1
No	56	60,9
Contacto con animales domésticos		
Sí	31	33,7
No	61	66,3
Contacto con animales silvestres		
Sí	7	7,6
No	85	92,4
Consumo de agua no potable		
Sí	27	29,4
No	65	70,6
Consumo de carne cruda o mal cocida		
Sí	9	9,8
No	83	90,2
Consumo de vegetales crudos		
Sí	5	5,4
No	87	94,6
Contacto con tierra o arena		
Sí	57	61,9
No	35	38,1

Fuente: Datos obtenidos por medio de la entrevista.

El 77,2% (IC95 %: 68,6 % - 85,8 %) de donantes presentaron IgG anti *T. gondii*, correspondiendo a infección crónica o exposición pasada (ver figura 1). No se observaron de donantes con presencia de IgM anti *T. gondii*. No se observaron casos de infección aguda por *T. gondii*.

Tabla 03. Frecuencia de positivos y negativos de anticuerpos IgG y anticuerpos IgM en donantes del Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, julio a diciembre del 2019.

TOXOPLASMOSIS				
RESULTADOS	IgG		IgM	
	n	%	n	%
POSITIVO	71	77.2	0	0.0
NEGATIVO	21	22.8	92	100.0
TOTAL	92	100.0	92	100.0

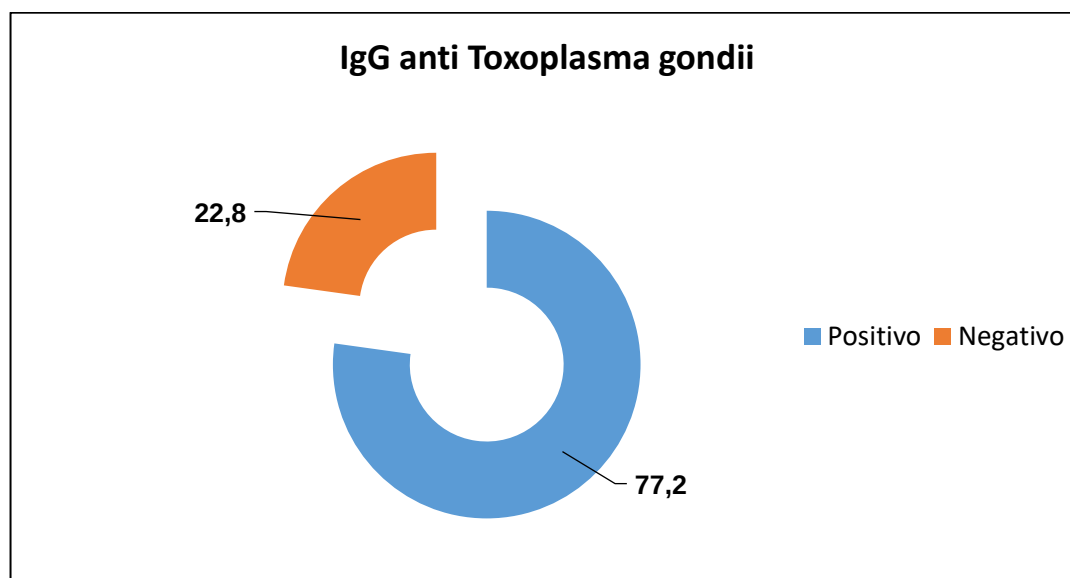


Gráfico 1. Frecuencia de anticuerpos IgG anti *T. gondii* en donantes del Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, julio a diciembre del 2019.

En cuanto al análisis bivariado se observó que ninguna variable sociodemográfica evaluada presentó asociación con la infección por *T. gondii* (tabla 5). Sin embargo, en cuanto a los factores ambientales se observó que el contacto con gatos y animales domésticos presentaron asociación con la infección con *T. gondii*, ambos con un valor de $p=0,037$; $RP=1,28$ e $IC95\% = 1,02 - 1,61$ (tabla 4).

Tabla 04. Asociación de los factores sociodemográficos a infección por *T. gondii* en donantes del Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, julio a diciembre del 2019.

Factores sociodemográficos	Toxoplasmosis/total (%)	Valor de p
Edad (años)		
18 a 29	31/44(70,5)	0,213*
30 a 59	40/48(83,3)	
Sexo		
Femenino	18/22(81,8)	0,584*
Masculino	53/70(75,7)	
Procedencia		
San Martín	65/83(78,3)	0,678*
Otros	6/9(66,7)	
Zona domiciliaria		
Rural	15/17(88,2)	0,341*
Urbano	56/75(74,7)	
Ocupación		
Agricultor-obrero	12/19(63,2)	0,641**
Casa	8/9(88,9)	
Comerciante	16/19(84,2)	
Estudiante	25/32(78,1)	
Oficina	7/9(77,8)	
Salud	3/4(75,0)	

(*) Valor de p de prueba Exacta de Fisher, (**) Valor de p de prueba de Chi cuadrado.

Tabla 5. Asociación de los factores ambientales y hábitos a infección por *T. gondii* en donantes del Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, julio a diciembre del 2019.

Factores ambientales y hábitos	Toxoplasmosis/total (%)	Valor de p*
Contacto con gatos		
Sí	28/31(90,3)	0,037
No	43/61(70,5)	
Contacto con perros		
Sí	30/36(83,3)	0,315
No	41/56(73,2)	
Contacto con animales domésticos		
Sí	28/31(90,3)	0,037
No	43/61(70,5)	
Contacto con animales silvestres		
Sí	5/7(71,4)	0,999
No	66/85(77,6)	
Consumo de agua no potable		
Sí	22/27(81,5)	0,596
No	49/65(75,4)	
Consumo de carne cruda o mal cocida		
Sí	8/9(88,9)	0,459
No	63/83(75,9)	
Consumo de vegetales crudos		
Sí	4/5(80,0)	0,999
No	67/87(77,0)	
Contacto con tierra o arena		
Sí	45/57(78,9)	0,618
No	26/35(74,3)	

(*) Valor de p de prueba Exacta de Fisher

4.2. Discusión de resultados

En la población de este estudio se resalta el predominio del sexo masculino (76,1 %) y la mediana de edad de 30 años, lo que describe el tipo de personas que asisten como donantes de sangre, voluntarios o de reposición. Asimismo, es una población mayoritariamente urbana (81,5 %), pero que sin embargo realizan actividades en contacto con tierra y arena (61,9 %), ingiere agua no potable y más de la mitad de ellos tienen contacto con gatos, perros o animales domésticos o silvestres. Estas características revelan las múltiples posibilidades que presentan la población para adquirir la infección por *T. gondii* (3), por cuanto estas son reconocidas como factores de riesgo para la transmisión de la enfermedad.

En el presente estudio, realizado en una muestra de donantes del servicio de banco de sangre del Hospital II Tarapoto, observamos que el 77,2 % de donantes presentaron evidencia de infección pasada o crónica por *T. gondii*, esto en virtud de la seropositividad de anticuerpos IgG anti *T. gondii*; sin seroconversión. Estos resultados evidencian la alta exposición de la población de estudio al parásito y por tanto de la existencia de múltiples factores de riesgo presentes, que permiten una o más formas de transmisión del parásito (ingestión de alimentos o agua contaminados, zoonótica, transplacentaria y transfusión) (3).

Si bien, cuando la infección es “pasada” o crónica, en teoría “no existe” parásitos circulantes, existe el riesgo que en volúmenes grandes de sangre transfundidos, la infección se transmita. Además, a pesar que la infección primaria no produce complicaciones importantes en personas inmunocompetentes, la reactivación de la

enfermedad en el futuro cuando el sistema inmunológico se vea perturbado por causas naturales o iatrogénicas, es una posibilidad real (2,5,31).

La alta seropositividad de IgG en donantes de sangre del Hospital II Tarapoto, Perú, observada en nuestro estudio (77,2 %), contrasta con lo observado en estudios previos alrededor del mundo, también en donantes de sangre; donde encontraron frecuencias menores: 5,8 % en India (18), 29,6 % (20) y 31,8 % (19) en Irán; alrededor de 7% (21–23) en China; y 56,9 % en Egipto (17). Asimismo, en Latinoamérica las frecuencia de la seropositividad es variable: 17,4% en El Salvador (25), 29,9 % en Colombia (26), 13,5 % en México (16) y desde 38,2 % hasta 73,3 % en Cuba (27–29). Mientras que en Tingo María, Perú, una región de la selva central, se reportó una frecuencia alta y similar a la observada en el presente estudio (83,9%) (15). La comparación con estos estudios revela que la población de estudio presenta una de las frecuencias más altas de exposición e infección con el *T. gondii*.

Sin embargo, en este estudio no se observaron donantes con infección primaria o aguda, debido a la ausencia de anticuerpos IgM anti *T. gondii* o de incremento de títulos de la IgG. Teniendo en cuenta que la mediana de edad de los donantes fue de 30 años, con un rango entre 22 a 36 años, estos resultados indican que la exposición al parásito es frecuente y la infección primaria en la población de estudio se presenta tempranamente. Estos resultados concuerdan con un estudio previo en el Salvador donde tampoco observaron infección aguda donantes (29). No obstante, en la mayoría de estudios previos donde han buscado IgM anti *T. gondii* en donantes, se han reportado frecuencias menores al 5 %, tanto en el ámbito internacional (18–20), como latinoamericano (16,29).

En cuanto a los factores asociados, la presencia de anticuerpos IgG anti *T. gondii* en los donantes estuvieron relacionados con el contacto con gatos y animales domésticos. De hecho, son los gatos domésticos, y felinos en general, quienes son los hospederos definitivos del *T. gondii*. Estos albergan y multiplican el parásito en su intestino y eliminan los ooquistes a través de las heces, contaminando el suelo, la arena e incluso su pelaje y otros espacios que utilicen; lugares desde donde los hospederos intermediarios, que incluye el humano, se contagian (1). Estudios previos también han relacionado estos factores con la presencia de la infección en donantes (22,24).

No encontramos asociación de la edad, sexo, zona domiciliaria y ocupación con la infección. Tampoco se encontró relación con el contacto con perros, animales silvestres, ingestión de agua no potable e ingestión de carnes y vegetales crudos o mal cocidos. A pesar que estos factores ampliamente descritos como factores relacionados a la toxoplasmosis (3), en este estudio no hubo evidencia.

De hecho estudios previos han relacionado al sexo (20,22), consumo de carne procesada (17), edad y consumo de tabaco (16,22) y comer asado/barbacoa, compartir tabla de cortar para alimentos cocidos y crudos, y no tener el hábito de lavarse las manos antes de las comidas (22). Estos hallazgos se pueden explicar por las diferentes condiciones sociodemográficas, ambientales y culturales de las poblaciones estudiadas, así como por las diferentes metodologías de medición y análisis de las variables, diseños de investigación utilizados y robustez de las muestras estudiadas.

La transfusión sanguínea no es la forma más frecuente e importante de transmisión de la toxoplasmosis (1,3), sobre todo si la sangre procede de un donador con infección pasada, es decir seropositivo solo a IgG; sin embargo, la infección latente y la reactivación de la enfermedad demostradas (5), podrían sugerir la presencia de

taquizoitos o bradizoitos del parásito en sangre donada y por lo tanto transmitir la enfermedad al receptor. La reactivación de la infección en pacientes con inmunocompromisos son causa importante de morbilidad y mortalidad actual (5,12).

El presente estudio presentó algunas limitaciones. Primero, el diseño de investigación, observacional analítico de tipo transversal, no permitió demostrar relaciones de causalidad entre los factores evaluados y la presencia de infección por *T. gondii*; no obstante, varios factores evaluados son ampliamente reconocidos como factores de riesgo de la toxoplasmosis. Además, los resultados abren nuevas líneas de investigación y son antecedentes para posteriores estudios complementarios. Segundo, la reducida muestra de estudio pudo haber influenciado en los estimadores estadísticos para demostrar asociación de los factores estudiados con la toxoplasmosis.

CAPÍTULO V

PROPUESTA DE INVESTIGACIÓN

CONCLUSIONES

1. Se observó alta frecuencia de infección crónica por *T. gondii* (77,2 %), pero ausencia de infección aguda en donantes del servicio de Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, julio a diciembre del 2019.
2. El contacto con gatos y animales domésticos fueron los factores que estuvieron asociados con la mayor frecuencia de la infección por *T. gondii* ($p < 0,05$). No se observó asociación de la edad, sexo, zona domiciliaria y ocupación, contacto con perros, animales silvestres, ingestión de agua no potable e ingestión de carnes y vegetales crudos o mal cocidos.

RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de toxoplasmosis en donantes de sangre usando pruebas diagnósticas directas de alta sensibilidad (Reacción en Cadena de la Polimerasa, cultivo parasitológico, entre otras), con el fin de buscar la presencia del parásito en sangre circulante, y demostrar el riesgo de transmisión en las transfusiones.
2. El ministerio de salud a través de la Dirección General de Donaciones, Trasplante y Banco de Sangre del Minsa (Digdot) evalúe la inclusión de la toxoplasmosis en las pruebas de tamizaje de las hemodonaciones, en particular en las regiones no endémicas de la enfermedad y en donantes procedentes de zonas de alta frecuencia.
3. Impulsar políticas públicas de difusión en los sectores salud y agricultura con el fin de conocer los factores de riesgo de la toxoplasmosis y así disminuir la exposición y tasas de infección de esta parasitosis.
4. Proponer estudios complementarios en líneas de investigación definidas que permitan demostrar implementar estrategias y políticas que permitan disminuir la exposición y las consecuencias de este parásito “desatendido” en el Perú.

CAPÍTULO VI

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Centers for Disease Control and Prevention. CDC - Toxoplasmosis - Biology [Internet]. CDC. 2018 [cited 2019 Apr 24]. Available from: <https://www.cdc.gov/parasites/toxoplasmosis/biology.html>
2. Guy EC. Toxoplasmosis. *Medicine (Baltimore)*. 2014;42(1):480–4.
3. Centers for Disease Control and Prevention. CDC - Toxoplasmosis - Epidemiology and Risk Factors [Internet]. CDC. 2018 [cited 2019 Apr 24]. Available from: <https://www.cdc.gov/parasites/toxoplasmosis/epi.html#rare>
4. Dardé M, Peyron F. Toxoplasma y toxoplasmosis. *EMC - Pediatría* [Internet]. 2013 Mar [cited 2018 Sep 16];48(1):1–12. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1245178913641530>
5. Centers for Disease Control and Prevention. CDC - Toxoplasmosis - Disease [Internet]. CDC. 2018 [cited 2019 Apr 24]. Available from: <https://www.cdc.gov/parasites/toxoplasmosis/disease.html>
6. Wallon M, Peyron F. Congenital Toxoplasmosis: A Plea for a Neglected Disease. *Pathog (Basel, Switzerland)* [Internet]. 2018 Feb 23 [cited 2018 Sep 16];7(1):25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29473896>
7. Havelaar AH, Kemmeren JM, Kortbeek LM. Disease Burden of Congenital Toxoplasmosis. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2007 Jun 1 [cited 2018 Sep 16];44(11):1467–74. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/517511>

8. Fallahi S, Rostami A, Nourollahpour Shiadeh M, Behniafar H, Paktinat S. An updated literature review on maternal-fetal and reproductive disorders of *Toxoplasma gondii* infection. *J Gynecol Obstet Hum Reprod* [Internet]. 2018 Mar [cited 2019 Mar 7];47(3):133–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29229361>

9. Lopez-Gomez NM, Becerra-Gutierrez LK, Aguilar-Gamboa FR, Arriaga-Deza EV, Silva-Díaz H. Frecuencia y factores asociados a toxocariosis y toxoplasmosis en gestantes admitidas en un hospital del norte del Perú. *Rev Exp Med* [Internet]. 2019 [cited 2019 Dec 3];5(2):6. Available from: <http://rem.hrlamb.gob.pe/index.php/REM/article/view/334>

10. Wang Z-D, Wang S-C, Liu H-H, Ma H-Y, Li Z-Y, Wei F, et al. Prevalence and burden of *Toxoplasma gondii* infection in HIV-infected people: a systematic review and meta-analysis. *Lancet HIV* [Internet]. 2017 Apr [cited 2019 Apr 24];4(4):e177–88. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28159548>

11. Anvari D, Sharif M, Sarvi S, Aghayan SA, Gholami S, Pagheh AS, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cancer patients: A systematic review and meta-analysis. *Microb Pathog* [Internet]. 2019 Apr [cited 2019 Apr 24];129:30–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30708042>

12. John LN, McBride WJ, Millan J, Wilson K. Seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in HIV/AIDS patients and healthy blood donors at the Port Moresby General Hospital, Papua New Guinea. *P N G Med J* [Internet]. 2012 [cited 2019 Jan 24];55(1–4):88–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25338478>

13. Fuglewicz AJ, Piotrowski P, Stodolak A. Relationship between toxoplasmosis and schizophrenia: A review. *Adv Clin Exp Med* [Internet]. 2017 [cited 2019 Mar

- 7];26(6):1031–6. Available from:
<http://www.advances.umed.wroc.pl/pdf/2017/26/6/1031.pdf>
14. Foroutan-Rad M, Majidiani H, Dalvand S, Daryani A, Kooti W, Saki J, et al. Toxoplasmosis in Blood Donors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Transfus Med Rev* [Internet]. 2016 Jul [cited 2019 Jan 23];30(3):116–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27145927>
 15. Fernandez Vasquez MC, Soto Brito E. Seroprevalencia de toxoplasmosis en donantes de sangre del Hospital de Apoyo Tingo María 2017 [Internet]. Universidad Nacional Federico Villarreal; 2018 [cited 2019 Jan 23]. Available from: <http://repositorio.unfv.edu.pe/bitstream/handle/UNFV/2247/FERNANDEZ VASQUEZ MARILUZ CONSTANTINA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 16. Alvarado-Esquivel C, Rascón-Careaga A, Hernández-Tinoco J, Corella-Madueño MAG, Sánchez-Anguiano LF, Aldana-Madrid ML, et al. Seroprevalence and Associated Risk Factors for *Toxoplasma gondii* Infection in Healthy Blood Donors: A Cross-Sectional Study in Sonora, Mexico. *Biomed Res Int* [Internet]. 2016 [cited 2019 Jan 23];2016:1–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27446960>
 17. Elsheikha HM, Aboul-Dahab MAO, Abdel Maboud AI, El-Sherbini ET. Prevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* antibodies in asymptomatic Egyptian blood donors. *J Egypt Soc Parasitol* [Internet]. 2009 Apr [cited 2019 Jan 24];39(1 Suppl):351–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19621653>
 18. Elhence P, Agarwal P, Prasad KN, Chaudhary RK. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in North Indian blood donors: Implications for transfusion

- transmissible toxoplasmosis. *Transfus Apher Sci* [Internet]. 2010 Aug [cited 2019 Jan 24];43(1):37–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20605111>
19. Mansouri A, Adhami Mojarad MR, Badfar G, Abasian L, Rahmati S, Kooti W, et al. Epidemiology of *Toxoplasma gondii* among blood donors in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Transfus Apher Sci* [Internet]. 2017 Jun [cited 2019 Jan 23];56(3):404–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28433405>
 20. Zarean M, Shafiei R, Gholami M, Fata A, Rahmati Balaghaleh M, Kariminik A, et al. Seroprevalence of Anti-*Toxoplasma Gondii* Antibodies in Healthy Voluntary Blood Donors from Mashhad City, Iran. *Arch Iran Med* [Internet]. 2017 [cited 2019 Jan 23];20(7):441–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28745905>
 21. Xin L-F, Song R-H. Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among college student blood donors in Shijiazhuang City. *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi* [Internet]. 2013 Jun [cited 2019 Jan 24];25(3):254, 258. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24024442>
 22. Ya W, Ren-Hao S. Survey of *Toxoplasma gondii* infection characteristics and its risk factors among healthy blood donation population in Shijiazhuang City, Hebei Province. *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi* [Internet]. 2017 Mar 2 [cited 2019 Jan 23];29(3):377–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29469539>
 23. Wang T, Han Y, Pan Z, Wang H, Yuan M, Lin H. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in blood donors in mainland China: a systematic review and meta-analysis. *Parasite* [Internet]. 2018 Jul 23 [cited 2019 Jan 23];25:36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30040610>

24. Rosales Aguilar M, Gutiérrez Villagrán M de J, Díaz Trujillo GC, Lugo Balderas JL. Anticuerpos Anti-Toxoplasma gondii en donadores voluntarios de sangre en Hospital General de Tijuana, México. Rev Iberoam las Ciencias la Salud RICS, ISSN-e 2395-8057, Vol 5, N° 10, 2016 (Ejemplar Dedic a Julio - Diciembre 2016), 11 págs [Internet]. 2016 [cited 2019 Jan 23];5(10):1–11. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5662129>

25. Guevara Díaz IN, Navarrete Chávez MH, Lazo Cruz JN. Detección de anticuerpos Anti Toxoplasma Gondii de tipo IGM, en hemocomponentes provenientes de donantes mujeres en el área de banco de sangre del Hospital Nacional San Juan de Dios de San Miguel. periodo: agosto y septiembre de 2013 [Internet]. Universidad de el Salvador; 2013 [cited 2019 Jan 23]. Available from: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/7446/>

26. Betancour C alberto, Jaramillo JM, Puyana JD, Quintero MI, Estrada S, Salazar LM. Seroprevalencia de toxoplasmosis en donantes de sangre de la Clínica Cardiovascular Santa María, Medellín, Colombia, 2009-2010. Infectio [Internet]. 2011 [cited 2019 Jan 23];15(1):14–9. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-93922011000100003&script=sci_arttext&tlng=en

27. Sánchez Artigas R, Bascó Fuentes EL, Miranda Cruz A, Sánchez Cruz L, Cobos Valdés D, Miranda Bazán MB. Assessment of exposure and endemicity of Toxoplasma gondii among blood donors from the province of Holguín, Cuba. Rev Cuba Investig Biomédica [Internet]. 2016 [cited 2019 Jan 23];35(2):112–8. Available from: <http://scielo.sld.cu>

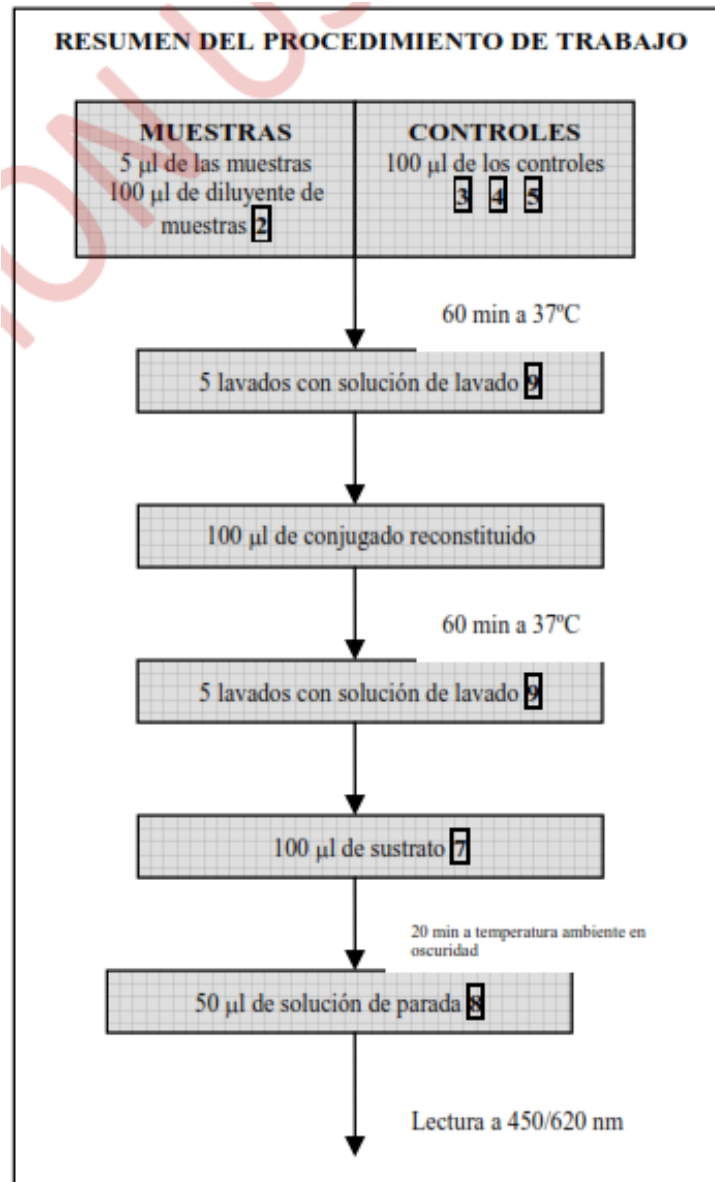
28. Sánchez Artigas R, Góngora Amores W, Goya Batista Y, Miranda Cruz antonio,

- Cobos Valdés D, Cubeñas Vega G, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in blood donors from the province of Guantánamo. *Rev Cuba Plantas Med* [Internet]. 2012 [cited 2019 Jan 23];31(1):101–7. Available from: <http://scielo.sld.cu>
29. Martín-Hernández I, García-Izquierdo SM, . Prevalencia de anticuerpos IgG contra *Toxoplasma gondii* en donantes de sangre cubanos. *Rev Biomed* [Internet]. 2003 [cited 2019 Jan 23];14:247–51. Available from: <http://www.uady.mx/sitios/biomedic/revbiomed/pdf/rb031445.pdf>
 30. Grandía G. R, Entrena G. Á, Cruz H. J. Toxoplasmosis en *Felis catus*: etiología, epidemiología y enfermedad. *Rev Investig Vet del Perú* [Internet]. 2013 [cited 2018 Sep 16];24(2):131–49. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172013000200001&script=sci_arttext&tlng=en
 31. Agudelo-Gonzalez S, Murcia-Sanchez F, Salinas D, Osorio J. Infecciones oportunistas en pacientes con VIH en el hospital universitario de Neiva, Colombia. 2007-2012. *Infectio*. 2015 Apr;19(2):52–9.
 32. Villard O, Cimon B, L'Ollivier C, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, et al. Serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection: Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2019 Jan 23];84(1):22–33. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0732889315003302>
 33. Flegr J, Klapilová K, Kaňková Š. Toxoplasmosis can be a sexually transmitted infection with serious clinical consequences. Not all routes of infection are created equal. *Med Hypotheses* [Internet]. 2014 Sep [cited 2019 Apr 25];83(3):286–9.

Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24986706>

ANEXOS

Anexo 1. Flujograma de corrida de Elisa Toxoplasma IgG e IgM



Anexo 2. Insertos de toxoplasmosis IgG e IgM de la Marca vircell.

TOXOPLASMA ELISA IgM CAPTURE

Producto para diagnóstico *in vitro*

M1027: Prueba inmunoenzimática de captura para determinar anticuerpos IgM frente a *Toxoplasma gondii* en suero/plasma humano. 96 tests.

INTRODUCCIÓN:

Toxoplasma gondii es un protozoo parásito intracelular obligado de distribución mundial. Los humanos pueden adquirir la infección por ingestión de oocistos desde las heces de gato, o por ingestión de carne infectada, o bien por infección intrauterina, transfusión o trasplante de órganos. Aunque la mayor parte de las infecciones son asintomáticas, la enfermedad puede ser grave en inmunodeprimidos o en la infección congénita. En mujeres infectadas durante el primer trimestre del embarazo puede dar lugar a aborto espontáneo o provocar en el feto hidrocefalia. Cuando la enfermedad se adquiere más tarde en el embarazo la afección del feto suele ser menos importante.

Los anticuerpos IgM aparecen a los 5 días después de la infección y caen a niveles bajos o indetectables en semanas o meses en la mayor parte de los enfermos. Los anticuerpos IgG aparecen semanas después de la infección y persisten el resto de la vida.

FUNDAMENTO DEL MÉTODO:

Método de ELISA basado en la captura de IgM presente en la muestra por anticuerpos anti-IgM unidos a la superficie de poliestireno. Las inmunoglobulinas no unidas son eliminadas en el proceso de lavado. En un paso posterior el antígeno conjugado con peroxidasa reacciona con las IgM capturadas y el que no se une es eliminado por los lavados; el antígeno unido reacciona con el sustrato (TMB), para dar una reacción coloreada azul, que cambia a amarillo tras la adición de la solución de parada.

CARACTERÍSTICAS:

Todos los reactivos a excepción de la solución de lavado y el conjugado vienen listos para su uso. Las soluciones de dilución de muestras están coloreadas como ayuda a la realización de la técnica. No se precisa dilución previa de la muestra. Los pocillos son individuales, por lo que solo se consumen tantos pocillos como pruebas se van a realizar.

CONTENIDO DEL KIT:

- 1 VIRCELL IgM CAPTURE PLATE: 1 placa con 96 pocillos recubiertos con anticuerpo anti-IgM (μ específico).
- 2 VIRCELL SERUM DILUENT: 25 ml de diluyente para sueros: tampón fosfatos con estabilizante de proteínas, con Neolone y Bronidox y coloreado de azul. Listo para su uso.
- 3 VIRCELL IgM POSITIVE CONTROL: 1,5 ml de control positivo con Neolone y Bronidox. Listo para su uso.
- 4 VIRCELL IgM CUT OFF CONTROL: 1,5 ml de cut off con Neolone y Bronidox. Listo para su uso.
- 5 VIRCELL IgM NEGATIVE CONTROL: 1,5 ml de control negativo con Neolone y Bronidox. Listo para su uso.

6 VIRCELL TOXOPLASMA CONJUGATE: 5 viales de antígeno de *T. gondii* marcado con peroxidasa, liofilizado.

7 VIRCELL TMB SUBSTRATE SOLUTION: 15 ml de solución de sustrato: tetrametilbenzidina (TMB). Listo para su uso.

8 VIRCELL STOP REAGENT: 15 ml de solución de parada: ácido sulfúrico 0,5 M.

9 VIRCELL WASH BUFFER: 50 ml de solución de lavado (concentrado 20x): tampón fosfatos con Tween^R-20 y con Proclin 300.

10 VIRCELL TOXOPLASMA RECONSTITUTION SOLUTION: 17 ml de solución tamponada para la reconstitución del conjugado liofilizado. Contiene Neolone y Bronidox.

Conservar entre 2 y 8°C y comprobar la fecha de caducidad.

Material necesario no contenido en el kit:

- Pipeta de precisión para dispensar 5 y 100 μ l.
- Pipeta multicanal de precisión para dispensar 100 μ l.
- Lavador de placas de ELISA.
- Incubador/baño termostatzado.
- Espectrofotómetro de placas de ELISA con filtro de 450 nm y filtro de referencia de 620 nm.
- Agua destilada.
- Alternativamente procesador automático de ELISA.

CONSERVACIÓN:

Conservar entre 2 y 8°C. No utilizar los componentes del kit después de la fecha de caducidad. La caducidad indicada será válida siempre que los componentes se mantengan cerrados y conservados entre 2 y 8°C.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS COMPONENTES UNA VEZ ABIERTOS:

Componente	Estabilidad
Solución de lavado diluida (1x)	4 meses a 2-8°C
Conjugado reconstituido	1 mes a 2-8°C
Resto de componentes	Fecha indicada en envase a 2-8°C

ESTABILIDAD Y USO DE LOS REACTIVOS:

Usar todos los reactivos en condiciones asépticas para evitar contaminaciones microbianas.

No permitir el secado de la placa entre los lavados y la adición de los reactivos.

La solución de sustrato es fotosensible. Evitar la exposición directa a la luz y desechar si presenta coloración azul. La solución de sustrato no debe entrar en contacto con oxidantes como soluciones de hipoclorito ni con algunos metales. Evitar el contacto con partes metálicas o componentes metálicos de equipos o instrumentos sin antes haber comprobado su compatibilidad.

Utilizar solo la cantidad de solución de lavado, sustrato, diluyente de sueros y conjugado necesarias para la realización de la prueba. No devolver a los viales el exceso sobrante.

VIRCELL, S.L. no se responsabiliza de la inadecuada utilización de los reactivos contenidos en el kit.

RECOMENDACIONES Y PRECAUCIONES:

1. Este producto es solo para diagnóstico *in vitro* y está destinado al uso por personal sanitario cualificado.
2. Usar solo componentes del kit. No mezclar los componentes de diferentes kits o fabricantes. Solo las soluciones de lavado,

sustrato, parada y diluyente de sueros son compatibles con los equivalentes en otras referencias y lotes de ELISA CAPTURA VIRCELL.

3. Utilizar puntas de pipeta diferentes y limpias para cada fase del ensayo. Utilizar solo material limpio y preferentemente desechable.

4. No utilizar en caso de deterioro del envase.

5. No pipetear con la boca.

6. El diluyente para sueros, placa, conjugado, solución de reconstitución y controles de este equipo contienen material de origen animal. Los controles contienen además material de origen humano. Aunque los sueros control del equipo son sometidos a controles de ausencia de HBsAg y anticuerpos frente a VIH y de Hepatitis C, es necesario manejar los controles y muestras del paciente como potencialmente patógenos. El conjugado contiene antígeno inactivado, no obstante, debe manejarse con precaución. Ningún método actual puede asegurar por completo la ausencia de éstos u otros agentes infecciosos. Todo el material debe ser manipulado y desechado como potencialmente infeccioso. Observe la regulación local en materia de residuos clínicos.

7. Evitar el contacto de la solución de parada (ácido sulfúrico 0,5 M) con la piel o los ojos. En caso de contacto, lavar la zona inmediatamente con agua.

8. Proclin 300 está incluido como conservante en la solución de lavado. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. En caso de contacto con la piel lavar con agua y jabón abundantes. Para más información, solicite la hoja de seguridad del producto.

TOMA DE MUESTRA:

La sangre debe extraerse en condiciones asépticas mediante técnicas de venipuntura por personal experimentado. Se recomienda el uso de técnicas asépticas o estériles para evitar la contaminación de la muestra. Los sueros/plasmas deben mantenerse refrigerados entre 2 y 8°C si se van a procesar dentro de los 7 días siguientes a la toma, pero si el procesamiento se va a prolongar deben congelarse a -20°C, evitando las congelaciones y descongelaciones innecesarias. No utilizar muestras hiperlipémicas, hemolizadas o contaminadas. Las muestras que presenten partículas pueden ser clarificadas por centrifugación. Pueden utilizarse muestras de suero o plasma indistintamente.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS:

La solución de lavado es necesario prepararla con antelación a la realización de la prueba. Para ello completar hasta 1 litro con agua destilada un vial de 50 ml de solución de lavado concentrada (20x). Si aparecen cristales durante la conservación de la solución concentrada, calentar a 37°C antes de diluirlo. Una vez preparada conservar entre 2 y 8°C.

La solución de conjugado debe ser preparada al menos una hora antes de ser usada. Añadir 3 ml de solución de reconstitución [10] a un vial de conjugado liofilizado [6]. Dejar durante un minuto para permitir la rehidratación y mezclar vigorosamente mediante vortex. El conjugado reconstituido puede ser usado durante un mes si es almacenado entre 2-8°C.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO:

1. Ajustar una estufa/baño de agua a 37±1°C.

2. Sacar todos los reactivos 1 hora antes de la realización del test para que alcancen la temperatura ambiente, evitando sacar la placa del envase.

3. Agitar todos los componentes.

4. Sacar el número de pocillos [4] necesarios para el número de muestras que se van a procesar, más otros cuatro pocillos, uno para el control positivo, uno para el control negativo y dos para el suero cut off. Colocar el resto de los pocillos en el sobre y volver a cerrarlo.

5. Añadir 100 µl de diluyente de muestras [2] a todos los pocillos que se vayan a emplear, excepto a los de los controles. Añadir 5 µl de las muestras, 100 µl del control positivo [3], 100 µl del suero cut off [4] (en duplicado) y 100 µl del control negativo [5] en los pocillos correspondientes.

6. Tapar mediante lámina adhesiva e incubar en estufa/baño durante 60 minutos a 37±1°C.

7. Preparar la solución de conjugado según se indica en "Preparación de los reactivos".

8. Retirar la lámina adhesiva, aspirar el contenido de todos los pocillos y lavar cada uno de ellos 5 veces con 0,3 ml de solución de lavado [9], asegurándose que no quedan restos de solución de lavado.

9. Añadir inmediatamente 100 µl de conjugado reconstituido (preparado anteriormente) a todos los pocillos.

10. Tapar mediante lámina adhesiva e incubar en estufa/baño durante 60 minutos a 37±1°C.

11. Retirar la lámina adhesiva, aspirar el contenido de todos los pocillos y lavar cada uno de ellos 5 veces con 0,3 ml de solución de lavado [9], asegurándose que no quedan restos de solución de lavado.

12. Añadir inmediatamente 100 µl de solución de sustrato [7] a todos los pocillos.

13. Incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos, en la oscuridad.

14. Añadir inmediatamente 50 µl de solución de parada [8] a todos los pocillos.*

15. Valorar espectrofotométricamente a 450/620 nm, antes de 1 hora de acabado el ensayo.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO:

Cada lote se somete a control de calidad interno antes de su liberación asegurando el cumplimiento del protocolo de validación por el usuario mediante especificaciones más estrictas. Los resultados de control final de cada lote están disponibles.

La correlación del material de control se asegura mediante ensayos paralelos frente a paneles de sueros de referencia internamente validados.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN POR EL USUARIO:

Cada ensayo debe utilizar control positivo, negativo y cut off. Su utilización permite la validación de la prueba y el equipo.

Las densidades ópticas (D.O.) de los controles deben estar en los rangos siguientes. En caso contrario se desechará la prueba.

Control	D.O.
Control positivo	>0,9
Control negativo	<0,5
Control cut off	>0,55
	<1,5



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

Calcular la media de las D.O. del suero cut off.

Índice de anticuerpos=(D.O. de la muestra / media de D.O. del suero cut off) x 10

Índice	Interpretación
<9	Negativo
9-11	Dudoso
>11	Positivo

Las muestras con resultados dudosos deben ser vueltas a analizar y/o solicitar una nueva muestra para confirmación de los resultados.

Las muestras con índices inferiores a 9 se considera que no tienen anticuerpos específicos frente a *T. gondii* de tipo IgM.

Las muestras con índices superiores a 11 se considera que tienen anticuerpos específicos frente a *T. gondii* de tipo IgM.

LIMITACIONES DEL MÉTODO:

1. Este método está diseñado para ser utilizado con suero/plasma humano.
2. El uso de este kit requiere la cuidadosa lectura y comprensión del folleto de instrucciones. Es necesario seguir estrictamente el protocolo para obtener resultados fiables, en particular el correcto pipeteo de muestras y reactivos, lavados y tiempos de incubación.
3. Los resultados de las muestras deben ser valorados junto con la sintomatología clínica y otros procedimientos diagnósticos. El diagnóstico definitivo debe realizarse mediante técnicas de aislamiento.
4. El test no indica el lugar de la infección. No pretende sustituir al aislamiento.
5. La ausencia de un aumento significativo en el nivel de anticuerpos no excluye la posibilidad de infección.
6. Una respuesta IgM puede acompañar algunas veces a una reinfección.
7. En ocasiones niveles bajos de IgM podrían persistir durante más de 12 meses post-infección.
8. En pacientes inmunosuprimidos una respuesta negativa no excluye la presencia de infección. Se han descrito casos de reactivación de *T. gondii* adquirida en infecciones pasadas en estos pacientes.
9. La reactivación de infecciones latentes puede no dar una respuesta de anticuerpos IgM.
10. Los resultados de prestaciones incluidos corresponden a estudios comparativos con equipos de referencia comerciales en una muestra poblacional definida. Pueden encontrarse pequeñas variaciones en poblaciones diferentes o con equipos de referencia distintos.

PRESTACIONES:**• SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD:****TEST 1**

Se ensayaron 109 muestras de suero/plasma con TOXOPLASMA ELISA IgM CAPTURE frente a otro kit ELISA comercial. Se obtuvieron los siguientes resultados:

	Nº muestras	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
IgM	109	100	97
95% C.I.		92-100	88-99

C.I. Intervalo de confianza

Los valores indeterminados fueron excluidos de los cálculos finales.

Los resultados discrepantes se resolvieron mediante otro kit ELISA comercial.

TEST 2

Se ensayaron 84 muestras de suero/plasma con TOXOPLASMA ELISA IgM CAPTURE frente a otros kit ELISA comerciales. Se obtuvieron los siguientes resultados frente al consenso:

	Nº muestras	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
IgM	84	98	100
95% C.I.			

C.I. Intervalo de confianza

Los valores indeterminados fueron excluidos de los cálculos finales.

• PRECISIÓN INTRAENSAYO:

Se ensayaron 3 sueros pipeteados individualmente 10 veces cada uno en un único ensayo realizado por el mismo operador en condiciones de trabajo idénticas, obteniendo los resultados:

Suero	N	% C.V.
CP	10	2,39
CN	10	11,82
CO	10	2,88

C.V. Coeficiente de variación

• PRECISIÓN INTERENSAYO:

Se ensayaron 3 sueros pipeteados individualmente durante 5 días consecutivos y por 2 operadores diferentes, obteniendo los siguientes resultados:

Suero	N	% C.V.
CP	10	2,62
CN	10	9,32
CO	10	3,70

C.V. Coeficiente de variación

• REACCIÓN CRUZADA E INTERFERENCIAS:

Se ensayaron 8 muestras caracterizadas positivas frente a otros miembros del grupo sindrómico (virus Epstein-Barr, citomegalovirus (CMV), rubeola) y otros protozoos (Leishmania). Se realizó un ensayo IgM a 2 muestras caracterizadas positivas frente a factor reumatoide. Las muestras ensayadas dieron resultados negativos, demostrando la reacción específica del ensayo sin reacción cruzada o interferencias ocasionadas por los agentes descritos.

SÍMBOLOS UTILIZADOS EN EL PRODUCTO:

	Producto para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Fecha de caducidad
	Conservar entre x-y°C
	Contiene suficiente para <n> pruebas
	Lote
	Referencia (catálogo)
	Consultar instrucciones de uso
	<X> pocillos



TOXOPLASMA ELISA IgG

Producto para diagnóstico *in vitro*

G1027: Prueba inmunoenzimática indirecta para la detección y semicuantificación de anticuerpos IgG frente a *Toxoplasma gondii* en suero/plasma humano. 96 tests.

INTRODUCCIÓN:

Toxoplasma gondii es un protozoo parásito intracelular obligado de distribución mundial. Los humanos pueden adquirir la infección por ingestión de ooquistes desde las heces de gato o por ingestión de carne infectada o bien por infección intrauterina, transfusión o trasplante de órganos. Aunque la mayor parte de las infecciones son asintomáticas, la enfermedad puede ser grave en inmunodeprimidos o en la infección congénita. En mujeres infectadas durante el primer trimestre del embarazo puede dar lugar a aborto espontáneo o provocar en el feto hidrocefalia. Cuando la enfermedad se adquiere más tarde en el embarazo la afección del feto suele ser menos importante. Los anticuerpos IgM aparecen a los 5 días después de la infección y caen a niveles bajos o indetectables en semanas o meses en la mayor parte de los enfermos. Los anticuerpos IgG aparecen semanas después de la infección y persisten el resto de la vida. El ensayo con TOXOPLASMA ELISA IgG ha sido estandarizado frente al tercer patrón internacional de suero anti-Toxoplasma de la OMS utilizando un cut off de 10 U.I./ml.

FUNDAMENTO DEL MÉTODO:

Método de ELISA basado en la reacción de los anticuerpos de la muestra con el antígeno unido a la superficie de poliestireno. Las inmunoglobulinas no unidas por reacción con el antígeno son eliminadas en el proceso de lavado. En un paso posterior la globulina anti-humana reacciona con el complejo antígeno-anticuerpo, y la que no se une es eliminada por los lavados, la unida reacciona con el sustrato (TMB), para dar una reacción coloreada azul, que cambia a amarillo tras la adición de la solución de parada.

CARACTERÍSTICAS:

Todos los reactivos a excepción de la solución de lavado vienen listos para su uso.

Las soluciones de dilución de muestras y de conjugado están coloreadas como ayuda a la realización de la técnica.

No se precisa dilución previa de la muestra.

Los pocillos son individuales, por lo que solo se consumen tantos pocillos como pruebas se van a realizar.

CONTENIDO DEL KIT:

- 1 VIRCELL TOXOPLASMA PLATE: 1 placa con 96 pocillos recubiertos con antígeno de *T. gondii*, cepa RH (ATCC 50174).
- 2 VIRCELL SERUM DILUENT: 25 ml de diluyente para sueros: tampón fosfatos con estabilizante de proteínas, con Neolone y Bronidox y coloreado de azul. Listo para su uso.
- 3 VIRCELL IgG POSITIVE CONTROL: 500 µl de suero control positivo, conteniendo 200 U.I./ml de IgG anti-Toxoplasma, con Neolone y Bronidox.
- 4 VIRCELL IgG CUT OFF CONTROL: 500 µl de suero cut off, conteniendo 10 U.I./ml de IgG anti-Toxoplasma, con Neolone y Bronidox.

5 VIRCELL IgG NEGATIVE CONTROL: 500 µl de suero control negativo con Neolone y Bronidox.

6 VIRCELL IgG CONJUGATE: 15 ml de una dilución de globulina anti-IgG humana conjugada con peroxidasa, con Neolone y Bronidox y coloreada de naranja. Lista para su uso.

7 VIRCELL TMB SUBSTRATE SOLUTION: 15 ml de solución de sustrato: tetrametilbenzidina (TMB). Listo para su uso.

8 VIRCELL STOP REAGENT: 15 ml de solución de parada: ácido sulfúrico 0,5 M.

9 VIRCELL WASH BUFFER: 50 ml de solución de lavado (concentrado 20x): tampón fosfatos con Tween[®]-20 y con Proclin 300.

10 VIRCELL SEMIQUANTIFICATION SAMPLE CONTROL: 500 µl de control de semicuantificación, conteniendo entre 20 y 50 U.I./ml de IgG anti-Toxoplasma, con Neolone y Bronidox.

Conservar entre 2 y 8°C y comprobar la fecha de caducidad.

Material necesario no contenido en el kit:

- Pipeta de precisión para dispensar 5 y 100 µl.
- Pipeta multicanal de precisión para dispensar 100 µl.
- Lavador de placas de ELISA.
- Incubador/baño termostatzado.
- Espectrofotómetro de placas de ELISA con filtro de 450 nm y filtro de referencia de 620 nm.
- Agua destilada.
- Alternativamente procesador automático de ELISA.

CONSERVACIÓN:

Conservar entre 2 y 8°C. No utilizar los componentes del kit después de la fecha de caducidad. La caducidad indicada será válida siempre que los componentes se mantengan cerrados y conservados entre 2 y 8°C.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS COMPONENTES UNA VEZ ABIERTOS:

Componente	Estabilidad
Solución de lavado diluida (1x)	4 meses a 2-8°C
Resto de componentes	Fecha indicada en envase a 2-8°C

ESTABILIDAD Y USO DE LOS REACTIVOS:

Usar todos los reactivos en condiciones asépticas para evitar contaminaciones microbianas.

No permitir el secado de la placa entre los lavados y la adición de los reactivos.

La solución de sustrato es fotosensible. Evitar la exposición directa a la luz y desechar si presenta coloración azul. La solución de sustrato no debe entrar en contacto con oxidantes como soluciones de hipoclorito ni con algunos metales. Evitar el contacto con partes metálicas o componentes metálicos de equipos o instrumentos sin antes haber comprobado su compatibilidad.

Utilizar solo la cantidad de solución de lavado, sustrato, diluyente de sueros y conjugado necesarias para la realización de la prueba. No devolver a los viales el exceso sobrante.

VIRCELL, S.L. no se responsabiliza de la inadecuada utilización de los reactivos contenidos en el kit.

RECOMENDACIONES Y PRECAUCIONES:

1. Este producto es solo para diagnóstico *in vitro* y está destinado al uso por personal sanitario cualificado.
2. Usar solo componentes del kit. No mezclar los componentes de diferentes kits o fabricantes. Solo las soluciones de lavado,

sustrato, parada y diluyente de sueros son compatibles con los equivalentes en otras referencias y lotes de ELISA VIRCELL.

3. Utilizar puntas de pipeta diferentes y limpias para cada fase del ensayo. Utilizar solo material limpio y preferentemente desechable.

4. No utilizar en caso de deterioro del envase.

5. No pipetear con la boca.

6. El diluyente para sueros, placa, conjugados y controles de este equipo contienen material de origen animal. Los controles contienen además material de origen humano. Aunque los sueros control del equipo son sometidos a controles de ausencia de HBsAg y anticuerpos frente a VIH y Hepatitis C, es necesario manejar los controles y muestras del paciente como potencialmente patógenos. Los pocillos contienen antígeno inactivado, no obstante, deben manejarse con precaución. Ningún método actual puede asegurar por completo la ausencia de éstos u otros agentes infecciosos. Todo el material debe ser manipulado y desechado como potencialmente infeccioso. Observe la regulación local en materia de residuos clínicos.

7. Para la utilización del producto en sistemas automáticos de análisis se recomienda una evaluación previa. VIRCELL dispone de juegos de muestras para su ensayo en paralelo con el método manual. Estos juegos pueden ser solicitados con tal finalidad. Asimismo, es posible la consulta de un listado de sistemas automatizados aprobados para su utilización con la gama de productos ELISA VIRCELL.

8. Durante los períodos de incubación, un adecuado sellado de las placas con la lámina adhesiva que se suministra evita la desecación de la muestra y garantiza la repetitividad de la muestra.

9. Evitar el contacto de la solución de parada (ácido sulfúrico 0,5 M) con la piel o los ojos. En caso de contacto, lavar la zona inmediatamente con agua.

10. Proclin 300 está incluido como conservante en la solución de lavado. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. En caso de contacto con la piel lavar con agua y jabón abundantes. Para más información, solicite la hoja de seguridad del producto.

TOMA DE MUESTRA:

La sangre debe extraerse en condiciones asépticas mediante técnicas de venipuntura por personal experimentado. Se recomienda el uso de técnicas asépticas o estériles para evitar la contaminación de la muestra. Los sueros/plasmas deben mantenerse refrigerados entre 2 y 8°C si se van a procesar dentro de los 7 días siguientes a la toma, pero si el procesamiento se va a prolongar deben congelarse a -20°C, evitando las congelaciones y descongelaciones innecesarias. No utilizar muestras hiperlipémicas, hemolizadas o contaminadas. Las muestras que presenten partículas pueden ser clarificadas por centrifugación. Pueden utilizarse muestras de suero o plasma indistintamente.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS:

El único reactivo que es necesario preparar con antelación a la realización de la prueba es la solución de lavado. Para ello completar hasta 1 litro con agua destilada un vial de 50 ml de solución de lavado concentrada (20x). Si aparecen cristales durante la conservación de la solución concentrada, calentar a 37°C antes de diluirlo. Una vez preparada conservar entre 2 y 8°C.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO:

1. Ajustar una estufa/baño de agua a 37±1°C.

2. Sacar todos los reactivos 1 hora antes de la realización del test para que alcancen la temperatura ambiente, evitando sacar la placa del envase.

3. Agitar todos los componentes.

4. Sacar el número de pocillos [1] necesarios para el número de muestras que se van a procesar, más otros cuatro pocillos, uno para el control positivo, uno para el control negativo y dos para el suero cut off. Colocar el resto de los pocillos en el sobre y volver a cerrarlo.

5. Añadir 100 µl de diluyente de muestras [2] a todos los pocillos que se vayan a emplear. Añadir 5 µl de las muestras, 5 µl del control positivo [3], 5 µl del suero cut off [4] (en duplicado), y 5 µl del control negativo [5] en los pocillos correspondientes. En el caso de la realización manual del método, se agitará la placa en un agitador (2 minutos) para garantizar una mezcla homogénea de los reactivos. Si no es posible asegurar esta agitación, debe hacerse una predilución de la muestra en tubo o placa añadiendo el doble del volumen de diluyente de muestras [2] y de muestra. Homogenizar con la pipeta y trasvasar seguidamente 105 µl de cada muestra ya diluida a los pocillos [1].

6. Tapar mediante lámina adhesiva e incubar en estufa/baño durante 45 minutos a 37±1°C.

7. Retirar la lámina adhesiva, aspirar el contenido de todos los pocillos y lavar cada uno de ellos 5 veces con 0,3 ml de solución de lavado [9], asegurándose que no quedan restos de solución de lavado.

8. Añadir inmediatamente 100 µl de conjugado IgG [6] a todos los pocillos.

9. Tapar mediante lámina adhesiva e incubar en estufa/baño durante 30 min. a 37±1°C.

10. Retirar la lámina adhesiva, aspirar el contenido de todos los pocillos y lavar cada uno de ellos 5 veces con 0,3 ml de solución de lavado [9], asegurándose que no quedan restos de solución de lavado.

11. Añadir inmediatamente 100 µl de solución de sustrato [7] a todos los pocillos.

12. Incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos, en la oscuridad.

13. Añadir inmediatamente 50 µl de solución de parada [8] a todos los pocillos.

14. Valorar espectrofotométricamente a 450/620 nm, antes de 1 hora de acabado el ensayo.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO:

Cada lote se somete a control de calidad interno antes de su liberación asegurando el cumplimiento del protocolo de validación por el usuario mediante especificaciones más estrictas. Los resultados de control final de cada lote están disponibles.

La correlación del material de control se asegura mediante ensayos paralelos frente a paneles de sueros de referencia internamente validados.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN POR EL USUARIO:

Cada ensayo debe utilizar control positivo, negativo y cut off. Su utilización permite la validación de la prueba y el equipo. Las densidades ópticas (D.O.) de los controles deben estar en los rangos siguientes. En caso contrario se desechará la prueba.



Control	D.O.
Control positivo	>0,9
Control negativo	<0,5
Control cut off	>0,55
	<1,5

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

CUALITATIVO

Calcular la media de las D.O. del suero cut off.

Índice de anticuerpos= (D.O. de la muestra / media de D.O. del suero cut off) x10

Índice	Interpretación
<9	Negativo
9-11	Dudoso
>11	Positivo

Las muestras con resultados dudosos deben ser vueltas a analizar y/o solicitar una nueva muestra para confirmación de los resultados.

Las muestras con índices inferiores a 9 se considera que no tienen anticuerpos específicos frente a *T. gondii* de tipo IgG.

Las muestras con índices superiores a 11 se considera que tienen anticuerpos específicos frente a *T. gondii* de tipo IgG.

SEMICUANTITATIVO

Para estimar la concentración relativa de anticuerpos IgG específicos anti-Toxoplasma presentes en la muestra se podría dibujar una gráfica semilogarítmica. Por ejemplo, se podrían representar en un eje los logaritmos de las U.I./ml de cada control y en el otro la media de sus correspondientes D.O.. Para ello, sería necesario realizar el ensayo con los controles por duplicado. Se podría trazar una línea que uniera los dos puntos y que permitiría asignar un valor aproximado de U.I./ml a la muestra cuya D.O. se conoce.

En el kit se incluye un control de calibración con un contenido comprendido entre 20-50 U.I./ml. Los laboratorios deberían obtener el patrón internacional de la OMS para la validación interna de la técnica.

LIMITACIONES DEL MÉTODO:

1. Este método está diseñado para ser utilizado con suero/plasma humano.
2. El uso de este kit requiere la cuidadosa lectura y comprensión del folleto de instrucciones. Es necesario seguir estrictamente el protocolo para obtener resultados fiables, en particular el correcto pipeteo de muestras y reactivos, lavados y tiempos de incubación.
3. Los resultados de las muestras deben ser valorados junto con la sintomatología clínica y otros procedimientos diagnósticos. El diagnóstico definitivo debe realizarse mediante técnicas de aislamiento.
4. El test no indica el lugar de la infección. No pretende sustituir al aislamiento.
5. La ausencia de un aumento significativo en el nivel de anticuerpos no excluye la posibilidad de infección.
6. Las muestras recogidas muy pronto en el transcurso de una infección pueden no tener niveles detectables de IgG. En esos casos se recomienda realizar un ensayo para determinación de IgM u obtener una segunda muestra transcurridos entre 14 y 21 días, para ser ensayado en paralelo con la muestra original con el fin de determinar una seroconversión.

7. Los resultados obtenidos en la detección de IgG en neonatos deben ser interpretados con precaución, ya que las IgG maternas son transferidas pasivamente de la madre al feto antes del nacimiento. La determinación de IgM es mejor indicador de infección en niños menores de 6 meses.

8. Los resultados de determinación de anticuerpos de una muestra única no deben ser usados para el diagnóstico de una infección reciente. Se deben recoger muestras pareadas (aguda y convaleciente) para ser ensayadas paralelamente y determinar seroconversión o un incremento significativo en el nivel de anticuerpos.

9. Cuando el resultado de una muestra se quiere expresar en U.I./ml hay que tener en cuenta que el valor de los resultados medidos por encima del cut off no se relaciona con la cantidad de anticuerpos.

10. En pacientes inmunosuprimidos una respuesta negativa no excluye la presencia de infección. Se han descrito casos de reactivación de *T. gondii* adquirida en infecciones pasadas en estos pacientes.

11. Los resultados de prestaciones incluidos corresponden a estudios comparativos con equipos de referencia comerciales en una muestra poblacional definida. Pueden encontrarse pequeñas variaciones en poblaciones diferentes o con equipos de referencia distintos.

PRESTACIONES

• SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD:

Se ensayaron 79 muestras de suero/plasma con TOXOPLASMA ELISA IgG frente a otro equipo ELISA comercial, obteniendo los siguientes resultados:

	Nº muestras	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
IgG	79	98	100
95% C.I.		88-100	89-100

C.I. Intervalo de confianza

Los valores indeterminados fueron excluidos de los cálculos finales.

• PRECISIÓN INTRAENSAYO:

Se ensayaron 3 sueros pipeteados individualmente 10 veces cada uno en un único ensayo realizado por el mismo operador en condiciones de trabajo idénticas, obteniendo los resultados:

Suero	N	% C.V.
CP	10	1,90
CN	10	6,30
CO	10	3,41

C.V. Coeficiente de variación

• PRECISIÓN INTERENSAYO:

Se ensayaron 3 sueros pipeteados individualmente durante 5 días consecutivos y por 2 operadores diferentes, obteniendo los siguientes resultados:

Suero	N	% C.V.
CP	10	4,48
CN	10	11,57
CO	10	6,97

C.V. Coeficiente de variación



Vircell, S.L. Parque Tecnológico de la Salud, Avicena 8, 18016 Granada, España. Tel. +34 958 441 264 www.vircell.com

Anexo 3. Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

M.Cs. Teofanez Adolfo Díaz Ginéz

Este documento de consentimiento informado está dirigido a donantes del Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, durante julio a diciembre del 2019, y que se les invita a participar en la investigación **"Infección por *Toxoplasma gondii* y factores asociados en donantes del Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, julio a diciembre del 2019"**.

Este documento de Consentimiento Informado tiene dos partes:

PARTE I. INFORMACIÓN PARA LOS PARTICIPANTES

Introducción. Yo soy Teofanez Adolfo Díaz Ginéz, Tecnólogo Médico de profesión, especialidad en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica, y trabajo para el Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto. Estoy investigando la infección por el parásito *Toxoplasma* en donantes de sangre, una enfermedad parasitaria frecuente en nuestro país. Le voy a dar información e invitarle a participar de esta investigación. No tiene que decidir hoy si participar o no; antes de decidirse, puede hablar con alguien y sentirse cómodo(a). Puede que haya palabras que no entienda. Por favor, me interrumpe en cualquier momento para despejar sus dudas. Si más tarde tiene preguntas, puede volver a mí.

Propósito. La toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria que se transmite por el consumo de agua o alimentos contaminados, transfusión de sangre o tras placentaria. La infección genera fiebre, dolor y malestar, sin embargo, también puede no presentar síntomas. El parásito también puede permanecer latente por mucho tiempo, sin síntomas, y puede reactivarse cuando el sistema inmunológico sea perturbado. En las gestantes, también puede afectar al feto, produciendo aborto o daño en sus órganos de por vida. Sin embargo, no se conoce la frecuencia los donantes de sangre presentan la infección o qué características o situaciones determinan la infección en estas personas, los cuales constituyen la razón de nuestro estudio.

Tipo de intervención. Ésta investigación incluirá la recolección de una muestra de sangre venosa en una única vez.

Selección de participantes. Estamos invitando, al azar, a donantes del centro de Hemoterapia nivel II de Tarapoto.

Participación voluntaria. Su participación es totalmente voluntaria. Usted puede elegir participar o no, sin que se vea afectado todos los servicios que reciba de este centro de hemoterapia. Usted también puede cambiar de idea más tarde y dejar de participar aun cuando ya haya aceptado antes.

Procedimientos y protocolo

- A. **Procedimientos desconocidos.** Para la investigación de la infección por el parásito es necesario que nos permita coleccionar una muestra de sangre de su brazo. Serán 6 mL (se le mostrará un tubo de ensayo indicándole el volumen); el procedimiento es simple y no invasivo. Al finalizar la investigación sus muestras serán eliminadas. Asimismo se le realizará algunas preguntas personales.
- B. **Descripción del proceso.** Durante la investigación solo asistirá una vez al banco de sangre, la vez de la donación. Los resultados serán comunicados vía telefónica 30 días después de la toma de muestra sanguínea.

Efectos secundarios, riesgos y molestias. No presentará efectos adversos, debido a que no se le administrará ningún fármaco como parte de la investigación, tampoco implica algún riesgo para su salud. Sin embargo algunos pacientes podrían sentir una leve molestia en el momento de la punción cuando se tome la muestra de sangre. También es posible que experimente alguna molestia, debido al tiempo que tome hacerle algunas preguntas. De todas formas procuraremos sea breve y que no supere los cinco minutos.

Beneficios. Si Usted participa en esta investigación, tendrá la posibilidad de descartar la presencia de esta enfermedad, y con ello la oportunidad de tratarse y no transmitir la enfermedad al paciente que reciba su sangre. Puede que no haya mayor beneficio para Usted que, el expuesto anteriormente, pero es probable que su participación nos ayude a encontrar respuesta a la pregunta de investigación.

Incentivos. La investigación no ha considerado ningún incentivo económico si decide participar. No obstante, se le ofrece la realización de los análisis especiales gratuitos.

Confidencialidad. Nosotros no compartiremos su identidad, asimismo, la información que obtendremos será confidencial y solo los investigadores tendremos acceso a ella. Cualquier información acerca de Usted tendrá un número en vez de su nombre. Solo los investigadores sabrán cuál es su número y se mantendrá la información bajo llave.

4. Entrevista realizadas a los participantes.

Infección por *Toxoplasma gondii* y factores asociados en donantes del Banco de Sangre del Hospital II-2 Tarapoto, Perú, julio a diciembre del 2019

I. CARACTERÍSTICAS ASOCIADAS:				
▪ Lugar de procedencia:.....			▪ Teléfono :	
▪ Ocupación	☐ Casa	☐ Oficina	☐ Agricultor	☐ Salud ☐ Estudiante
	☐ Otro (especifique):			
▪ Edad (años)		Grupo etáreo (años)	☐ 18 a 29	☐ 30 a más
▪ Zona de residencia	☐ Sí	☐ No		
▪ Contacto con gatos	☐ Sí	☐ No		
▪ Contacto con perros	☐ Sí	☐ No		
▪ Contacto con animales domésticos	☐ Sí	☐ No		
▪ Contacto con animales silvestres	☐ Sí	☐ No	Toxo IgM	
▪ Consumo de agua no potable	☐ Sí	☐ No	Toxo IgG	
▪ Consume carnes crudas o mal cocidas	☐ Sí	☐ No		
▪ Consume vegetales crudos sin lavar	☐ Sí	☐ No		
▪ Contacto con tierra o arena	☐ Sí	☐ No		

5.- Aplicación de la entrevista



ANEXO 6. Procesamiento de toxoplasmosis IgG e IgM.



Anexo 7. Resultados de los controles positivos, negativos, cut-off y las muestras.

TOXOPLASMA IgM

MÉTODO : ELISA FECHA DE APERTURA : 07/11/2019
 LOTE : 18ETOXG103 FECHA DE VENCIMIENTO : 12/09/2020
 MARCA : VIRCELL CONTROLES : C. POSITIVO: > 0.9
 C. NEGATIVO: < 0.5
 C. CUTT OFF: 0.5 - 1.5

TABLA 1 CN: 0.181 CP:1.803 CUT OFF: 0.814 / 0.823

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CN (0.181)	5 (0.351)	13 (0.536)	21 (0.184)	29 (0.427)	37 (0.352)	45 (0.240)	53 (0.223)	61 (0.202)	69 (0.444)	77 (0.443)	85 (0.411)
B	CP (1.803)	6 (0.241)	14 (0.269)	22 (0.426)	30 (0.611)	38 (0.107)	46 (0.225)	54 (0.260)	62 (0.382)	70 (0.348)	78 (0.238)	86 (0.299)
D	CUT OFF (0.814)	7 (0.171)	15 (0.635)	23 (0.276)	31 (0.527)	39 (0.172)	47 (0.235)	55 (0.212)	63 (0.265)	71 (0.240)	79 (0.365)	87 (0.652)
D	CUT OFF (0.823)	8 (0.371)	16 (0.256)	24 (0.415)	32 (0.562)	40 (0.215)	48 (0.278)	56 (0.202)	64 (0.292)	72 (0.386)	80 (0.289)	88 (0.425)
E	1 (0.371)	9 (0.456)	17 (0.425)	25 (0.561)	33 (0.186)	41 (0.287)	49 (0.390)	57 (0.287)	65 (0.242)	73 (0.336)	81 (0.168)	89 (0.235)
F	2 (0.271)	10 (0.136)	18 (0.139)	26 (0.345)	34 (0.419)	42 (0.148)	50 (0.509)	58 (0.290)	66 (0.265)	74 (0.337)	82 (0.512)	90 (0.139)
G	3 (0.359)	11 (0.462)	19 (0.368)	27 (0.419)	35 (0.476)	43 (0.252)	51 (0.367)	59 (0.312)	67 (0.406)	75 (0.348)	83 (0.368)	91 (0.426)
H	4 (0.401)	12 (0.294)	20 (0.604)	28 (0.291)	36 (0.503)	44 (0.227)	52 (0.462)	60 (0.308)	68 (0.384)	76 (0.398)	84 (0.625)	92 (0.591)

PROFESIONAL QUE REALIZÓ EL EXAMEN: T.M. TEOFANEZ ADOLFO DIAZ GINEZ

PROFESIONAL QUE VALIDO EL EXAMEN: TEOFANEZ ADOLFO DIAZ GINEZ CTMP:8555

TOXOPLASMA IgG

MÉTODO	: ELISA	FECHA DE APERTURA	: 07/11/2019
LOTE	: 18ETOXC102	FECHA DE VENCIMIENTO	: 15/07/2020
MARCA	: VIRCELL	CONTROLES	: C. POSITIVO: > 0.9
			C. NEGATIVO: < 0.5
			C. CUTT OFF: 0.5 - 1.5

TABLA 2 CN: 0.050 CP: 2.860 CUTT OFF: 1.235 / 1.182

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CN (0.050)	5 (1.990)	13 (1.231)	21 (1.856)	29 (2.062)	37 (1.962)	45 (3.250)	53 (0.623)	61 (0.869)	69 (3.633)	77 (2.001)	85 (2.651)
B	CP (2.860)	6 (2.350)	14 (1.462)	22 (2.362)	30 (2.009)	38 (2.351)	46 (1.953)	54 (1.659)	62 (1.382)	70 (2.111)	78 (2.653)	86 (0.799)
D	CUT OFF (1.235)	7 (3.153)	15 (1.562)	23 (0.976)	31 (1.957)	39 (2.953)	47 (1.062)	55 (2.365)	63 (2.226)	71 (1.659)	79 (1.632)	87 (1.110)
D	CUT OFF (1.182)	8 (2.963)	16 (2.689)	24 (2.561)	32 (2.065)	40 (2.625)	48 (0.989)	56 (0.598)	64 (1.820)	72 (1.233)	80 (2.394)	88 (1.682)
E	1 (1.982)	9 (1.362)	17 (3.165)	25 (1.298)	33 (3.253)	41 (1.031)	49 (1.568)	57 (2.198)	65 (2.365)	73 (2.659)	81 (1.312)	89 (2.361)
F	2 (2.653)	10 (0.636)	18 (2.465)	26 (1.564)	34 (1.281)	42 (2.164)	50 (2.268)	58 (3.126)	66 (3.265)	74 (2.264)	82 (1.864)	90 (2.512)
G	3 (1.142)	11 (1.864)	19 (0.869)	27 (2.365)	3 (1.562)	43 (1.496)	51 (3.265)	59 (2.365)	67 (1.236)	75 (2.001)	83 (2.651)	91 (0.912)
H	4 (0.986)	12 (2.462)	20 (2.220)	28 (1.892)	36 (0.903)	44 (2.934)	52 (1.651)	60 (1.957)	68 (2.101)	76 (1.873)	84 (2.780)	92 (1.875)

PROFESIONAL QUE REALIZÓ EL EXAMEN: T.M. TEOFANEZ ADOLFO DIAZ GINEZ

PROFESIONAL QUE VALIDO EL EXAMEN: TEOFANEZ ADOLFO DIAZ GINEZ CTMP:8555

