

Artículo Original

Seroprevalencia de anticuerpos IgM e IgG anti-*Toxoplasma gondii* en pacientes con el Virus de Inmunodeficiencia Humana.

Seroprevalence of IgM and IgG anti-*Toxoplasma gondii* in patients with Human Immunodeficiency Virus.

Florez Luis¹, Paez Nohely¹, Valeri Lenin², Albarrán Benibelks^{1*}.

¹Laboratorio de Inmunología, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. ²Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes, Departamento de Laboratorio, Laboratorio de atención al paciente con VIH/SIDA. Mérida- República Bolivariana de Venezuela.

Recibido octubre 2012 - Aceptado diciembre 2012

RESUMEN

La toxoplasmosis es causada por el parásito *Toxoplasma gondii*. Constituye una grave y frecuente infección oportunista en pacientes con Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), estos pueden desarrollar complicaciones a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC). Actualmente en el estado Mérida se desconoce la prevalencia de la infección por este parásito en pacientes con VIH. Por ello se realizó la determinación de anticuerpos anti-*T. gondii* IgM e IgG en pacientes infectados con el VIH que son atendidos en el Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA). Mediante la técnica de ELISA fue estudiada la presencia de anticuerpos específicos contra el *T. gondii* en muestras de suero de 44 pacientes VIH positivos con edades entre 3 - 68 años. Los anticuerpos de tipo IgG anti-*T. gondii* fueron encontrados en el 68,2% de las personas estudiadas en edades productivas mientras que ninguna de ellas presentaron anticuerpos de tipo IgM. En vista a la alta prevalencia encontrada, se recomienda instaurar una pauta de profilaxis para evitar una toxoplasmosis, ya que existe una gran probabilidad de que ocurra una reactivación de la parasitosis en estos pacientes.

PALABRAS CLAVE

Toxoplasma gondii, VIH, subpoblación linfocitaria, carga viral.

ABSTRACT

Toxoplasmosis is caused by the parasite *Toxoplasma gondii*. It is a common and serious

opportunistic infection in patients with human immunodeficiency virus (HIV), these infections may produce complications at the Central Nervous System (CNS). Currently in Mérida the prevalence of this infection, caused by this parasite in HIV patients, is unknown. Therefore, the determination of anti-*T. gondii* IgM and IgG in patients infected with HIV who are treated at the "Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes" (IAHULA) has been carried out. By using the ELISA technique, the presence of specific antibodies against *T. gondii* in serum samples from 44 HIV-positive patients, aged between 3-68 years, was studied. The antibodies of IgG type *T. gondii* were found in 68.2% of working age people studied while none of them had IgM antibodies. Due to the high prevalence found, it is recommended to establish a prophylaxis pattern to prevent toxoplasmosis, since there is a great probability of parasite reactivation in these types of patients.

KEY WORDS

Toxoplasma gondii, HIV, lymphocyte subpopulations, viral load.

INTRODUCCIÓN

Toxoplasma gondii pertenece al Filum apicomplexa, es considerado como protozoario intracelular obligado que infecta a la mayoría de los animales de sangre caliente [1-3]. Se estima que un tercio de la población mundial está infectado con este parásito por lo que es considerada la zoonosis parasitaria con mayor prevalencia en el mundo [4-6].

T. gondii está asociado con abortos espontáneos, mortinatos, retraso del crecimiento intrauterino, partos prematuros, malformaciones congénitas como hidrocefalia, calcificación intracerebral y coriorretinitis [7]. Además, puede causar encefalitis o infecciones sistémicas en las personas inmunosuprimidas, en particular en aquellas infectadas con el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) / Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) [8].

En pacientes con VIH, las infecciones e infestaciones parasitarias pueden aumentar su morbimortalidad. En particular, *T. gondii* se encuentra en el 3-10% de los pacientes seropositivos para VIH en los Estados Unidos de América y en México, en Caracas en un 18,7%, aumentando este porcentaje hasta un 25-50% en África y Europa [9-11].

Entre el 10-50% de los pacientes infectados con el VIH y con serología positiva para *T. gondii*, desarrollan encefalitis toxoplásmica, con casi un 50% de secuelas neurológicas y cuya mortalidad se acerca al 20% [12].

Los pacientes con toxoplasmosis cerebral presentan estado mental alterado, confusión (70%), hemiparesia u otros signos de focalización (60%), cefalea (50%) y convulsiones (30%) [9]. El diagnóstico definitivo de esta enfermedad requiere la demostración directa de los taquizoitos de *T. gondii* en el tejido encefálico. El diagnóstico presuntivo se basa en los hallazgos clínicos y de imagenología, la serología y la respuesta a la terapia antitoxoplasma [13]. La identificación de anticuerpos anti-*T. gondii* es sugestivo de toxoplasmosis en SNC y en muchos casos es suficiente para iniciar el tratamiento.

La retinitis toxoplásmica, está frecuentemente asociada con lesiones cerebrales (en 30% de los casos), y es la segunda localización de la toxoplasmosis en pacientes con SIDA, se presenta como una retinitis necrotizante, con uno o varios focos blanquecinos o blanco amarillentos, de límites borrosos. La retina se encuentra engrosada, opaca y sus bordes no son granulares como los típicos de la retinitis por Citomegalovirus (CMV), sino homogéneos [14,15].

Como otras complicaciones de la infección por *T. gondii* se presenta el daño hipofisiario, miocardiopatías y neumonías; en esta última los pacientes presentan tos esporádica y disnea [9].

En Venezuela son escasos los trabajos publicados sobre la prevalencia de la infección por *T. gondii* en pacientes con VIH y en particular en el estado Mérida no ha sido reportada. Debido a la alta morbilidad y mortalidad por esta parasitosis y el riesgo de daño al SNC, se considera importante definir la prevalencia de anticuerpos IgM e IgG anti-*T. gondii*,

en pacientes infectados con el VIH que acuden al Programa Regional de atención al paciente con SIDA e infecciones de transmisión sexual (ITS) del estado Mérida.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población y muestra

Se seleccionaron de forma aleatoria 44 pacientes que acudieron al Laboratorio del Programa de Atención al Paciente con VIH/SIDA del IAHULA. Se aplicó un único criterio de selección el cual era que presentaran serología positiva para VIH, información que fue suministrada por el Laboratorio junto con la población de linfocitos T CD4, T CD8 y carga viral de cada uno de los pacientes.

Obtención de las muestras

Previo consentimiento informado, se realizó la toma de muestra a través de una punción venosa en el antebrazo de los pacientes a los cuales previamente se les realizó la asepsia correspondiente.

Una parte de la muestra fue centrifugada a 3000 rpm durante 10 minutos para la obtención de los sueros (tubos sin anticoagulante), los cuales fueron rotulados, identificados y conservados en alícuotas a -20 °C hasta el momento de su procesamiento. A cada uno de los sueros se le determinó anticuerpos IgM e IgG anti-*T. gondii* mediante la técnica ELISA, según las especificaciones del kit de la casa comercial (ACON, USA).

Otra parte de la muestra (tubos con anticoagulante) fue utilizada para realizar la subpoblación linfocitaria y la carga viral para VIH de los pacientes, estos ensayos fueron realizados en el Laboratorio del Programa de Atención al Paciente con VIH/SIDA del IAHULA, el cual nos suministró la información necesaria para llevar a cabo el presente estudio.

Determinación de anticuerpos IgM contra *T. gondii* (ELISA de inmunocaptura)

En la placa de ELISA se agregaron 100 µl de control positivo, control negativo, calibrador y muestras (previamente diluidas 1:21), por duplicado. Se incubó durante 30 minutos a 37°C y se lavó 5 veces con solución buffer de lavado diluido en una proporción 1:25. Posteriormente se agregó 100 µl de conjugado e incubó a 37°C por 30 min, luego se lavó 5 veces con solución buffer de lavado diluida y se agregaron 50 µl de sustrato A (Peróxido de hidrógeno) y 50 µl de sustrato B (Tetrametilbencidina) en cada pozo e incubó a 37°C por 10 min, finalmente se agregó 50 µl de solución de parada y se leyó en el lector de ELISA (BIO-STAT 747, USA) a 450/630 nm. La interpretación de los

resultados fue realizada calculando el valor índice según las especificaciones del kit considerándose como no reactivos aquellos que tenían valores por debajo $<0,9$, como reactivos, aquellos con valores $>1,1$ y equivocados aquellos que tenían valores entre $\leq 0,9$ y $\geq 1,1$. Cabe señalar que la sensibilidad y especificidad para este método establecido por la casa comercial es de $>99,9\%$ y $>99,0\%$, respectivamente.

Determinación de anticuerpos IgG contra *T. gondii* (ELISA indirecto)

En la placa de ELISA se agregaron 100 μ l de los calibradores y muestras (previamente diluidas 1:21), por duplicado. Se incubó durante 30 minutos a 37°C y se lavó 5 veces con solución buffer de lavado diluido en una proporción 1:25. Posteriormente se agregaron 100 μ l de conjugado e incubó a 37 °c por 30 min, luego se lavó 5 veces con solución buffer de lavado diluida se agregaron 50 μ l de sustrato A (Peróxido de hidrógeno) y 50 μ l de sustrato B (Tetrametilbencidina) en cada pozo e incubó a 37 °C por 10 min, finalmente se agregaron 50 μ l de solución de parada y se leyó en el lector de ELISA (BIO-STAT 747, USA) a 450/630 nm. La interpretación de los resultados fue realizada calculando el valor índice según las especificaciones del kit, tomando en cuenta los valores señalados en la determinación de anticuerpos de IgM.

Análisis estadístico

Fue aplicada la técnica estadística chi cuadrado de Pearson la cual permite determinar si existe relación entre pares de variables de tipo categóricas, para lo cual se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 11.0.

RESULTADOS

En el presente estudio el 68,2% de las personas estudiadas presentaron anticuerpos de tipo IgG anti-*T. gondii*, y ninguna de ellas anticuerpos de tipo IgM anti-*T. gondii* (Tabla 1).

TABLA 1

Presencia de *T. gondii* en la población estudiada.

Diagnóstico	Frecuencia de anticuerpos IgM anti- <i>T. gondii</i>	Porcentaje (%)	Frecuencia de anticuerpos IgG anti- <i>T. gondii</i>	Porcentaje (%)
Reactivo	0	0	30	68.18
No reactivo	44	100	14	31.82
TOTAL	44	100	44	100

Al considerar la distribución de anticuerpos de tipo IgG anti-*T. gondii* según el género se observó que el 47,7% de los pacientes eran masculinos y en el 20,5% eran femeninos (Tabla 2).

TABLA 2

Relación de IgG anti-*T. gondii* con respecto al género de los pacientes.

		IgG		Total
		Reactivo	No Reactivo	
Género	Masculino	Recuento 21	11	32
		% del total 47,7	25,0	72,7
	Femenino	Recuento 9	3	12
		% del total 20,5	6,8	27,3
Total		Recuento 30	14	44
		% del total 68,2	31,8	100,0

Tabla de contingencia Género * IgG

En relación a la edad se encontró que existe una relación estadísticamente demostrativa entre la edad y la presencia de anticuerpos IgG, con una significancia de 0,10 para el chi cuadrado de Pearson y con una significancia de 0,05 para la razón de verosimilitud (Tabla 3), es decir que la prevalencia de estos anticuerpos aumenta a medida que aumenta la edad.

TABLA 3

Seroprevalencia de anticuerpos IgG anti-*T. gondii* en cuanto a la edad.

Edad		IgG		Total
		Reactivo	No Reactivo	
Entre 0 y 20 años	Recuento	2	1	3
	% del total	4,5	2,3	6,8
Entre 21 y 40 años	Recuento	14	12	26
	% del total	31,8	27,3	59,1
Entre 41 y 60 años	Recuento	13	1	14
	% del total	29,5	2,3	31,8
Entre 61 y 80 años	Recuento	1	0	1
	% del total	2,3	-	2,3
Total	Recuento	30	14	44
	% del total	68,2	31,8	100,0

Tabla de contingencia Edad * IgG

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6,862 ^a	3	0,076
Razón de verosimilitud	8,130	3	0,043
Asociación lineal por lineal	4,492	1	0,034
N de casos válidos	44	1	

a. 5 casillas (62,5%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 0,32

No se encontró asociación entre presencia de anticuerpos de tipo IgG anti-*T. gondii* y el número de linfocitos de tipo T CD4 y T CD8. Sin embargo se observó que la mayor seropositividad se encontraba en aquellos pacientes que tenían cuentas de Linfocitos T CD4 entre 100 a 300 células/mL y T CD8 entre 901-1200 células/mL. Tampoco se encontró correlación entre la presencia de anticuerpos de tipo IgG anti-*T. gondii*, con respecto a la carga viral, sin embargo se observó que el 54,5 % de los pacientes positivos poseían una carga viral baja (Datos no mostrados).

DISCUSIÓN

La toxoplasmosis es una enfermedad distribuida mundialmente que no distingue género, raza y distribución geográfica. Afecta al 30% de la población a nivel mundial, en particular en Venezuela la prevalencia de la infección por *T. gondii* es variable y ha sido encontrada en varios grupos urbanos y diversas comunidades de la siguiente manera: 31,8-61% en gestantes, 41,8-53,5% en personas de entre 0 y 60 años, 57,6-66,7% en niños menores de 15 años de edad, y 36,6% en sujetos entre ocho meses y los 76 años en las zonas marginales. En las zonas rurales, el 39% en personas entre 18 a 20 años y el 49,3% en los individuos entre 0 y 60 años [16,17]. En el presente estudio se evaluó la prevalencia de anticuerpos de tipo IgM e IgG anti- *T. gondii* en pacientes con VIH, encontrando una alta prevalencia de IgG y ningún caso seropositivo a anticuerpos IgM anti-*T. gondii* (Tabla 1), al igual que Martín y col [10]. Llama la atención que la prevalencia en esta población del estado Mérida fue de 68,18% a diferencia de lo reportado por Franco [11] en la ciudad de Caracas (18,7%), lo que indica que esta zoonosis es endémica en esta región, tal como se reporta en el 2007 donde la prevalencia de esta parasitosis fue de 39,8% en la población general encontrándose una mayor distribución en el Municipio Libertador [18].

Al igual que Caparroz y col. [19], se encontró que el 47,7% de la mayor población en estudio pertenecían al género masculino (Tabla 1), y es aquí donde se encuentra una mayor proporción de anticuerpos de tipo IgG anti- *T. gondii*, lo cual podría representar un riesgo a sufrir toxoplasmosis en el futuro. Es importante destacar que esta observación también pudo ser afectada debido a que la muestra no fue seleccionada de manera homogénea.

En cuanto a la edad se observó que la mayor proporción de personas con VIH se encontraban en edad productiva (Tabla 2) lo cual concuerda con lo reportado por el programa regional de VIH/SIDA en el estado Mérida [20]. Al comparar esta misma variable con la presencia de anticuerpos de tipo IgG anti-*T. gondii*, se encontró que la prevalencia de estos anticuerpos aumenta a medida que aumenta la edad (tabla 3), al igual que lo reportado por Díaz y Estevez [21], quienes encuentran una asociación entre el nivel socioeconómico bajo y una alta prevalencia. Sin embargo, no se dispusieron de datos sobre los niveles socioeconómicos de los pacientes por lo que solo se puede inferir que esta alta prevalencia pudiera estar asociada a malos hábitos higiénicos y alimenticios de la población.

No encontramos una relación en cuanto a presencia de anticuerpos y el número de células T CD4. Sin embargo Vidal y col [22], mencionan que la presencia de serología positiva para *T. gondii* y un recuento bajo de células T CD4 aumentan las posibilidades de padecer toxoplasmosis cerebral. Una de las limitaciones de este estudio fue no contar con datos clínicos que nos indicaran la presencia de toxoplasmosis cerebral, para poder realizar una correlación con la clínica y presencia de anticuerpos. Debido a esta limitante solo se puede decir que la presencia de anticuerpos anti- *T. gondii* fue independiente a la carga viral, a diferencia de lo descrito por Sánchez y col [23] que reportaron un caso clínico de un paciente con toxoplasmosis cerebral con una carga viral de 301,258 copias/mL.

CONCLUSIONES

La seroprevalencia de la infección por *T. gondii* en pacientes que acuden al Programa Regional de atención al paciente con SIDA e ITS del estado Mérida es alta. Por lo tanto estos pacientes podrían tener un mayor riesgo de desarrollar una toxoplasmosis, por consiguiente es necesario implementar medidas profilácticas para evitar la progresión de la enfermedad. Finalmente se recomienda llevar a cabo la determinación rutinaria de anticuerpos específicos contra *T. gondii* en los protocolos de diagnóstico en pacientes con HIV.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Radke J, Behnke M, Mackey A, Radke J, Roos D, White M. The transcriptome of *Toxoplasma gondii*. BMC Biol. 2005; 3:26.
- [2] Skariah S, McIntyre M, Mordue D. *Toxoplasma gondii*: determinants of tachyzoite to bradyzoite conversion. Parasitol Res. 2010; 107 (2): 253-260.
- [3] Blader I, Saeij J. Communication between *Toxoplasma gondii* and its host: impact on parasite growth, development, immune evasion, and virulence. APMIS. 2009; 117 (5-6): 458-476.
- [4] Hegab S, Al-Mutawa S. Immunopathogenesis of Toxoplasmosis. Clin Exp Med. 2003; 3 (2): 84-105.
- [5] Meeburg G, Kijlstra, A. Changing Climate- Changing Pathogens: *Toxoplasma gondii* in North-Western Europe. Parasitol Res. 2009; 105 (1): 17-24.
- [6] Weiss L, Dubey J. Toxoplasmosis: a history of clinical observations. Int J Parasitol. 2009; 39(8): 895-901.
- [7] Sarkar M, Anuradha B, Sharma N, Roy R. Seropositivity of toxoplasmosis in antenatal women with bad obstetric history in a tertiary-care hospital of Andhra Pradesh, India. J Health Popul Nutr. 2012; 30 (1): 87-92.

- [8] Halonen S, Weiss L. *Toxoplasma gondii* Presentations at the 10th Workshops on opportunistic protists: 100 years and counting. Eukariotic cell. 2009; 8 (4): 437-440.
- [9] Andrade R., Lozada M. Infecciones parasitarias en el paciente infectado por el virus de la inmunodeficiencia humana: aspectos etiológicos, clínicos, diagnósticos, terapéuticos y profilaxis. Rev Soc Ven Microbiol. 2003; 23 (2): 169-174.
- [10] Martin I, Garcia S. Seroprevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en pacientes cubanos con la infección por el VIH. Biomed. 2004; 15 (4): 215-220.
- [11] Franco C, Ferver H, Sánchez L, Oletta J. Infecciones oportunistas en individuos VIH + hospitalizados. Hospital Vargas de Caracas. 2005-2006. CIMEL. 2008; 13 (2); 29-44.
- [12] Martin L, Sifuentes J. Infecciones oportunistas en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida: La historia en México a 20 años del inicio de la epidemia. Rev invest clín. 2004; 56 (2): 169-180.
- [13] Lizarazo J, Castro F, De Arco M, Chaves O, Peña Y. Infecciones oportunistas del sistema nervioso central en pacientes con VIH atendidos en el Hospital Universitario Erasmo Meoz, Cúcuta, 1995 – 2005. Infectio. 2006; 10 (4): 226-231.
- [14] Korber B, Muldoon M, Theiler J, Gao F, Gupta R, Lapedes A, et. al. Timing the ancestor of the HIV-1 pandemic strains. Science. 2000; 288 (5472): 1789-1796.
- [15] Pivetti-Pezzi P, Accorinti M, Tamburi S, Ciapparoni V, Abdulaziz M. Clinical features of toxoplasmic retinochoroiditis in patients with acquired immunodeficiency syndrome. Ann Ophthalmol. 1994; 26 (3): 73-84.
- [16] Muñiz S, Mondragón R. *Toxoplasma gondii*, un patógeno asesino Re-emergente. REB. 2009; 28 (2): 52-58.
- [17] Díaz-Suárez O, Estevez J. Seroepidemiology of toxoplasmosis in women of childbearing age from a marginal community of Maracaibo, Venezuela. Rev Inst Med trop S Paulo. 2009; 51 (1): 13-17.
- [18] Contreras M, Escobar M. Estudio retrospectivo de la seroprevalencia de anticuerpos IgG e IgM anti-*Toxoplasma gondii* en el CAMIULA. Periodo 2002-2005. Trabajo especial de grado, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida – República Bolivariana de Venezuela. 2007.
- [19] Caparrosa L, Araujo J, Osuna E, Santis K, Valdez, Z, Bermudez A, et. al. Prevalencia de infecciones del SNC en pacientes VIH/SIDA en el FIRE y LCCE en Cartagena. CSV. 2009; 1 (1): 32-38.
- [20] Programa Regional VIH/SIDA estado Mérida. Estadísticas VIH/SIDA. Departamento de Epidemiología del I.A.HULA. 2002.1-10.
- [21] Díaz O, Estevez J. Seroepidemiology of toxoplasmosis in women of childbearing age from a marginal community of Maracaibo, Venezuela. Rev Inst Med Trop S Paulo. 2009; 51(1): 13-17.
- [22] Vidal J, Penealva A, Andrade N, Pereira B, Souza Z. Hallazgos tomográficos de la toxoplasmosis cerebral en pacientes brasileños con SIDA. Rev Panam Infectol 2004; 6 (1):12-16.
- [23] Sánchez J, Olmedo M, Pascua F, Casado I. Diabetes insipidus as a manifestation of cerebral toxoplasmosis in an AIDS patient. Rev Neurol. 2000; 30 (10): 939-940.