



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLÓGICO

TESINA DE GRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
LICENCIADA EN CIENCIAS DE LA SALUD
EN LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO.

TEMA:

“EFICACIA DE LA TÉCNICA DE ELECTROQUIMIOLUMINISCENCIA EN LA
DETECCIÓN TEMPRANA DE TOXOPLASMOSIS EN MUJERES GESTANTES
QUE ACUDEN AL HOSPITAL GENERAL ALFREDO NOBOA MONTENEGRO
DE LA CIUDAD DE GUARANDA EN EL PERÍODO COMPRENDIDO ENTRE
DICIEMBRE 2013 A MAYO DE 2014”

AUTORA

MAYRA ALEXANDRA YUMI REMACHE

TUTORA

LIC. MERCEDES BALLADARES

RIOBAMBA- ECUADOR

FEBRERO 2015

HOJA DE APROBACIÓN

El tribunal de defensa privada conformada por el Lic. Christian Silva presidente del tribunal; Lcda. Mercedes Balladares miembro del tribunal y la Lcda. Mary Alvear miembro del tribunal, certificamos que la señorita Mayra Alexandra Yumi Remache portadora de la cédula N° 060516155-3 , egresada de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Universidad Nacional de Chimborazo, se encuentra apta para el ejercicio académico de la defensa pública de la tesina previa a la obtención del título de licenciada en Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico con el tema de investigación: **"EFICACIA DE LA TÉCNICA DE ELECTROQUIMIOLUMINISCENCIA EN LA DETECCIÓN TEMPRANA DE TOXOPLASMOSIS EN MUJERES GESTANTES QUE ACUDEN AL HOSPITAL GENERAL ALFREDO NOBOA MONTENEGRO DE LA CIUDAD DE GUARANDA EN EL PERÍODO COMPRENDIDO ENTRE DICIEMBRE 2013 A MAYO DE 2014"**.

Una vez que ha sido realizado las revisiones periódicas y ediciones correspondientes a la tesina.



Lcda. Mercedes Balladares



Lic. Christian Silva



Lcda. Mary Alvear

ACEPTACIÓN DE LA TUTORA

Por medio de la presente, hago constar que he leído el protocolo del Proyecto de Tesina de Grado presentado por la señorita **Mayra Alexandra Yumi Remache** portadora de la cédula N° 060516155-3 para optar al título de **Licenciada en Laboratorio Clínico e Histopatológico**, y que acepto asesorar al estudiante en calidad de tutora, durante la etapa del desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.

Riobamba, 11 de Diciembre de 2013.



.....
Lic. Mercedes Balladares
Docente - Tutor

DERECHO DE AUTORÍA

Yo, **Mayra Alexandra Yumi Remache** portadora de la cédula de identidad N° 060516155-3, declaro que soy responsable de las ideas, resultados y propuestas planteadas en este trabajo investigativo y que el patrimonio intelectual del mismo, pertenece a la Universidad Nacional de Chimborazo.



.....
MAYRA ALEXANDRA YUMI REMACHE

CC. 060516155-3

DEDICATORIA

A mis padres: Vicente y Rosy pilares fundamentales en mi vida, dignos de ejemplo de trabajo y constancia, quienes me han brindado todo el apoyo necesario para alcanzar mis metas y sueños, y han estado allí cada día de mi vida, compartiendo los buenos y los malos ratos desde el día en que nací.

A mi familia: Hermanos, Abuelitos, Tíos y primos que tuvieron esa palabra de apoyo para mí durante mis estudios y eso se convirtió en mi motivación diaria para no decaer y nunca llegar a defraudarles.

Y a todas esas personas que creyeron en mí y que aportaron un grano de arena para mi superación como persona y profesional.

AGRADECIMIENTO

A DIOS, Ser Supremo que me dio la vida, la inteligencia, la fortaleza para hacer realidad mi objetivo propuesto.

A la Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad Ciencias de la Salud, Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico que fue mi segundo hogar donde recibí mi formación académica durante todos estos años.

A mis maestros que durante el tiempo de estudio tuvieron la paciencia y voluntad para brindar sus conocimientos de la manera más apropiada, formando así personas con conocimiento científico y valores éticos en el campo profesional y personal.

A mi tutora la Lcda. Mercedes Balladares, quien compartió sus conocimientos, experiencias y consejos que me ayudaron a mantener una visión firme en el logro de mi meta anhelada.

Y a todas las personas que me apoyaron día a día, quienes con sus consejos supieron guiarme y ayudarme a lograr mi sueño.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación pretende determinar la eficacia de la técnica de electro quimioluminiscencia en la detección temprana de toxoplasmosis en mujeres gestantes que acuden al control prenatal en el Hospital General Alfredo Noboa Montenegro de la ciudad de Guaranda en el periodo comprendido entre diciembre 2013 a mayo 2014. Además la siguiente investigación tiene como propósito conocer la reacción que produce el *Toxoplasma gondii* una vez que ingresa en el organismo del ser humano, así como poner al descubierto la presencia de anticuerpos *Anti-Toxoplasma gondii* (IgG) y anticuerpos *Anti-Toxoplasma gondii* (IgM) utilizando la técnica cualitativa de electroquimioluminiscencia, utilizando como muestras el suero y plasma sanguíneo de las pacientes que acuden al Hospital ya mencionado anteriormente, Y finalmente el análisis e interpretación de resultados, una vez puesta en práctica el procedimiento correcto para realizar el análisis de la detección de toxoplasmosis en 178 muestras previamente recolectadas en tubos de tapa roja, el 2% dieron como resultados positivos mientras que el 98% resultaron negativos, los mismo que constan en la investigación de campo, sistematizados en cuadros y gráficos, interpretados con la fundamentación teórica y datos empíricos.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CENTRO DE IDIOMAS

ABSTRACT

This research aims to determine the effectiveness of the electro Chemiluminescence technique in toxoplasmosis, early detection in pregnant women, attending prenatal check-up at the Alfredo Noboa Montenegro General Hospital in Guaranda City in the period between December 2013 to May 2014. in addition the following research aims to know the reaction that produces the *Toxoplasma gondii* once enters in the human being's body as well as to expose to the presence of anti-*Toxoplasma gondii* (IgG) and antibodies antitoxo Anti-*Toxoplasma gondii* (IgM) using the qualitative electro chemiluminescence technique, using serum and plasma as samples from patients attending in the Hospital already mentioned, and finally the analysis and interpretation of results, once it was implemented the correct procedure for the analysis of detection of toxoplasmosis in 178 samples previously collected in red capped tubes, 2% showed positive results while 98% were negative, the ones that are in the field research, systematized in charts and graphics, interpreted with the theoretical foundation and empirical data.

Translation Reviewed by
Elizabeth Diaz



ÍNDICE GENERAL

Portada.....	i
Hoja de aprobación	ii
Aceptación de la tutora.....	iii
Derecho de autoría.....	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Resumen.....	vii
Abstract.....	viii
Índice general.....	ix
Índice de figuras	xii
Índice de tablas	xii
Índice de gráficos	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	4
1. PROBLEMATIZACIÓN.	4
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	4
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	5
1.3. OBJETIVOS.	5
1.3.1. Objetivo general.	6
1.3.2. Objetivos específicos.	6
1.4. JUSTIFICACIÓN	6
CAPÍTULO II	8
2. MARCO TEÓRICO.	8
2.1. POSICIONAMIENTO PERSONAL.....	8
2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.	9
2.2.1. Toxoplasma <i>gondii</i>	9
2.2.1.1 Etiología.....	11
2.2.1.2 Epidemiología.....	12
2.2.2 Fuentes de infección.	15
2.2.3. Ciclo de vida del parásito.....	16
2.2.4 Gestación.	19
2.2.5 Transmisión transplacentaria.	20
2.2.6 Toxoplasmosis durante el embarazo.	21
2.2.6.1 Toxoplasmosis Congénita.	23

2.2.6.2	Toxoplasmosis durante las primeras 6 semanas de gestación.....	24
2.2.6.3	Toxoplasmosis durante el primer trimestre del embarazo.	25
2.2.6.4	Toxoplasmosis durante el segundo trimestre del embarazo.	25
2.2.6.5	Toxoplasmosis durante el tercer trimestre del embarazo.	25
2.2.7.	Patogenia.	25
2.2.8.	Inmunología.	26
2.2.8.1	Antígeno	29
2.2.8.2	Anticuerpo	29
2.2.8.3	Funciones de la inmunoglobulinas.....	29
2.2.8.3.1	Estructura de las inmunoglobulinas	30
2.2.8.3.2	Tipos de inmunoglobulinas.....	30
2.2.8.4	Reacción antígeno- anticuerpo.....	31
2.2.9.	Diagnóstico.	32
2.2.10.	Tratamiento y profilaxis.	33
2.2.11.	Técnica de toxoplasma IgM.....	36
2.2.11.1	Anticuerpos IgM contra el Toxoplasma gondii.	36
2.2.12.	Técnica de toxoplasma-IgG.	39
2.2.12.1	Anticuerpos IgG contra el Toxoplasma gondii.....	39
2.2.13.	El test Toxo IgG se emplea como test de cribado de primera línea	41
2.2.14.	Determinación paralela de Toxo IgG y Toxo IgM.	41
2.2.15.	Electroquimioluminiscencia.	42
2.2.15.1	Analizador cobas e411.....	43
2.2.15.2	Aplicación.	45
2.2.15.3	Determinación por Electroquimioluminiscencia (ECL).....	46
2.2.15.4	Identificación de Anti-Toxoplasma gondii IgG.....	46
2.2.15.5	Identificación de Anti-Toxoplasma gondii IgM.....	46
2.2.16.	Radioinmunoensayo.	47
2.2.16.1	Tipos de radioinmunoensayos.	47
2.2.16.1.1	RIA directo.....	47
2.2.16.1.2	RIA de inhibición (Usado cuando no se puede marcar el antígeno)	49
2.2.16.1.3	RIA de sandwich (IRMA).....	49
2.2.16.1.4	Unión no específica.	49
2.2.17.	Detección de IgG por la metodología de Western-blot.....	50
2.2.18.	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	50
2.3.	DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS	51
2.4.	HIPÓTESIS.....	52

2.5.	VARIABLES.	52
2.5.1	Variable independiente.	52
2.5.2	Variable dependiente.....	52
2.5.3	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.	53
CAPÍTULO III		54
3.	MARCO METODOLÓGICO.	54
3.1	MÉTODOS.	54
3.2	TIPO DE INVESTIGACIÓN.	54
3.3	DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.	54
3.4	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	55
3.4.1	Población.....	55
3.4.2	Muestra.	55
3.5.	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS.	55
3.6.	TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.	55
CAPÍTULO IV		56
4.	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.	56
4.1.	COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS.	61
CAPÍTULO V		63
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	63
5.1.	CONCLUSIONES.	63
5.2.	RECOMENDACIONES.	63
BIBLIOGRAFÍA.....		65
ANEXOS		68

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 2. 1	TOXOPLASMA GONDII.....	10
FIGURA N° 2. 2	CICLO EPIDEMIOLÓGICO PROPUESTO EN LA TOXOPLASMOSIS.....	18
FIGURA N° 2. 3	NIÑO CON TOXOPLASMOSIS, PRESENTA HIDROCEFALIA Y CAQUEXIA PROGRESIVA.....	21

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 4. 1	POBLACIÓN OBJETO DEL ESTUDIO POR EDADES.....	56
TABLA N° 4. 2	POBLACIÓN OBJETO DEL ESTUDIO POR PERÍODO DE GESTACIÓN.....	58
TABLA N° 4. 3	POBLACIÓN AFECTADA POR TOXOPLASMA GONDII.	59
TABLA N° 4. 4	POBLACIÓN AFECTADA POR TOXOPLASMA GONDII.	61

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 4. 1	REPRESENTACIÓN DE LA POBLACIÓN OBJETO DEL ESTUDIO POR EDADES.....	56
GRÁFICO N° 4. 2	REPRESENTACIÓN DE LA POBLACIÓN OBJETO DEL ESTUDIO POR PERÍODO DE GESTACIÓN.	58
GRÁFICO N° 4. 3	REPRESENTACIÓN DE LA POBLACIÓN AFECTADA POR TOXOPLASMA GONDII.....	59
GRÁFICO N° 4. 4	REPRESENTACIÓN DE LA POBLACIÓN AFECTADA POR TOXOPLASMA GONDII.....	61

INTRODUCCIÓN

A la mujer le corresponde la misión biológica, de traer al mundo la nueva vida, a través de la procreación durante el periodo de gestación. Este proceso reproductivo, no está exento de graves riesgos, incluso la muerte para ella o, que la futura vida no pueda generarse.

A las ciencias médicas le compete entonces, velar para que el proceso de creación, se realice adecuadamente; previniendo las enfermedades o tratándolas y además, realizando las investigaciones que permitan caracterizar, descubrir y aplicar todo lo que concierne para que el tiempo de gestación llegue a su culminación con felicidad.

Como afirman, Sánchez, Góngora, Yoga, Miranda y Cobos (2012), muchas infecciones pueden ser adquiridas por la madre durante el embarazo, algunas de las cuales son inaparentes y asintomáticas. La frecuencia varía, de acuerdo a las zonas geográficas y el contagio puede ser a través de la ingesta de alimentos o contacto con animales.

Entre las infecciones más frecuentes que causan complicaciones neonatales, se destacan la rubeola, herpes, citomegalovirus, sífilis y sida. Dentro de las parasitosis adquiridas durante el embarazo, la Toxoplasmosis representa un grave problema de morbilidad neonatal (Atías, 2006).

Según Becerril (2011), la infección de Toxoplasmosis puede persistir durante toda la vida del huésped sin ninguna complicación y habiendo sido adquirida por la madre durante el embarazo, la enfermedad puede ser inaparente, siendo los síntomas variables e inespecíficos, lo que dificulta su diagnóstico.

Para Botero y Restrepo (2010), la Toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria cuyo agente causal es el protozoo *Toxoplasma gondii* y se la adquiere por:

➤ El consumo de comidas o bebidas contaminadas con las excretas de los gatos,

- Por la ingesta de carne semicocida que contiene quistes tisulares,
- O a través de la placenta por infección activa de la madre al feto.

Se tiene que considerar que las amas de casa, tienen una prevalencia del 40,74% (Soria, 2012).

De acuerdo a las investigaciones de Gómez y Enrique (2010), informan que el diagnóstico etiológico de la Toxoplasmosis, se basa fundamentalmente, en la detección de anticuerpos IgG e IgM, específicos en suero.

La IgG aparece de una a tres semanas después de adquirida la infección y de tres a seis meses, alcanza su máximo nivel para luego descender y quedar a bajos niveles por el resto de la vida por lo que la determinación de anticuerpos IgG anti- *T. gondii* se utiliza para evaluar el estado serológico del parásito *Toxoplasma gondii* y para comprobar el estado de la infección; es decir, si es crónica o latente.

La detección de anticuerpos IgM anti- *T. gondii*, puede indicar la existencia de infección aguda, reciente o reactivada, por el parásito *T. gondii*. La IgM permanece detectable, entre 6 a 18 meses hasta uno o dos años después de la primera infección.

La mayor parte de los niños con infección congénita presentan: calcificaciones intracerebrales, hidrocefalia, microcefalia y ceguera. Después del nacimiento pueden no aparecer síntomas, pero con el tiempo se complica con graves secuelas como retardo mental y psicomotor, pérdida del oído y coriorretinitis; afirmación que según Botero y Restrepo (2010), cuanto más temprano se infecte la madre, mayor será el riesgo que sufrirá el feto.

Se han desarrollado muchas técnicas serológicas para la demostración de los anticuerpos, los cuales difieren en el tipo de antígeno que emplean, la reacción de Sabín y Feldman, la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y, la hemaglutinación indirecta (HAI).

Otros procedimientos utilizados son el Látex e Inmunoblotting. La técnica de inmunoensayo enzimático (ELISA), utilizando mezcla de antígenos recombinantes

logrando establecer diferencia entre mujeres embarazadas con infección aguda y aquellas que tuvieron infección previa (Becerril, 2011).

Según Roche (2011), actualmente se ha implementado el diagnóstico de Toxoplasmosis por la técnica de Electroquimioluminiscencia (ECL), la misma que tiene mayor sensibilidad y especificidad que las técnicas anteriores, utilizando un antígeno recombinado específico de *T. gondii* marcado con quelato de rutenio para formar un complejo sándwich.

CAPÍTULO I

1. PROBLEMATIZACIÓN.

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Nissapatorn, Suwanrath, Sawangjaroen, Ling y Chandeying (2011), informan que en estudios realizados en Tailandia la seroprevalencia para anti-Toxoplasma IgG es del 21,6%, para anticuerpos IgM es de 6,7%, los factores de riesgo asociados a Toxoplasmosis, fueron el aumento de la edad, la paridad, convivencia con gatos y la ingesta de agua sucia.

En España, evidenciaron una prevalencia del 31,9%, para toxoplasma IgG, 15 mujeres desarrollaron seroconversión durante el embarazo y de las mismas, 9 tuvieron niños con Toxoplasmosis congénita (Roc, et al.,2010).

En Bolivia, en el departamento de Santa Cruz de la Sierra, según Guzmán, Nuñez y Vargas (2009), las prevalencias reportadas se encuentran entre 57,6% y el 71,6% de las poblaciones urbanas y rurales respectivamente.

En el caso de Colombia, según González (2010), se ha demostrado que existe un impacto significativo en la morbilidad y mortalidad de los niños.

Es la segunda causa de ceguera congénita y se estima que afecta a 3.000 niños cada año y es la causa más frecuente de uveítis posterior que conlleva a la pérdida significativa de la visión.

El 42% de las infecciones por *Toxoplasma gondii*, se asoció con el contacto con gatos y el consumo de carne poco cocida.

En Quindío (Armenia) el 60% de mujeres gestantes fueron reactivas por IFI-IgG, 2,8% para IgM en 937 gestantes examinadas (Gomez, Ruiz y Pedro, 2009).

Según Atías (2006), en Chile, un estudio realizado en 76.317 personas aparentemente sanas, obtuvieron 29.124 casos positivos (36,9%) por el método de hemaglutinación indirecta.

En el caso de la República del Ecuador, un estudio realizado por Mayorga (2008), en mujeres embarazadas en la Maternidad Isidro Ayora de Quito, obtuvo una prevalencia de 71,4% de infección pasada.

Otro estudio realizado por González en 1987 en el mismo país citado por Mayorga (2008), demuestra una seroprevalencia humana de 40 a 50% en portadores sanos.

Específicamente y en particular, no existen evidencias de investigaciones de Toxoplasmosis en la provincia de Bolívar y el desconocimiento de esta enfermedad en la ciudad de Guaranda -ciudad con un alto número de mujeres embarazadas anualmente-, requiere y merece ser analizado en profundidad; mucho más, cuando esta es una enfermedad altamente peligrosa que se identifica como un problema significativo, razón por la cual se plantea esta investigación para determinar el porcentaje de casos positivos que se encuentran en esta ciudad.

Las graves secuelas que causa la infección de Toxoplasmosis, es de gran importancia que se realice la detección precoz de la misma a mujeres embarazadas que acuden a este nosocomio, garantizando así la salud del recién nacido.

Es muy común que por escasos recursos económicos, muchas de las pacientes no se realizan la prueba de detección de Toxoplasmosis rutinariamente, lo cual es perjudicial para los niños al nacer por los problemas que pueden presentarse.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

¿Por qué debemos determinar la eficacia de la técnica de electroquimioluminiscencia en la detección temprana de toxoplasmosis en mujeres gestantes que acuden al control prenatal en el Hospital General Alfredo Noboa Montenegro de la ciudad de Guaranda, provincia de Bolívar?

1.3. OBJETIVOS.

1.3.1. Objetivo general.

Determinar la eficacia de la técnica de Electroquimioluminiscencia en la detección temprana de toxoplasmosis en mujeres gestantes que acuden al control prenatal en el Hospital General Alfredo Noboa Montenegro de la ciudad de Guaranda, provincia de Bolívar.

1.3.2. Objetivos específicos.

- Conocer la reacción que produce el protozoo *Toxoplasma gondii* una vez que ingresa en el organismo del ser humano.
- Determinar la presencia de anticuerpos *Anti-Toxoplasma gondii* (IgG) y anticuerpos *Anti-Toxoplasma gondii* (IgM) utilizando la técnica cualitativa de electroquimioluminiscencia.
- Tabular los resultados obtenidos por el método de electroquimioluminiscencia con tablas de frecuencia en los grupos etarios de 15 a 44 años.

1.4. JUSTIFICACIÓN.

La Toxoplasmosis es una infección parasitaria frecuente causada por el protozoo *Toxoplasma gondii*. Las personas se infectan por la ingesta de bebidas o comidas contaminadas por el oocito que eliminan los gatos o por ingerir carne semicocida contaminada con quistes.

La madre puede contraer Toxoplasmosis durante el embarazo y el feto puede sufrir serias consecuencias, ya que el parásito es transmisible a través de la placenta. Cuanto más temprano contraiga la madre la infección, mayor será el riesgo de sufrir el feto severas manifestaciones clínicas.

Las prevalencias son diversas a nivel mundial y de Latinoamérica. En la República del Ecuador, pocos datos se conocen con respecto a la prevalencia de la Toxoplasmosis.

Los conocimientos que se tienen sobre esta enfermedad no son muy amplios sobre todo en nuestro medio, donde aún muchas mujeres gestantes, conviven con animales domésticos en precarias condiciones de higiene y realizan múltiples tareas agrícolas.

La toxoplasmosis es una enfermedad que a nivel mundial tiene una morbilidad y mortalidad elevadas, ocasionando secuelas graves en niños a quienes no se les diagnostica la infección por *T. gondii* oportunamente. Sin embargo si las mujeres son diagnosticadas y tratadas durante el embarazo, las secuelas en el feto disminuyen notablemente, pudiendo desarrollarse los niños casi normalmente.

La investigación propuesta, busca informar a toda mujer gestante seronegativa, sobre la importancia que tiene el lavado de las manos después de tener contacto con la tierra, poseer animales como gatos en su casa, y la importancia de no comer carne cruda, para evitar el contagio de toxoplasmosis y en consecuencia, las graves complicaciones para el futuro hijo.

En esta investigación, busca determinar la prevalencia de *Toxoplasma gondii* y los factores de riesgo asociados, en mujeres gestantes que acuden al control prenatal en el Hospital General Alfredo Noboa Montenegro de la ciudad de Guaranda.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.

2.1. POSICIONAMIENTO PERSONAL.

En la República del Ecuador, se conocen muy pocos datos sobre la prevalencia de infecciones causadas por Toxoplasmosis, que son los principales agentes parasitarios responsables de enfermedades neonatales. Por la alta tasa de natalidad de la ciudad de Guaranda, es necesario realizar un diagnóstico oportuno, con métodos altamente sensibles, de forma tal que se pueda establecer el tratamiento adecuado para prevenir las graves secuelas y complicaciones que pueden ocasionar en la población.

Por esta razón, es prioritario realizar un estudio inicial de prevalencia de esta patología en mujeres embarazadas y relacionar su presencia con posibles factores de riesgo en la mujer portadora de esta patología. En la práctica médica, la atención del control del embarazo con frecuencia consiste, en la realización de una historia clínica, diagnóstico sindrómico, exámenes de laboratorio básicos y una receta para su tratamiento; es decir, causa y efecto.

Frente a esta situación, el Estado Ecuatoriano a través del Ministerio de Salud Pública, ha considerado prioritario mejorar en los servicios del sector salud, el manejo integral del control de las embarazadas. Sin embargo, debido a la falta de técnicas accesibles por su complejidad y costos, el diagnóstico se ha limitado a valorar las manifestaciones clínicas encasilladas en síndromes.

Esta infección representa un problema de Salud Pública, ya que no a todas las embarazadas en los controles prenatales, se les realiza un diagnóstico serológico de Toxoplasmosis. Tomando en cuenta que afecta mayoritariamente en nuestro medio a personas de escasos recursos económicos, que carecen de una adecuada infraestructura sanitaria y que generalmente acuden a los controles a las unidades del Ministerio de Salud Pública donde los laboratorios en su mayoría, no realizan esta determinación.

No disponemos de estudios de prevalencia de Toxoplasmosis en la ciudad de Guaranda. Lo que sabemos es que muchos hogares conviven con gatos y que no todas las parroquias disponen de agua potable, lo que hace suponer que posiblemente la prevalencia sea alta.

De encontrar la presente investigación casos positivos, se propondrá a las autoridades de la jefatura provincial de salud, se implemente protocolos de atención donde se solicite este examen y se equipe a las unidades del Ministerio de Salud Pública (MSP) de la tecnología y reactivos necesarios para la realización del diagnóstico de Toxoplasmosis en el embarazo y de esta manera prevenir secuelas graves en los niños de la provincia.

2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.

2.2.1. *Toxoplasma gondii*.

Toxoplasma gondii es un parásito del intestino de los felinos, como lo precisan Botero y Restrepo (2010), nos indica que las formas infectantes salen en las materias fecales de estos animales. Son menos frecuentes las vías de transmisión parenteral, respiratorias, mucosa (conjuntival) y cutánea.

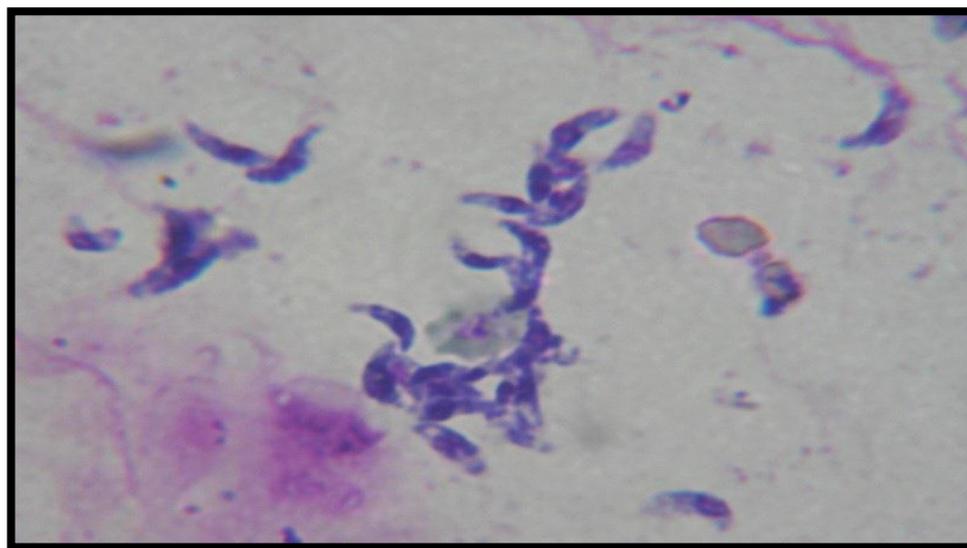
La transmisión por vía transplacentaria ocurre en las mujeres embarazadas cuando son afectadas por una infección primaria, aunque se han descrito casos raros de infección congénita en infecciones maternas anteriores al embarazo. Este parásito en forma de media luna se multiplica con rapidez e inicia la etapa aguda de la enfermedad. Subsecuentemente penetran a las células nerviosas, sobre todo del cerebro y del ojo, donde se multiplican lentamente, para formar quistes latentes en los tejidos e iniciar la etapa crónica de la enfermedad (BOTERO y RESTREPO, 2010).

Los quistes de los tejidos resultan infectantes cuando son ingeridos por gatos u otros animales, los organismos se desarrollan en las células intestinales del gato, así como durante un ciclo extra intestinal que implica su paso a los tejidos por medio del torrente sanguíneo. Los organismos del ciclo intestinal, son eliminados con las heces del animal y maduran en el medio ambiente externo para transformarse en ovoquistes infecciosos al cabo de 3 o 4 días.

Los ovoquistes pueden ser ingeridos por ratones y otros animales, incluyendo los humanos y producen una infección aguda o crónica de varios tejidos, entre los que figura el cerebro (LÓPEZ, 2012).

Los gatos contraen la infección al ingerir tejidos procedentes de roedores infectados. A partir del ovoquiste se desarrollan algunas formas infecciosas o trofozoitos, que aparecen como cuerpos semilunares delgados y se conocen como taquizoítos. Estas formas se multiplican con rapidez y son responsables tanto de la infección inicial como del daño tisular. Insectos como el mosquito al estar en contacto con las heces del animal pueden contribuir a la propagación de los ooquistes que también se encuentran en la defecación de estos animales, sin embargo estos ooquistes no son de inmediato infectantes, deben pasar por un proceso de diferenciación en la tierra que dura hasta tres semanas para después de este periodo poder mantenerse patógenos.

Figura N° 2. 1 TOXOPLASMA GONDII.



Fuente: Proyecto PAPIIME PE202112 (DGAPA-UNAM).

La Toxoplasmosis de acuerdo al criterio de Greene (2008), es una enfermedad parasitaria producida por el *Toxoplasma gondii*, protozoo intracelular obligado, de la subclase Coccidia que infecta a casi todas las especies animales de sangre caliente, incluido los humanos.

La Toxoplasmosis se halla difundida por todo el mundo, sin embargo parece ser más frecuente en Europa y ciertos países caribeños y sudamericanos que en Asia, los Estados Unidos y Australia.

El parásito fue descubierto en Túnez, en el año 1908 por Nicolle y Manceaux, en un roedor salvaje de origen africano, paralelamente en Brasil se lo halló en investigaciones realizadas en conejos; sin embargo, fue poco investigado, siendo estudiado y conocido 30 años más tarde. Recibió el nombre de *Toxoplasma* por el término griego que significa arco, debido a la forma de medialuna del parásito. La infección por *Toxoplasma gondii* en el recién nacido, se describió por vez primera en 1923 y el primer estudio clínico sobre la Toxoplasmosis congénita se publicó en los Estados Unidos en 1953, hacia 1975 se introdujo en Francia y Austria los programas de detección prenatal sistemática de la Toxoplasmosis congénita (BECERRIL, 2011).

La Toxoplasmosis se la ha encontrado en algunas especies de mamíferos domésticos y salvajes así como también en aves de corral y silvestres, el huésped final normal se restringe al gato y animales interrelacionados y son los causantes de infectar al hombre. Existiendo una mayor prevalencia en países tropicales y subtropicales especialmente en zonas cálidas húmedas de temperatura intermedia.

Los humanos se infectan por vía oral, al consumir carne cruda o mal cocida y al ingerir los oocitos esporulados de las heces de los gatos que pueden contaminar el agua y alimentos o por manipulación de las heces vía mano-boca. Se asocia con niveles socioeconómicos bajos, convivencia con animales domésticos, hábitos higiénicos inadecuados, infraestructura sanitaria deficiente (BARRIOS, PALMERO, RODRIGUEZ y RODRIGUEZ, 2008).

2.2.1.1 Etiología.

Toxoplasma gondii es un protozoo parásito, es la única especie conocida de *Toxoplasma*, corresponde al filum Apicomplexa, clase Sporozoa y familia Sarcocystidae. El mismo adopta diferentes estados según la fase de su desarrollo: 21

- Taquizoítos o trofozoitos,
- Seudoquistes o quistes tisulares,
- Ooquistes.

De acuerdo a lo indicado por Botero y Restrepo (2010), su nombre se deriva de la palabra griega “toxón”, que significa arco, por su morfología curva o de medialuna, en ocasiones se observa agregados intracelulares concentrados.

La forma infectante es el ooquiste que es casi esférico y mide de 10 a 12 micras. En su interior se forman los esporoquistes y encada uno de ellos hay 4 esporozoitos, los cuales se eliminan a través de las materias fecales de gatos que previamente han ingerido seudoquistes u ooquistes esporulados. El taquizoito o forma proliferativa, es un parásito extra epitelial, con un tamaño de 4-6 micras de longitud, por 2 a 3 de ancho; éstas, son células de pared delgada en forma de barco.

2.2.1.2 Epidemiología.

La toxoplasmosis está presente en todo el mundo. Dependiendo de la región, los hábitos higiénicos y las condiciones sanitarias. Alrededor del 50% de adultos en algún momento han resultado infectados. En gran parte, los casos tienen una presentación asintomática o los síntomas son muy leves, por lo cual la única manera de saber si se ha padecido la infección, es mediante un análisis de sangre que demuestre positividad para anticuerpos específicos de tipo IgG o IgM; a pesar de esto, el 59% de los médicos, nunca solicitan pruebas de laboratorio para detectar la toxoplasmosis en embarazadas (ALVARADO, SIFUENTES, ESTRADA, y ROJAS, 2011).

En personas mayores de 35 años, la prevalencia estimada alrededor del mundo es de 40% y 85%, sin embargo esta aumenta a 90% en zonas urbanas así como Londres y París. En Caracas Venezuela en un estudio realizado por Alarcón, Romero y Sánchez (2010), en 678 gestantes obtuvieron una prevalencia para toxo IgG del 38% y del 10% para toxo IgM. Según Cubillas, Maguiña, Saona, Chinga, & Llanos (2000), en su estudio realizado en Lima Perú, el 46,7% de mujeres embarazadas eran convivientes, el 36,9% casadas y el 16,4% solteras.

En países europeos como lo son Bélgica y Holanda se reporta valores positivos de más del 19% en adultos mayores de 30 años y 64% en la población de 20 a 22 años respectivamente y en Estados Unidos las cifras alcanzan un 67% en sujetos mayores de 50 años, en Albacete España la prevalencia encontrada para IgG fue del 21% y del 0,7% de casos con seroconversión (ÁLVAREZ, MARTÍNEZ, MORENO, LORENTE, y CRESPO, 2008).

Sin embargo la seroprevalencia es más alta (90%) alrededor de los 40 años de edad en América Central, Francia, Turquía y Brasil, lo mismo que se reporta en El Salvador y Haití (TORRES, J. 2007).

La zoonosis de mayor prevalencia mundial en población pediátrica oscila entre 0% a 71,43%. Sin embargo hay países en los que estas cifras varían, como ejemplos claros tenemos Italia (14,4% a 17%), África (12% a 71,4%), Francia 60%, España 12.2%.

En Latinoamérica se reportan cifras, 1,9% en México, Guatemala 24% a 43%, Cuba 27 a 57%, Brasil 32,4 a 48,8% (SÁNCHEZ, DÍAZ, GARCÍA, RALEIGH, y PALMA, 2008).

En estudio realizado en la Universidad de Parma Italia en 34 603 sueros, se detectaron 1 287 (3,7%) de Anti-Toxo IgM, en 7 328 (21,2%) sueros positivos para Anti-Toxo IgG (CALDERARO et al., 2009).

En Japón la prevalencia global para anticuerpos anti-toxoplasma fue del 10,3% y significativamente mayor en mujeres de edad superior a 35 años, la tasa de infección durante el embarazo se estimó en 0,25%. Una historia de consumo de carne cruda e higiene personal se identificó como factores de riesgo (SAKIKAWA, et al., 2012).

En estudios realizados en Nigeria, el 31% de muestras fueron positivas para IgG, no se hallaron positivos para IgM, pero el 69% de parturientas (2011), tenían riesgo de seroconversión y debían tener vigilancia serológica (BAMBA, SOME, CHEMLA, GEERS, GUIQUEMDE y VILLENA, 2012).

En Cuba estudios epidemiológicos realizados en donantes de sangre, permitieron estimar que el porcentaje de positividad para *T. gondii* para IgG fue del 47%, según resultados (SÁNCHEZ, G. et al., 2012).

En Chile se cuantificó el riesgo de infectarse con *Toxoplasma gondii* en sueros de mujeres embarazadas, concluyendo que el 43% de mujeres tenían ooquistes de anticuerpos específicos, afirmando que la principal fuente de infección era la carne contaminada (MUÑOZ, FRY, LESINA, y HILL, 2010).

En Quindío Armenia (Colombia) en estudio realizado en embarazadas por Gómez Ruiz y Pedro (2009), determina una prevalencia del 2,8% para Toxo IgM. Según Alarcón, Romero y Sánchez (2010), obtuvieron una prevalencia del 10% de Toxo IgM en gestantes.

La investigación realizada por Rangel, (2012) en Michoacán México reporta una prevalencia del 39% para Anti-Toxo IgM en embarazadas con abortos repetitivos.

De acuerdo a Torres (2007), en Valledupar (Colombia) encontraron positividad de toxoplasmosis en mujeres menores de 20 años y muchas de ellas fluctuaban las edades entre los 13 y 16 años con un porcentaje de positividad de 29,3%.

Además en este grupo se encuentran seis casos positivos de los cuales las edades fluctúan desde los 23 años a los 37 años. El 93,1% de casos positivos en el grupo de 24 mujeres que consumían carne bien cocida. Se encontró positividad en 8,35% en mujeres casadas y en unión libre el 78% para toxoplasmosis.

Guzmán y colaboradores (2009), su estudio determina que el riesgo de trasmisión se incrementa con el 71,70% en las personas que consumen carne poco cocida ya que podría haber mayor posibilidad de contacto con taquizoítos de *T. gondii*. En Armenia-Quindío existe un 42% de consumo de carne semicruda según (LÓPEZ, 2005).

Guzmán y et al., (2009), concluyen que en Santa Cruz de la Sierra (Cuba), no existe relación entre abortos previos y toxoplasmosis. Datos estadísticos obtenidos en investigaciones en nuestro país, nos indican las siguientes cifras:

- En las diferentes áreas geográficas de la República del Ecuador, la prevalencia de infección en seres humanos (IgG por inmunofluorescencia) es:
- ✓ Costa (Esmeraldas) 90.1%;
 - ✓ Sierra (Quito) 46.5%,
 - ✓ (Ambato) 21.6%,
 - ✓ (Azogues) 36.4%;
 - ✓ Oriente (Río Napo) 60.9%.

Estos resultados son obtenidos por González (1987), citado por Mayorga (2008). En Ecuador se demuestra una seroprevalencia humana de 40 a 50% de portadores sanos. Así en un estudio en mujeres en el primer trimestre de embarazo en la Maternidad Isidro Ayora (Quito), se encontró una prevalencia de 71,4% mediante el método de ELISA.

En la ciudad Quito, estudios realizados indican que la seroprevalencia positiva de toxoplasmosis en perros y gatos es del 7% y 46% respectivamente. La prevalencia de *Toxoplasma* en cerdos faenados en la provincia Loja es del 98.5% y en la provincia Imbabura del 86.5%. (TAMAYO, TAYUPANTA, TOBAR, VACACELA, VALLE y VASCONEZ, 2009).

2.2.2 Fuentes de infección.

Greene (2008), afirma que los tres medios de transmisión son la infección congénita, la ingesta de tejidos infectados y la ingesta de alimentos o agua contaminados con ooquistes. Comúnmente se cree que los animales de compañía son la fuente de infección más frecuente.

La realidad es que el medio por el cual ingresa el parásito a los humanos con mayor frecuencia son los alimentos contaminados: la carne poco cocida, las frutas y verduras mal lavadas. Un gran porcentaje de todas las carnes disponibles para consumo están contaminadas, también es viable la transmisión por medio de la manipulación de la carne contaminada con las manos, al llevarla a la boca (GREENE, 2008).

Por último el contagio puede producirse al trabajar la tierra con las manos, en este caso los trabajos de agricultura o de jardín serían un factor de riesgo para contraer la enfermedad, ya que una persona al manipular la tierra, lugar donde comúnmente suele habitar el parásito, puede introducir restos de tierra bajo las uñas. Es así que de no existir un lavado de manos con agua y jabón adecuado, pueden quedar restos de tierra en estas áreas y ser una fuente de contaminación. Otros modos menos importantes pueden ser la lactancia, la transfusión de líquidos corporales o el trasplante de tejidos u órganos. Para que un gato pueda producir heces infecciosas tiene que contagiarse, tiene que tener acceso al exterior, ser silvestre, ingerir carne cruda, o cazar aves y roedores, siendo la toxoplasmosis más prevalente en animales más aptos para cazar pequeños mamíferos y en gatos y perros que se alimentan con carne cruda (GREENE, 2008).

Una vez producida la infección, el parásito se incuba durante un periodo de entre 3 y 20 días, posteriormente y durante sólo un periodo de 1 mes, libera los ooquistes en las heces. Después, aunque se vuelva a infectar, nunca más los liberará. Para que las heces con ooquistes sean 26 infecciosas, necesitan un tiempo de exposición al medio ambiente de 24 y 48 horas. Es así que las personas que tienen gatos en casa frecuentemente limpian los areneros, la fuente de contagio puede darse si después de manipularlos no se cumplen las medidas de higiene necesarias. Los huéspedes intermediarios se contaminan por ingestión de ooquistes o quistes, luego de la ingestión los quistes u ooquistes liberan los parásitos por acción del jugo gástrico y comienzan a multiplicarse en las células epiteliales del intestino (BECERRIL, 2011).

2.2.3. Ciclo de vida del parásito.

El parásito *Toxoplasma gondii*, puede infectar a casi todas las especies de mamíferos y aves. El huésped principal es el gato; las demás especies 28 animales actúan como huéspedes intermediarios. Las heces de los gatos infectados contienen ovoquistes que esporulan al cabo de 1 a 3 días (según la temperatura ambiente) y pueden entonces infectar a los animales o las personas. Los ovoquistes esporulados se mantienen viables durante meses en el medio ambiente (GUZMÁN et al., 2009).

En el huésped intermediario, la infección por *Toxoplasma gondii*, provoca quistes tisulares que, según parece, se mantienen viables durante toda la vida del animal y pueden transmitirse a través de la cadena alimenticia, en forma de carne infectada a otros huéspedes. El ciclo vital del *Toxoplasma gondii*, consiste en 2 fases asexual y sexual, la asexual se desarrolla en los huéspedes intermedios como animales mamíferos, aves y humanos (DIAZ, ZAMBRANO, CHACON y ROCHA, 2010).

Al ser el gato y algunos felinos huéspedes definitivos de *Toxoplasma gondii*, en el íleon de estos se cumple el ciclo. En las células epiteliales se reproducen los taquizoítos por esquizogonias, formando esquizontes, merozoitos y posteriormente con la constitución de gametos.

Existen dos tipos de microgametos, un flagelado el cual es masculino y con la capacidad de fecundar al microgameto o parásito femenino, dando lugar a la reproducción sexuada en el intestino del animal, produciéndose el cigoto de donde se desarrollan los ooquistes que se encuentran en las materias fecales y constituirán las formas infectantes del parásito en condiciones naturales.

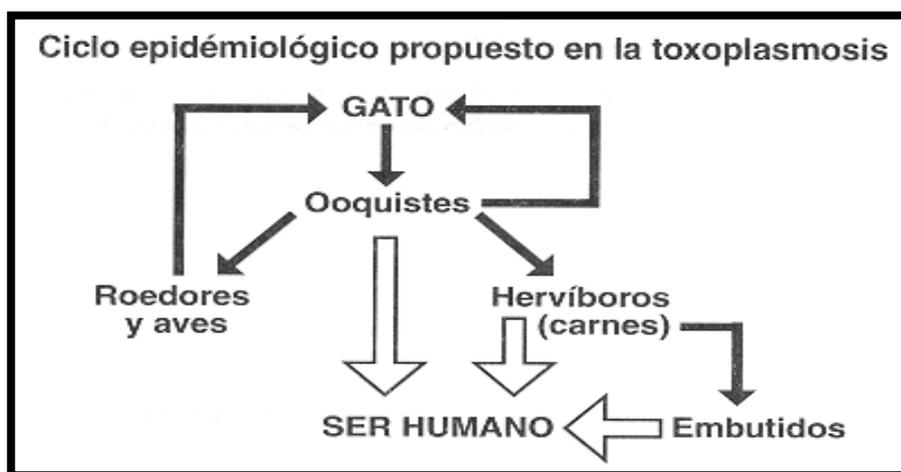
Es así que cada gato puede excretar alrededor 10 millones de ooquistes por día en un lapso de 15 a 25 días, sin embargo en condiciones ambientales adecuadas estos pueden esporular en el suelo y entonces su capacidad infectante persistirá hasta 18 meses, por debajo de 4 °C, o por encima de 37 °C, no se produce la esporulación y los quistes no son infecciosos

Después de 20 a 24 días de que el gato ingiere los ooquistes aparecen nuevas formas infectantes del parásito que salen en las materias fecales los ooquistes de *Toxoplasma gondii*, durante una a dos semanas, los 29 cuales esporulan de 1 a 5 días posteriores a la eliminación y permanecen viables por un periodo de 18 meses a 2 años. En el gato y otros felinos, además del ciclo entero epitelial, también pueden coexistir invasiones extra intestinales, pues los taquizoítos por vía linfática o sanguínea se diseminan a todos los órganos, principalmente el cerebro y músculos en donde se forman quistes (BOTERO y RESTREPO, 2010).

El hombre y los animales se infectan mediante la ingestión de ooquistes procedentes de las materias fecales del gato, aproximadamente a los 30 minutos de haber sido ingeridos se producen esporozoitos y causan una invasión extra intestinal, de esta manera se desarrolla un ciclo incompleto en los huéspedes intermediarios. Los esporozoitos atraviesan el epitelio intestinal y se distribuyen por todo el organismo y entran a las células por fagocitosis o por invasión activa del parásito.

Dentro de las células del huésped forman una vacuola parasitófora en donde se transforman en taquizoítos, llamados así porque son parásitos extra epiteliales que se multiplican rápidamente y se presentan en la infección aguda, son formas invasivas de división rápida, en las cuales se generan dos parásitos dentro de una célula madre, al ser parásitos intracelulares obligados no pueden perdurar mucho tiempo fuera de la célula, son capaces de invadir las células nucleadas y de sobrevivir en el interior de los macrófagos. Al aumentarse el número de parásitos intracelulares la célula se destruye y se inicia un nuevo proceso de invasión en las células vecinas, en un ciclo proliferativo. El parásito que se aloja en los tejidos forma un quiste tisular intracelular. Cuando el huésped desarrolla inmunidad la infección se hace crónica y se forman los quistes con los bradizoítos (BOTERO y RESTREPO, 2010).

Figura N° 2. 2 CICLO EPIDEMIOLÓGICO PROPUESTO EN LA TOXOPLASMOSIS.



Fuente: (CIET), Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, 2001

2.2.4 Gestación.

El embarazo o gravidez (de grávido, y este del latín gravidus) es el período que transcurre entre la implantación del cigoto en el útero, hasta el momento del parto en cuanto a los significativos cambios fisiológicos, metabólicos e incluso morfológicos que se producen en la mujer encaminados a proteger, nutrir y permitir el desarrollo del feto, como la interrupción de los ciclos menstruales, o el aumento del tamaño de las mamas para preparar la lactancia. El término gestación hace referencia a los procesos fisiológicos de crecimiento y desarrollo del feto en el interior del útero materno. En teoría, la gestación es del feto y el embarazo es de la mujer, aunque en la práctica muchas personas utilizan ambos términos como sinónimos.

En la especie humana las gestaciones suelen ser únicas, aunque pueden producirse embarazos múltiples. La aplicación de técnicas de reproducción asistida está haciendo aumentar la incidencia de embarazos múltiples en los países desarrollados.

El embarazo humano dura unas 40 semanas desde el primer día de la última menstruación o 38 desde la fecundación (aproximadamente unos 9 meses). El primer trimestre es el momento de mayor riesgo de aborto espontáneo; el inicio del tercer trimestre se considera el punto de viabilidad del feto (aquel a partir del cual puede sobrevivir extra útero sin soporte médico). La fecundación se produce por la unión del gameto femenino con el gameto masculino. Existe una polémica sobre cuando comienza el embarazo.

Para la Organización Mundial de la Salud (OMS) el embarazo comienza cuando termina la implantación del embrión en el útero, ya que, en muchos casos, el óvulo es fecundado pero no llega a implantarse y el embarazo no comienza. La implantación es un proceso que comienza unos 5 o 6 días después de la fecundación y que consiste en la adherencia del blastocito a la pared del útero, cuando el blastocito atraviesa el endometrio e invade el estroma, luego la superficie del epitelio se cierra y se completa el proceso de nidación, comenzando entonces el embarazo.

Cuando se trata de una Fecundación in vitro, el embrión es fecundado en un tubo de ensayo, se espera tres días y luego transferido al útero de la futura

mamá. En el momento de la nidación el embarazo comienza pero, en la mayoría de los casos, el embrión no se adhiere y la mujer no queda embarazada. (http://es.wikipedia.org/wiki/Embarazo_humano)

2.2.5 Transmisión transplacentaria.

La prevalencia de anticuerpos anti *Toxoplasma gondii* en las gestantes, determina el porcentaje de pacientes protegidas de una reinfección dentro de una población; Aquellas seronegativas, al no haber entrado en contacto con el parásito son susceptibles de adquirir la infección durante la gestación. El riesgo de Toxoplasmosis congénita está determinado por el riesgo de la infección materna durante el embarazo y su gravedad está de acuerdo a la edad gestacional en la que ocurra la infección en la madre (ROSSO, AGUDELO, ISAZA y MONTOYA, 2007).

El tiempo entre la infección de la placenta y el traspaso al feto varía, entre 4 y 16 semanas, es por esto que la placenta infectada es fuente de contagio durante todo el embarazo, llegando a una probabilidad de infección de entre 39% y 50% como analizan Diaz et al.(2010). El riesgo del daño dependerá en parte del momento de la infección ya que la mayor severidad se da en los primeros meses del embarazo, momento en el que el feto se encuentra en formación (DURLANCH, KAUFER, CARRAL y FREULE, 2008).

Después de cruzar la barrera placentaria llega a los tejidos embrionarios produciendo graves daños y secuelas en el feto, ocasionando inclusive su muerte, según informan (DIAZ et al., (2010).

Una vez dada la infección, investigadores recomiendan el aborto cuando la semana de gestación es menor a 16, después de este periodo se considera llevar un seguimiento y tratamiento adecuado. Las mujeres embarazadas constituyen el grupo de la población en el cual la adquisición de la Toxoplasmosis repercute en forma más notoria, debido al riesgo de transmisión para el hijo.

La posibilidad de adquirir una infección prenatal es del 15, 50 y 75% en los diferentes periodos del embarazo. La probabilidad de transmisión crece en un

12% por semana de gestación. El contagio en el momento del parto es de aproximadamente 40% (DURLANCH et al., 2008).

La infección en la madre es generalmente benigna e inclusive puede ser asintomática, si la misma fue adquirida 6 meses o antes de la gestación.

El niño no desarrolla infección congénita, pues las posibilidades de que una madre con antecedentes de haber tenido un hijo con Toxoplasmosis, son mínimas en su siguiente gesta ya que la transmisión congénita sólo se produce una sola vez en la vida; en vista que, la presencia de inmunidad antitoxoplasma en la madre antes del embarazo, impide el paso transplacentaria del parásito si hay reinfección (BECERRIL, 2011).

Figura N° 2.3 NIÑO CON TOXOPLASMOIS, PRESENTA HIDROCEFALIA Y CAQUEXIA PROGRESIVA.



Fuente: An Pediatr (Barc). 2013.

2.2.6 Toxoplasmosis durante el embarazo.

Como afirma Diaz et al. (2010), la Toxoplasmosis es una enfermedad infecto contagiosa, que puede producir manifestaciones clínicas en los recién nacidos, las cuales van desde la típica tétrada de Sabin (coriorretinitis, hidrocefalia, calcificaciones y retardo psicomotor).

Entre el 80% y el 90% de los casos según lo precisado por Canales et al.(2010), la infección por *Toxoplasma gondii*, es asintomática, de ahí la importancia de la detección sistémica en el embarazo. En el 10% o 20% restante

de los casos, los pacientes presentan fiebre, adenopatías (generalmente cervicales) y malestar general.

Rara vez la Toxoplasmosis se manifiesta por hepatitis, encefalitis o miocarditis, el riesgo de transmisión congénita es del 65% de los fetos cuyas madres tuvieron la infección en el último trimestre. La enfermedad suele ser más grave en los pacientes inmunodeprimidos; se asocia fácilmente con el síndrome de inmunodeficiencia humana (HIV), en la actualidad es una patología de gran impacto en la población con compromiso orgánico múltiple y altas tasas de mortalidad.

En la biometría hemática es frecuente la linfocitosis y la presencia de linfocitos atípicos, por lo que se necesita hacer diagnóstico diferencial con infecciones de tipo virales. En pacientes inmunosuprimidas, pueden darse enfermedades pulmonares o del sistema nervioso central (BOTERO y RESTREPO, 2010).

Si la infección ocurre al final del embarazo, los recién nacidos tienen gran probabilidad de nacer prematuros y de bajo peso, presentándose sintomatología del cuadro agudo. Alrededor del 80% de ellos tienen líquido cefalorraquídeo (LCR) normal, no se presenta exantema, pero si existe compromiso neurológico y ocular en un 8%. Sin embargo es muy importante aplicar tratamiento ya que la mortalidad puede llegar al 12 % si este no se da adecuadamente (BOTERO y RESTREPO, 2010).

Investigaciones desarrolladas por Durlanch et al. (2008), la enfermedad en el niño se manifiesta en la vida intrauterina o después del nacimiento. El compromiso de quien presenta la infección varía de acuerdo al grado de lesión. Los síntomas en el recién nacido aparecen entre las 3 semanas y los 3 meses de vida del niño e incluso pueden manifestarse años después de nacer de acuerdo a (REMGINGTON, MCLEOD y DESMONTS, 2001).

Afirman Botero y Restrepo (2010), que las infecciones fetales en la mitad del embarazo, pueden producir apatía, dificultad para comer y convulsiones ya que se puede dar encefalitis en los recién nacidos. La retinocoroiditis es una secuela importante de la Toxoplasmosis subclínica, se encuentra en un 75% de los casos con lesiones oculares a los 11 años después del nacimiento según lo indicado por

Botero y Restrepo, (2010), en los casos graves es común encontrar al recién nacido con hidrocefalia. (BOTERO y RESTREPO, 2010).

En las infecciones al inicio del embarazo cuando se está formando la placenta, el parásito pasa al feto y desarrolla la enfermedad en la vida intrauterina. Las manifestaciones pueden ser leves o presentarse lesiones más graves pero con manifestaciones tardías, como epilepsia, retardo neurosiquico, calcificaciones cerebrales, encefalitis, hepatitis y miocarditis. En casos más severos se presenta estrabismo, catarata, glaucoma macrocefalia y microcefalia (BOTERO y RESTREPO, 2010).

2.2.6.1 Toxoplasmosis Congénita.

El contagio de la Toxoplasmosis congénita se produce cuando una embarazada se contamina con *Toxoplasma gondii* y transmite la infección al feto. Se ha descrito en algunos casos aislados que la madre se contagia uno o dos meses antes de la concepción, por lo general se admite que las mujeres infectadas con anterioridad al embarazo no transmiten la infección al feto como analiza (GILBERT, 2000).

El diagnóstico temprano de la infección en las mujeres embarazadas permite un tratamiento oportuno y se indica con el propósito de reducir la tasa de trasmisión y el daño congénito (DURLANCH et al.,2008).

Se desconoce el tiempo exacto que transcurre entre la infección materna y la transmisión al feto a través de la placenta, pero se calcula que puede ser de varias semanas. Sin tratamiento, la transmisión materno-fetal se produce en un 15% de los casos durante el primer trimestre del embarazo, pero esta frecuencia aumenta hasta el 75% o más durante el tercer trimestre, de acuerdo a lo analizado por (ESTRADA,T y GÓMEZ (2010).

Quienes además han puesto de manifiesto que hasta un 85% de los niños afectados de Toxoplasmosis congénita presentan alguna lesión ocular a los 20 años, esta cifra puede disminuirse hasta en 5 a 15%, si en el primer año de vida se instaura un tratamiento adecuado (GILBERT, BUFFOLANO, PETERSEN, FOULON y SEMPRINE, 2000).

Cuando la infección se adquiere por primera vez durante el embarazo, esta puede traer consecuencias graves para el feto, como hidrocefalia, microcefalia, calcificaciones cerebrales, coriorretinitis o inclusive, terminar en un aborto, dependiendo de la fecha en que la madre se infectó. Por esto, es importante detectar las infecciones recientes en el curso del control prenatal, así como también, determinar cuáles son los factores de riesgo asociados con la enfermedad y más aún conocer la prevalencia de esta infección en la comunidad objeto de estudio (GOMEZ et al., 2009).

La mayoría de los recién nacidos infectados son asintomáticos, una minoría padece de una forma aguda generalizada o secuelas neurológicas y otro grupo minoritario sufre compromiso ocular (BOTERO y RESTREPO, 2010).

La estrategia ideal para reducir los factores de riesgo al contraer una infección por *Toxoplasma gondii* en el transcurso del embarazo, es la prevención primaria ya que en las pacientes seronegativas esto puede significar la salud y la vida del niño, es así que hábitos higiénicos y dietéticos adecuados evitarían el contagio (REMESAR y DAN, 2009).

Como informan Alvarez et al, (2008) las estrategias de prevención de Toxoplasmosis congénita deberían adaptarse a cada zona según los estudios de prevalencia e incidencia previamente realizados.

2.2.6.2 Toxoplasmosis durante las primeras 6 semanas de gestación.

Cuando la infección se produce cerca de la fecha de la fecundación, el riesgo de transmisión al embrión es de un 1% aproximadamente a menos que se trate de una paciente inmunodeprimida. En la mayoría de los embarazos durante las primeras 6 semanas, en los embriones infectados se puede provocar un aborto espontáneo. De no ser así se debería instaurar un tratamiento adecuado durante el resto del embarazo y vigilar el desarrollo fetal por ecografía así como también efectuar un diagnóstico prenatal por amniocentesis (DÍAS y ESTRADA, 2007).

2.2.6.3 Toxoplasmosis durante el primer trimestre del embarazo.

El riesgo de transmisión es del 5%, donde el daño fetal es máximo. Se recomienda tratamiento y seguimiento ecográfico junto con un diagnóstico prenatal adecuado (DÍAS y ESTRADA, 2007).

2.2.6.4 Toxoplasmosis durante el segundo trimestre del embarazo.

El riesgo de transmisión aumenta al 20%, donde el daño fetal es menor y el peligro de aborto disminuye. Es importante realizar un seguimiento ecográfico para identificar infección en el feto, en este caso es preciso realizar una prueba de PCR para toxoplasma en el líquido amniótico. (Botero y Restrepo, 2010).

Si se confirma el diagnóstico, se recomienda realizar un aborto provocado o tratamiento terapéutico (DÍAS y ESTRADA, 2007).

2.2.6.5 Toxoplasmosis durante el tercer trimestre del embarazo.

El riesgo de transmisión supera el 50%, el daño fetal es mínimo y puede ser necesario el tratamiento terapéutico. Cuando se sospecha la posibilidad de Toxoplasmosis durante el embarazo, es esencial el seguimiento clínico, parasitológico y serológico del recién nacido, incluido el análisis parasitológico o inmunológico de la placenta, la sangre del cordón umbilical y el líquido amniótico. El seguimiento serológico debe continuarse hasta la desaparición de las IgG maternas transferidas de forma pasiva, a los 6 o 9 meses del parto (DÍAS y ESTRADA, 2007).

2.2.7. Patogenia.

Según la cantidad de taquizoítos que se presentan, se produce el daño y junto con esto, se da una reacción de hipersensibilidad ya que al romperse los quistes da lugar a la producción de antígenos (BOTERO y RESTREPO, 2010).

La invasión se produce por penetración del parásito a la pared intestinal y siguiendo la vía linfática o hemática, penetra una gran variedad de tejidos como músculo esquelético, miocardio, retina, placenta e incluso al sistema nervioso central. La reproducción de los taquizoítos es intracelular y pasan de célula a célula causándole la muerte y produciéndose la forma activa de la enfermedad.

Puede producir linfadenitis aguda (PERNA, RODRIGUEZ, MORALES, RODRIGUEZ y HARDISON, 2011).

Luego de 1 a 2 semanas, el sistema inmune ha ampliado su respuesta por lo que ha disminuido la propagación del parásito y se presentan los bradizoítos enquistados en los tejidos. Los parásitos intracelulares forman su propia pared, produciendo quistes, que cuando están íntegros, no causan una reacción inflamatoria (BOTERO y RESTREPO, 2010).

Se produce hipertrofia ganglionar con hiperplasia de las células reticulares, a veces con células epiteloides, principalmente en los folículos germinativos.

La diseminación puede llegar a nivel pulmonar, afectando a los macrófagos alveolares, al hígado causando hepatitis y en el sistema nervioso central produciendo encefalitis, principalmente en personas inmunodeprimidas. El daño a células nerviosas causa zonas de infarto, calcificaciones y abundantes quistes. Otra localización importante del parásito son los ojos, produciendo una retinocoroiditis o uveítis anterior granulomatosa, con inflamación de la retina, presencia de quistes y cicatrizaciones (BOTERO y RESTREPO, 2010).

En el feto existe invasión de taquizoítos en los órganos, incluyendo el sistema nervioso central. Se producen lesiones en ventrículos y en el acueducto de Silvio que pueden llegar a causar alteraciones en la circulación del líquido, obstrucción, aumento de la presión intracraneal, con hidrocefalia por compresión de los tejidos (WEISS y DUBEY, 2009).

Además la Toxoplasmosis puede presentar catarata, reflejos arcaicos, hipotonía. Asimismo puede presentar dermatosis diseminada, microoftalmía, cicatrices coriorretinianas, calcificaciones periventriculares, hepatomegalia (PLAZOLA, PÉREZ y FIGUEROA, 2010).

2.2.8. Inmunología.

Los resultados obtenidos por Diaz, Zambrano, Chacon y Rocha (2010), demuestran que la infección por *Toxoplasma gondii*, produce una reacción inmune fuerte lo cual da protección contra la reproducción de taquizoítos.

Al no haber una sintomatología específica en la infección por *Toxoplasma* el laboratorio es de vital importancia en el diagnóstico etiológico de esta patología. Las pruebas serológicas que demuestran la existencia de *Toxoplasma gondii*, por medio de inmunoglobulinas específicas tipo IgG, IgM, IgA, o IgE indicaría presencia de infección, pero no específicamente una de enfermedad.

Los anticuerpos *anti-Toxoplasma gondii*, de las clases IgA e IgM, en la primo infección se producen de inicio, siendo éstos los marcadores que se relacionan con la fase aguda de la enfermedad.

Alrededor del mes del comienzo de la infección la inmunoglobulina IgG comienza a detectarse en bajas concentraciones y su incremento es más lento que el de la IgA e IgM, pero alcanza valores superiores hasta pasados los 6 meses, donde se mantiene un tiempo en meseta para después caer hasta valores bajos, que se mantendrán estables e indican inmunidad y protección para el feto, según Harvey y Champe (2007); quienes también señalan que el tamizaje para la detección de anticuerpos de tipo IgG anti- *Toxoplasma* debe hacerse en el período preconcepcional. Esto permite detectar a las mujeres con títulos positivos de IgG específica y que, por lo tanto, ya han sufrido una primo infección antes del embarazo quedando inmunizadas para el resto de sus vidas.

Este grupo de pacientes no requerirá más estudios para Toxoplasmosis al embarazarse, excepto en las pacientes que estén infectadas con el virus de inmunodeficiencia humana. Las embarazadas seronegativas para *Toxoplasma* deben tener controles prenatales cada trimestre. En caso de que ocurra positividad, se inicia tratamiento y se solicita la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en líquido amniótico después de la semana 20 de gestación para descartar infección fetal (HARVEY y CHAMPE, 2007).

En correspondencia a la investigación realizada por Harvey y Champe (2007), en el caso de desconocer la valoración de IgG preconcepcional y si la embarazada tiene una IgG positiva, se recomienda solicitar IgG dos semanas después y solicitar IgM preferiblemente en la misma muestra. Interpretándose de la siguiente manera:

- Si los títulos de IgG permanecen estables con IgM negativa, se considera infección pasada.
- Si los títulos de IgG se duplican y la IgM es positiva, se confirma infección reciente se debe iniciar tratamiento placentario y se solicita PCR en líquido amniótico.
- Si los títulos de IgG se duplican y la IgM es negativa, se solicita IgA, nueva IgM y se realiza el test de avidéz para IgG. Un resultado de IgA negativo, no descarta la enfermedad y debe procederse a iniciar el tratamiento placentario y solicitar PCR en líquido amniótico.
- Cuando la paciente es IgG negativa y la IgM es positiva, se debe repetir el examen a las tres semanas:
- Si la IgG se torna positiva, se demuestra Toxoplasmosis reciente. En ciertos casos, la síntesis de IgG es evidente alrededor de una semana después de una prueba negativa. El tratamiento placentario y un diagnóstico prenatal están justificados en estos casos.
- Si la IgG persiste negativa, se puede excluir la infección por Toxoplasma, excepto en pacientes inmunosuprimidas, caso en el cual también se justifica el tratamiento placentario y el diagnóstico prenatal.

Harvey y Champe (2007), informan que la detección de IgE aún se mantiene poco estudiada. Esta inmunoglobulina parece ser prometedora como marcador de infección adquirida recientemente. Datos limitados sugieren que la detección de estos anticuerpos en adultos con infección aguda es breve en el tiempo, aún más que los niveles de IgM e IgA.

Es importante tener seguridad en la identificación de los marcadores serológicos como la rápida elevación de los títulos de IgM, IgA e IgE, pues son estos los indicadores de la Toxoplasmosis adquirida.

La seguridad en la detección de seroconversión en embarazadas es de gran importancia, primero porque un falso positivo puede ocasionar un aborto innecesario -en países en que tal práctica es permitida-, y segundo, porque la terapéutica inmediata evitaría cuadros graves para el feto.

Se recomienda políticas para la determinación de estas inmunoglobulinas en gestantes por el número elevado de embarazadas seronegativas con riesgo a infectarse (Sánchez, Guerra, Escalona, Parrilla, Rivera y Nastasi, 2007).

El diagnóstico prenatal de infección por *Toxoplasma gondii*, es recomendado cuando se establece un diagnóstico de Toxoplasmosis adquirida.

2.2.8.1 Antígeno

Es una molécula capaz de inducir a una respuesta inmune, por lo cual se le conoce también como inmunógeno. No todas las partes de la molécula puede inducir a una respuesta inmune, la que induce se le llama epítope o determinante antigénico.

Un antígeno (o un inmunógeno) puede tener varios epitopos o determinantes antigénicos, cada uno de los cuales es reconocido de forma específica por un receptor concreto (Ac)

El poder de un antígeno (Ag) para inducir una respuesta inmune se da por cuanto más extraño sea para el organismo.

2.2.8.2 Anticuerpo

Un anticuerpo, es un producto de la respuesta inmune que reacciona con el antígeno correspondiente en forma observable.

Los anticuerpos son inmunoglobulinas (Ig) que se encuentran en la fracción gammaglobulina de las proteínas plasmáticas y se encuentran en la fracción. Existen cinco categorías de inmunoglobulinas: IgG, IgM, IgA, IgD e IgE.

Los anticuerpos son proteínas integradas por cadenas de aminoácidos unidas por puentes peptídicos. Los anticuerpos IgG posee cuatro cadenas, dos pequeñas o "livianas" y dos más grandes o "pesadas". Por contraste, las IgM se componen de 10 cadenas livianas y 10 pesadas.

2.2.8.3 Funciones de la inmunoglobulinas

La principal función de los anticuerpos consiste en reconocer y unirse al antígeno, para la destrucción de este. Para conseguir este fin, el dominio constante de la inmunoglobulina puede activar los siguientes mecanismos:

1. Activación del sistema del complemento, que termina con la lisis del microorganismo.

2. Oponización de los microorganismos. Los anticuerpos se unen al antígeno, presentándolo a un macrófago para su destrucción.
3. Precipitación de toxinas disueltas en el plasma. Así, son fácilmente destruidas por los macrófagos.
4. Aglutinación de antígenos en una determinada zona, facilitando la acción de los fagocitos y los linfocitos.
5. Activación de linfocitos.

2.2.8.3.1 Estructura de las inmunoglobulinas

Está compuesta por 4 cadenas polipeptídicas, unidas entre sí mediante enlaces covalentes y puentes disulfuro. Dos de estas cadenas son pequeñas y se llaman "L" ligeras y otras dos son grandes y se llaman "h" pesadas.

Las cadenas H y L presentan dos regiones, o dominios, diferenciados, el dominio variable, V, y el dominio constante, C.

El dominio variable es el responsable de reconocer al antígeno y unirse a él, ya que ahí se encuentra el parátipo.

El dominio constante se une a las células del sistema inmune para activarlas.

2.2.8.3.2 Tipos de inmunoglobulinas

✓ **Ig A**

La inmunoglobulina A es el anticuerpo principal encontrado en las membranas del tracto respiratorio y gastrointestinal. Siendo la segunda inmunoglobulina más común en el cuerpo humano, la IgA también se puede encontrar en las lágrimas, la saliva, moco, y el calostro. La IgA es una de las inmunoglobulinas más importantes en la inmunidad local. Las dos subclases de IgA son IgA1 e IgA2.

✓ **Ig D**

Esta clase de inmunoglobulina está presente en el suero sanguíneo en pequeñas cantidades. La inmunoglobulina D se puede encontrar en las superficies de células B y se utiliza como un receptor para el antígeno. Ayuda a anclar a las membranas celulares con su abundancia de aminoácidos. No está completamente determinado por qué la IgD se encuentra en el suero, haciendo que sea el anticuerpo menos comprendido.

✓ **Ig E**

La inmunoglobulina E se puede encontrar protegiendo al cuerpo en las membranas mucosas y en la piel. La IgE es el anticuerpo menos común que se encuentra en el torrente sanguíneo. Es el anticuerpo que desencadena reacciones alérgicas, que se producen cuando la IgE se une a las células a las que el cuerpo es alérgico. La IgE también funciona durante problemas con parásitos y la cantidad de IgE a veces se mide para determinar si el cuerpo tiene una infección parasitaria.

✓ **Ig G**

Esta clase importante de inmunoglobulinas es la principal defensa del cuerpo contra las bacterias. La IgG constituye alrededor del 75 por ciento de todas las inmunoglobulinas humanas y esta es la única clase que puede atravesar la placenta para proteger a los recién nacidos contra las infecciones. La inmunoglobulina G es la más versátil de todos los anticuerpos, porque puede llevar a cabo funciones de otros tipos de anticuerpos también. Las cuatro subclases de IgG son IgG1, IgG2, IgG3, IgG4.

Tienen un peso molecular de solo 150.000. La vida media de la IgG es de 60 – 70 días.

✓ **Ig M**

Estas inmunoglobulinas luchan contra las infecciones de la sangre y ayudan a desencadenar la producción adicional de la inmunoglobulina G. Al igual que IgD, estos anticuerpos están presentes en los linfocitos. De todas las inmunoglobulinas el 10 por ciento son IgM. La inmunoglobulina M es el primer anticuerpo producido por el feto. Estas inmunoglobulinas están bien adaptadas para acumular microorganismos y ayudarles a ser eliminados del cuerpo.

2.2.8.4 Reacción antígeno- anticuerpo

La reacción antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) es una de las piedras angulares en la respuesta inmunitaria del cuerpo humano. Es la unión específica de un anticuerpo con un antígeno para inhibir o demorar su toxicidad.

El acoplamiento estructural entre las macromoléculas se realiza gracias a varias fuerzas débiles que disminuyen con la distancia, como los puentes de hidrógeno, las fuerzas de Van Der Waals, las interacciones electrostáticas y las hidrofóbicas. El reconocimiento Ag-Ac es una reacción de complementariedad, por lo que se efectúa a través de múltiples enlaces no covalentes entre una parte del antígeno y los aminoácidos del sitio de unión del anticuerpo. La reacción se caracteriza por su especificidad, rapidez, espontaneidad y reversibilidad. (http://es.wikipedia.org/wiki/Reacci%C3%B3n_ant%C3%ADgeno-anticuerpo)

Características

✓ Especificidad

Capacidad del anticuerpo de unirse al antígeno que lo estimuló a través del epítipo o determinante antigénico mediante uniones intermoleculares débiles. La unión dada por la especificidad es muy precisa y permite distinguir entre grupos químicos con diferencias mínimas a pesar de su similitud; además, permite la detención de un sólo antígeno en cuestión.

✓ Rapidez

La velocidad con que ocurre la primera etapa de la reacción Ag-Ac es del orden de milésimas de segundo, y está limitada únicamente por la difusión. La segunda etapa, que es más larga, incluye todas las manifestaciones que se presentan como consecuencia de la interacción, tales como precipitación, aglutinación, neutralización, etc.

✓ Espontaneidad

La reacción Ag-Ac no requiere energía adicional para efectuarse.

✓ Reversibilidad

Dado que la reacción se debe a fuerzas no covalentes, es reversible y, en consecuencia, se ve afectada por factores como la temperatura, la proporción de Ag-Ac, el pH. (<http://www.elergonomista.com/biologiasselectividad/sb08.html>)

2.2.9. Diagnóstico.

Según Selseleh, Keshavarz, Mohebbali, Shojaee y Hosseini (2012), el diagnóstico de toxoplasmosis aguda en mujeres embarazadas es de vital

importancia. La mayoría de los ensayos disponibles comercialmente, utilizan un conjunto de extracto soluble de toxoplasma como antígeno.

Los ensayos disponibles en la actualidad para la detección de anticuerpos específicos anti-Toxoplasma, pueden variar en sus capacidades para detectar inmunoglobulinas del suero, donde su sensibilidad y especificidad, varía; así pues para el ELISA IgG recombinante en comparación con ELISA comercial, esta diferencia fue del 89 % y 90 % y la sensibilidad y especificidad del ELISA IgM recombinante, fue del 96 % y 90 %, respectivamente. Además se pueden utilizar diferentes técnicas para el diagnóstico.

2.2.10. Tratamiento y profilaxis.

Existen esquemas recomendados para el tipo de tratamiento que se elija, según la disponibilidad en cada sitio de trabajo y tolerancia de los respectivos medicamentos.

Una vez comprobada por medio de las diferentes técnicas la infección por Toxoplasma, se debe instaurar el tratamiento pleno, que logre modificar el curso de la enfermedad y disminuir las secuelas fetales. Se utilizan varios esquemas, tomando en cuenta que los fármacos existentes no destruyen los quistes tisulares, empleando la pirimetamina, espiramicina y sulfadiazina, fármacos, que han demostrado ser eficaces en el tratamiento de la toxoplasmosis congénita (URIBARREN, 2012).

En la infección de Toxoplasmosis en el embarazo, la espiramicina es una droga de toxicidad mínima y sin efectos teratógenos, por lo que es el fármaco de elección. Es altamente efectiva contra el *Toxoplasma gondii*, y sus niveles en sangre del cordón sólo alcanzan el 50% de los niveles séricos maternos, de acuerdo a lo planteado por (DURLANCH ET al., (2008).

Se cree que la administración de espiramicina a la madre infectada, permite disminuir la tasa de transmisión materno-fetal; además, el tratamiento precoz de la toxoplasmosis congénita con sulfadiazina y pirimetamina, evita la aparición de lesiones neurológicas y mejora en ocasiones algunos defectos leves (GÓMEZ y ENRIQUE, 2010).

Los diagnósticos de toxoplasmosis al final del embarazo, implica el tratamiento con espiramicina, pero es más prioritario el diagnóstico en el recién nacido para realizar el tratamiento al neonato (Olaya y Flores, 2003). Además de los chequeos trimestrales, las gestantes seronegativas a *Toxoplasma gondii*, deberán extremar medidas higiénicas-sanitarias como ser:

- Beber agua potable.
- Cocción adecuada de los alimentos y en especial de las carnes.
- Lavarse las manos con agua y jabón antes de ingerir alimentos.
- Lavar las verduras y frutas antes de consumirlas.
- Cuando trabaje con tierra, protegerse con guantes y máscara.
- Mantener los gatos dentro del hogar para que no salgan de cacería y alimentarlos con carnes bien cocidas Tener especial cuidado con los gatos y en especial con sus heces fecales (GÓMEZ y ENRIQUE, 2010).

Según McLeod, Kieffer, Sautter, Hosten y Pelloux (2009), se puede afirmar que la morbimortalidad asociada con la toxoplasmosis ha sido bien documentada y se han encontrado discusiones recientes que cuestionan el beneficio de la prevención, diagnóstico y tratamiento, ya que no existe estudios que incluyen controles aleatorios o con placebo

Se estima que la tasa de infección durante el embarazo, está en descenso gracias al progreso en los informes sobre la higiene de los alimentos, pues casi todas las infecciones se deben a la costumbre de ingerir carne insuficientemente cocida, por lo que la educación orientada a las mujeres en edad fértil y durante el embarazo, es una conducta que evita la adquisición de la infección.

En siete revisiones sistemáticas con evaluación de GRADE según Kravetz (2010), se concluye que la transmisión al bebé, es más alta al final del embarazo; pero los riesgos de infección, son mayores al inicio del mismo. Generalmente la toxoplasmosis congénita es el resultado de la infección primaria durante el

embarazo, las manifestaciones clínicas en el infante dependen de la semana en que se contaminó la madre.

El inconveniente es el seguimiento y terapia de las madres con la infección reciente que exigen la existencia de un equipo multidisciplinario con técnicas actuales disponibles para demostrar la infección fetal, como la PCR. Inclusive, si se dispone de estas técnicas, es necesario el seguimiento cuidadoso y a largo plazo de los recién nacidos.

El programa de descubrimiento de casos durante el embarazo tiene como principal, pero no único obstáculo, el costo de las pruebas serológicas a todas las embarazadas que acuden al control prenatal.

Aunque descubrir los casos en las madres y/o en los recién nacidos sea una obligación normal cuando existe el presupuesto y la infraestructura necesaria, la realidad del terreno induce a buscar alternativas como podrían ser: la realización de encuestas a las madres para descubrir a las que se encuentren expuestas a riesgo de contraer toxoplasmosis reciente y el control de los gatos callejeros por parte de las autoridades de salud. Las creencias y mitos en relación con el adecuado diagnóstico, tratamiento y control de la infección toxoplásmica son de vital importancia durante el embarazo. En un estudio multicéntrico realizado en Colombia la prueba de correlación de Pearson demostró que el nivel socioeconómico no se correlaciona con la incidencia de toxoplasmosis congénita (GÓMEZ, T, MULLER, CASTAÑO, 2011).

El éxito de un programa de control de la toxoplasmosis está estrechamente ligado al desarrollo del programa materno-infantil. Una primera actividad es la toma de conciencia por parte del cuerpo médico para realizarla prevención frente a la embarazada. En segundo lugar, extender la cobertura de las pruebas serológicas al mayor número posible de mujeres en gestación.

En países como en Cuba y Brasil, de acuerdo a Sroka et al., (2010), el examen de rutina no es realizado y la infección materna sólo se diagnostica cuando la indicación serológica es ejecutada por petición médica, conducta ésta, no generalizada; o por la sospecha clínica de infección aguda. En algunos países

como Francia y Austria, de acuerdo con lo que expresa la ley, el monitoreo serológico es obligatorio.

Tal procedimiento ha reducido la incidencia de casos de toxoplasmosis fetal con seroconversión de 40 a 7%. La seroprevalencia de la infección es influenciada por la cultura, hábitos higiénicos y nutricionales. La seropositividad en Brasil es del 51 al 71% en embarazadas. En la República del Ecuador, el Ministerio de Salud Pública realiza esfuerzos por disminuir o erradicar las causas de mortalidad infantil, por lo que resulta importante considerar la aplicación de las pruebas de diagnóstico confiables que permiten detectar infecciones tempranas, en la madre o su descendencia con la determinación de anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii*.

2.2.11. Técnica de toxoplasma IgM.

2.2.11.1 Anticuerpos IgM contra el *Toxoplasma gondii*.

Test inmunológico in vitro para la determinación cualitativa de las inmunoglobulinas M contra el parásito *Toxoplasma gondii* en suero y plasma humanos.

Este inmunoensayo "ECLIA" (electrochemiluminescenceimmunoassay) de electroquimioluminiscencia, está concebido para ser utilizado en los inmunoanalizadores Elecsys y Cobas e.

Principio del test: Principio de μ -captura con una duración total de 18 minutos.

- 1ª incubación: 10 μ L de muestra se pre diluyen automáticamente con Diluyente Universal de 1:20. Se añade antígeno específico del *Toxoplasma gondii* recombinado marcado con un complejo de rutenio. Los anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma gondii* presentes en la muestra reaccionan con el antígeno específico del *Toxoplasma gondii* recombinado, marcado con rutenio.
- 2ª incubación: Se añaden anticuerpos monoclonales biotinilados anti-IgM humana y micropartículas recubiertas de estreptavidina. El complejo total se fija por interacción entre la biotina y la estreptavidina a la fase sólida.

- La mezcla de reacción es trasladada a la célula de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminan posteriormente con ProCell/ProCell M.

Al aplicar una corriente eléctrica definida, se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide con un fotomultiplicador.

- El software Elecsys proporciona automáticamente los resultados comparando la señal de electroquimioluminiscencia del producto de reacción de la muestra con la señal del valor de corte obtenido anteriormente por calibración de Toxo IgM.

a) [Quelato Tris (2-2'-bipiridina) rutenio (II)] (Rbpy)₂+Reactivos - Soluciones de trabajo Micropartículas recubiertas de estreptavidina (tapa transparente), 1 frasco, 6.5 mL:

Micropartículas recubiertas de estreptavidina: 0.72 mg/mL; conservante.

R1 Antígeno del *Toxoplasma gondii*-Ru (bpy)₂+3 (tapa gris), 1 frasco, 9 mL:

Antígeno del *Toxoplasma* marcado con quelato de rutenio > 1 mg/L; tampón MESb 50 mmol/L, pH 6.0; conservante.

R2 Anticuerpos anti- humana~biotina (tapa negra), 1 frasco, 9 mL:

Anticuerpo monoclonal biotinilado anti-IgM humana (ratón) > 500 µg/L; tampón HEPESc 50 mmol/L, pH 7.2; conservante.

Cal1 Calibrador negativo 1 (tapa blanca), 2 frascos de 0.67 mL c/u: Suero humano negativo para IgM anti-*Toxoplasma gondii*; conservante.

Cal2 Calibrador positivo 2 (tapa negra), 2 frascos de 0.67 mL c/u:

IgM anti-*Toxoplasma gondii* (humana) aprox. 130 U/mL (unidades de Roche) en suero humano; conservante.

b) MES = ácido etanosulfónico 2-N-morfolino

c) HEPES: ácido [4-(2-hidroxietil)-piperazino] etanosulfónico

Preparación de los reactivos: Los reactivos contenidos en el estuche, están listos para su uso y se suministran en los frascos propios del sistema.

Trazabilidad: El presente método fue estandarizado frente a un estándar de referencia de Roche. Las unidades fueron definidas arbitrariamente.

Cálculo: El analizador calcula automáticamente el valor de corte basándose en la medición de Cal1 y Cal2. Los resultados se indican tanto como reactivos o no reactivos, como así también, con un índice discriminatorio (señal de la muestra/valor de corte).

Interpretación de los resultados: Los resultados obtenidos con el test Elecsys Toxo IgM, pueden interpretarse de la siguiente manera:

No reactivas: < 0.8 COI

Indeterminadas: $\geq 0.8 - < 1.0$ COI

Reactivas: ≥ 1.0 COI

Muestras con un índice de corte < 0.8 son no reactivas

Las muestras con un índice de corte entre ≥ 0.8 y < 1.0 se consideran indeterminadas. En este caso, se recomienda volver a analizar la muestra.

Si después de repetir el análisis el resultado fuera indeterminado, se recomienda analizar otra muestra pasadas 2-3 semanas.

Muestras con un índice de corte ≥ 1.0 son reactivas en el test Elecsys Toxo IgM.

La medida en que el resultado supera al índice de corte no constituye un indicador de la cantidad total de anticuerpos presentes en la muestra.

Si se comparan los resultados de anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma gondii* obtenidos para una misma muestra entre test de diferentes fabricantes, pueden existir diferencias debido a métodos de análisis y reactivos divergentes.

2.2.12. Técnica de toxoplasma-IgG.

2.2.12.1 Anticuerpos IgG contra el *Toxoplasma gondii*.

Test inmunológico in vitro para la determinación cuantitativa de las inmunoglobulinas G contra el *Toxoplasma gondii* en suero y plasma humanos.

Este inmunoensayo "ECLIA" (electrochemiluminescenceimmunoassay) de electroquimioluminiscencia, está concebido para ser utilizado en los inmunoanalizadores Elecsys y Cobas e.

Principio del test: Técnica sándwich con una duración total de 18 minutos.

- 1ª incubación: 10 µL de muestra, un antígeno recombinado específico del *T. gondii* biotinilado y un antígeno recombinado específico del *T. gondii* marcado con quelato de rutenio a forman un complejo sándwich.
- 2ª incubación: Después de incorporar las micropartículas recubiertas de estreptavidina, el complejo formado se fija a la fase sólida por interacción entre la biotina y la estreptavidina.
- La mezcla de reacción es trasladada a la célula de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminan posteriormente con el reactivo ProCell. Al aplicar una corriente eléctrica definida, se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide directamente con un fotomultiplicador.
- Los resultados se obtienen mediante una curva de calibración generada por el sistema a partir de una calibración a 2 puntos y una curva máster incluida en el código de barras del reactivo

a) [Quelato Tris (2-2'-bipiridina) rutenio (II)] Ru (bpy) 2+Reactivos - Soluciones de trabajo con micropartículas recubiertas de estreptavidina (tapa transparente), 1 frasco, 6,5 mL:

Micropartículas recubiertas de estreptavidina: 0,72 mg/mL; conservante.

R1 Antígeno del *T. gondii*-biotina (tapa gris), 1 frasco, 9 mL: Antígeno biotinilado específico del *T. gondii* (recombinado, *E. coli*), > 400 µg/L, tampón TRIS 50 mmol/L, pH 7,5; conservante.

R2 Antígeno del *T. gondii*-Ru (bpy)₂+ 3 (tapa negra), 1 frasco, 9 mL: Antígeno biotinilado específico del *T. gondii* (recombinado, *E. coli*) marcado con complejo de rutenio, > 400 µg/L, tampón TRIS 50 mmol/L, pH 7,5; conservante.

Cal1 Calibrador negativo 1 (tapa blanca), 2 frascos de 1,0 mL c/u: Soro humano, no reactivo para IgG anti-*T.gondii*; tampón; conservante.

Cal2 Calibrador positivo 2 (tapa negra), 2 frascos de 1,0 mL c/u: Suero humano, reactivo para anticuerpos IgG anti-*T.gondii*, aprox. 100 UI/mL; tampón, conservante.

Los métodos analíticos aplicados fueron aprobados por la FDA o se encuentran en conformidad con la Directiva Europea 98/79/CE, Anexo II, Lista A.

Trazabilidad: El presente método ha sido estandarizado frente al 3er estándar internacional para antisuero anti-*Toxoplasma gondii* (TOXM) del Instituto Nacional de Estándares Biológicos de Gran Bretaña (NIBSC).

Cada reactivo del test Elecsys Toxo IgG contiene un código de barras que incluye toda la información específica necesaria para la calibración del lote de reactivos. La curva máster preestablecida, es adaptada al analizador a través del ElecsysToxo IgG Cal1 y Cal2.

Cálculo: El analizador calcula automáticamente en UI/mL la concentración de analito de cada muestra.

Interpretación de los resultados: Se recomienda interpretar los resultados obtenidos con el test ElecsysToxo IgG según se indica a continuación y teniendo en cuenta el algoritmo utilizado para cribar el *Toxoplasma* en embarazadas de acuerdo con las recomendaciones o directivas nacionales y regionales.

2.2.13. El test Toxo IgG se emplea como test de cribado de primera línea

No reactivas: < 1 UI/mL

Indeterminadas: ≥ 1 - < 3 UI/mL

Reactivas: ≥ 3 UI/mL

Las muestras con concentraciones < 1 UI/mL son no reactivas en el ensayo ElecsysToxo IgG.

Las muestras con concentraciones ≥ 3 UI/mL se consideran positivas para los anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* e indican una infección aguda o latente.

Las muestras con concentraciones ≥ 3 UI/mL deben someterse a un test de Toxo IgM para descartar una infección incipiente por Toxoplasma.

Muestras con concentraciones entre ≥ 3 - < 30 UI/mL y un resultado de test de IgM negativo: Recoger una segunda muestra dentro del período de 3 semanas para excluir una infección incipiente por Toxoplasma manifestada por un incremento significativo de los títulos de anticuerpos IgG Anti-Toxo.

Las muestras con concentraciones entre 1 UI/mL y < 3 UI/mL se consideran indeterminadas. En este caso, se recomienda volver a analizar la muestra. Si después de repetir el análisis el resultado siguiera siendo indeterminado, se recomienda recoger otra muestra 3 semanas más tarde.

2.2.14. Determinación paralela de Toxo IgG y Toxo IgM.

No reactivas: < 1 UI/mL

Indeterminadas: ≥ 1 - < 30 UI/mL

Reactivas: ≥ 30 UI/ml

Las muestras con concentraciones < 1 UI/mL son no reactivas en el ensayo ElecsysToxo IgG. Las muestras con concentraciones entre 1 UI/mL y < 30 UI/mL se consideran indeterminadas.

En este caso, se recomienda volver a analizar la muestra. Si después de repetir el análisis el resultado siguiera siendo indeterminado, se recomienda recoger otra muestra dentro del período de 3 semanas.

Concentraciones entre 1 UI/mL y < 30 UI/mL deben considerarse como indeterminadas y someterlas a un seguimiento serológico.

Las muestras con concentraciones ≥ 30 UI/mL se consideran positivas para los anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* indican una infección aguda o latente.

Junto a los resultados obtenidos para IgM anti-*Toxoplasma gondii*, el diagnóstico de una toxoplasmosis aguda se confirma por el aumento significativo de los títulos de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* (dentro del intervalo entre 1 UI/mL y < 30 UI/mL) en la segunda muestra respecto de la primera, ambas obtenidas dentro de un lapso de 3 semanas.

2.2.15. Electroquimioluminiscencia.

Electroquimioluminiscencia o quimioluminiscencia electrogenerada es un tipo de luminiscencia producida durante las reacciones electroquímicas en soluciones.

En quimioluminiscencia electrogenerada, intermedios generados electroquímicamente experimentan una reacción altamente exergónica para producir un estado electrónicamente excitado, que luego emite luz a la relajación a un estado de bajo nivel.

Esta longitud de onda del fotón de la luz emitida corresponde a la diferencia de energía entre estos dos estados. Excitación ECL puede ser causada por reacciones de transferencia de electrones energéticos de especies electrogenerado. Tal excitación de luminiscencia es una forma de quimioluminiscencia donde uno/todos los reactivos se producen electroquímicamente en los electrodos.

ECL se observa generalmente durante la aplicación de potencial a los electrodos de la celda electroquímica que contiene solución de las especies luminiscentes en disolvente orgánico aprótico. En disolventes orgánicos ambas formas de especies luminiscentes oxidadas y reducidas se pueden producir en diferentes electrodos

simultáneamente o en uno solo mediante el barrido de su potencial entre la oxidación y la reducción. La energía de excitación se obtiene de la recombinación de especies oxidadas y reducidas.

En medio acuoso que se utiliza sobre todo para aplicaciones analíticas oxidación y reducción de las especies luminiscentes simultánea es difícil de lograr debido a la división electroquímica de agua en sí misma por lo que se utiliza la reacción de ECL con los co-reactivos. En el caso más tarde especies luminiscentes se oxidan en el electrodo junto con el co-reactivo que da un fuerte agente reductor después de algunas transformaciones químicas.

2.2.15.1 Analizador cobas e411

El analizador inmunológico Cobas e411 de marca Roche, puede realizar más de 60 pruebas a partir de suero, plasma u orina, dentro de las que se encuentran cuantificación de hormonas para perfiles de tiroides y fertilidad, marcadores tumorales, óseos, cardíacos, artritis reumatoide entre otros, así como la detección de anticuerpos contra enfermedades infecciosas ocasionadas por parásitos o virus. Este equipo tiene la capacidad de realizar 15 ensayos diferentes, ya que cuenta con un rotor para reactivos que soporta 18 cartuchos de reactivos distintos, mientras que su carga de trabajo resiste procesar 75 muestras en cada carga de trabajo, completando aproximadamente 85 pruebas por hora. Este equipo se basa en la tecnología de la técnica de ELISA por detección de electroquimioluminiscencia. Muy útil para el diagnóstico de diferentes trastornos, ya que determina diferentes analitos que se relacionan con enfermedades o trastornos metabólicos, oncológicos, endócrinos, padecimientos infecciosos entre otros, utilizando una pequeña cantidad de muestra ya sea, plasma, suero u orina, obteniendo resultados rápidamente, en un tiempo de aproximadamente de 9 a 18 minutos por muestra.

(<http://www.roche.es/content/dam/Assets/Diagnostic/Spain/images/download/D%C3%DAptico%20cobas%20e411%28web%29%20%282%29.pdf>)

Eficiencia

Cobas e packs para una gestión simple y eficiente

- ✓ Los reactivos cobas e packs son líquidos y listos para uso
- ✓ Formato de packs “todo en uno” para cada parámetro combinado con calibradores, facilitan la gestión logística

- ✓ La apertura/cierre automático provee de una estabilidad de a bordo más duradera
- ✓ El concepto de programación por carga asegura una gestión uniforme y consistente de los datos
- ✓ La pantalla de revisión de datos permite la rápida trazabilidad de resultados
- ✓ Pantalla mejorada para revisión de datos

Principio de reacción de electroquimioluminiscencia (EQL)

- ✓ Prestaciones analíticas
- ✓ Aplicaciones de 9 min para decisiones rápidas y de alta calidad
- ✓ Más de 90 ensayos que ofrecen una amplia cobertura de más de 7 áreas terapéuticas
- ✓ La alta estabilidad de a bordo y vida útil permiten la disponibilidad continua tanto de parámetros de rutina como esotéricos
- ✓ Puntas y cubetas desechables, eliminan el riesgo de contaminación por arrastre
- ✓ Dispositivos de seguridad que aseguran la integridad de la muestra y de los resultados

Tecnología EQL (electroquimioluminiscencia)

- ✓ Alta sensibilidad analítica que permite amplios rangos de medición y volúmenes mínimos de muestra
- ✓ Activación mediante voltaje para una reacción controlada permite una alta precisión evitando repeticiones innecesarias
- ✓ Tiempos cortos de incubación para una rápida obtención de resultados

Características del equipo

- ✓ Equipo automatizado, de mesa.
- ✓ Fácil manejo
- ✓ Principio: Electroquimioluminiscencia
- ✓ Software: fácil de usar, periodo corto de capacitación
- ✓ Calibradores y controles con códigos de barras
- ✓ Resultados de test de urgencia en 9 minutos
- ✓ Resultados de rutina en 20 minutos.
- ✓ Impresión automática de resultados

Características de los reactivos

- ✓ Listos para el uso
- ✓ Entre 100 y 200 determinaciones por Kit
- ✓ Reactivos con código de barras bidimensional
- ✓ Tipos de Kit: Stat (Urgencia) y de Rutina
- ✓ Resultados del Kit Stat en 9 minutos.
- ✓ Resultados del Kit Rutina en 20 minutos
- ✓ Estabilidad en el equipo de 30 días

Mantenimiento

- ✓ Limpiezas diarias del sistema al terminar el trabajo, automática o pedidas por el operador.
- ✓ Limpieza de LFC cada 15 días solicitada por el sistema.
- ✓ Mantenimientos generales de ingeniería cada tres meses y anual.
(<http://www.roche.es/content/dam/Assets/Diagnostic/Spain/images/download/D%C3%DAptico%20cobas%20e411%28web%29%20%282%29.pdf>)

2.2.15.2 Aplicación.

ECL demostró ser muy útil en aplicaciones analíticas como un método altamente sensible y selectivo. Combina las ventajas analíticas de análisis de quimioluminiscencia con la facilidad de control de la reacción mediante la aplicación potencial del electrodo. Como una técnica analítica que presenta notables ventajas respecto a otros métodos analíticos comunes debido a su versatilidad, la simplificación de la configuración óptica en comparación con la fotoluminiscencia, y un buen control espacial y temporal en comparación con quimioluminiscencia. Selectividad mejorada del análisis ECL se alcanza mediante la variación de potencial de electrodo controlando así las especies que se oxidan/reducen en el electrodo y toman parte en la reacción de ECL.

Por lo general, utiliza complejos de Rutenio, especialmente 2 regeneración con TPA en fase líquida o de la interfaz líquido-sólido. Se puede utilizar como monocapa inmovilizada sobre una superficie de electrodo o como un co-reactivo o más comúnmente como una etiqueta y se utiliza en la HPLC, Ru etiquetada inmunoensayos basados en anticuerpos, sondas de ADN para la PCR Ru Etiquetados etc., NADH o H₂O₂ biosensores basados en generación, oxalato y

detección de amina orgánica, y muchas otras aplicaciones y pueden ser detectados a partir de la sensibilidad a picomolar rango dinámico de más de seis órdenes de magnitud. Detección de fotones se realiza con tubos fotomultiplicadores o fotodiodos de silicio o sensores de fibra óptica recubiertos de oro. ECL es muy usada comercialmente para muchas aplicaciones de laboratorio clínico.

2.2.15.3 Determinación por Electroquimioluminiscencia (ECL)

En la actualidad se ha implementado el diagnóstico de Toxoplasmosis por la técnica de Electroquimioluminiscencia (ECL), pues la misma logra mayor sensibilidad y especificidad que las técnicas anteriores y utiliza un antígeno recombinado específico de *Toxoplasma gondii*, marcado con quelato de rutenio para formar un complejo sándwich.

Las reacciones ECL llevan a la emisión de luz a partir del marcador de rutenio que se activan por aplicación de un voltaje a la mezcla de reacción.

La Tripropilamina se descompone electroquímicamente después de la oxidación con una molécula de rutenio y el resultado es la emisión de un fotón. La amplificación resultante permite alcanzar límites de detección muy bajos. (ROCHE, 2011).

2.2.15.4 Identificación de Anti-Toxoplasma gondii IgG.

- Test inmunológico in vitro para la determinación cuantitativa de las inmunoglobulinas G contra el *Toxoplasma gondii* en suero utilizando la metodología de inmunoensayo Electroquimioluminiscencia.
- Las muestras con concentraciones < a 1 UI/ml se considerarán no reactivas, >1 y < a 3 UI/ml como indeterminadas, > a 3 UI/ml como reactivas.

2.2.15.5 Identificación de Anti-Toxoplasma gondii IgM.

- Test inmunológico para la determinación cualitativa de las inmunoglobulinas M contra el parásito *Toxoplasma gondii* en suero utilizando la metodología de inmuno ensayo Electroquimioluminiscente.

- Las muestras <0.8 ID son consideradas como no reactivas, >0.8 - < 1.0 indeterminadas, > 1.0 son reactivas.

2.2.16. Radioinmunoensayo.

El Radioinmunoensayo (o abreviado RIA del inglés Radioimmunoassay) es un tipo de inmunoensayo o método radioinmunométrico que se basa en la formación específica de los complejos Antígeno-Anticuerpo (Ag-Ac) lo que le dota de una gran especificidad unido a la sensibilidad de los métodos radiológicos. La técnica ha sido prácticamente reemplazada por el método ELISA el cual mide la unión Ag-Ac mediante colorimetrías en lugar de radiometrías.

Casi todas las moléculas pueden ser antigénicas y esto se usa para que los anticuerpos puedan unirse a esa molécula y marcarla radiactivamente. Una buena manera de provocar que una molécula sea antigénica está basada en que un hapteno combinado con un coadyuvante da respuesta inmune. Un coadyuvante muy usado es la albúmina de suero bovino o BSA, por lo que al conjugar un hapteno con BSA e introducirlo en otra especie aparecerán anticuerpos contra el hapteno.

2.2.16.1 Tipos de radioinmunoensayos.

2.2.16.1.1 RIA directo.

El RIA se basa en la competencia existente entre el antígeno no marcado y una cantidad conocida del antígeno marcado para formar los complejos AgAc o Ag*Ac. Con estos tres componentes (Ag, Ag* y Ac) puede realizarse el ensayo en el que manteniendo constante la cantidad de Ag* y Ac se observará que a mayor cantidad de Ag menos Ag* queda unido a la cantidad fija de Ac (y por tanto menos radiactividad), lo que permitirá relacionar la radiactividad con la concentración de Ag.

- Se obtienen anticuerpos específicos, para ello se inyectan en un animal pequeñas cantidades en varias dosis del antígeno muy purificado. El animal generará anticuerpos que podrán ser recogidos del plasma sanguíneo.

- Se marca el antígeno radiactivamente. El antígeno marcado debe seguir siendo reconocible por el anticuerpo.
- Se añaden Ac a una placa de titulación y quedan unidos al soporte sólido, tras lo que se agrega el Ag* en cantidad conocida y el Ag de la muestra problema.
- Se elimina el antígeno no unido por decantación y lavado, y se determina la cantidad de marcaje unido.

Se interpola el valor obtenido en la recta de calibración que debe haberse realizado con anterioridad.

Tabla de calibrado				
	Antisuero	Ag*	Ag	Suero normal
Tubo 1	1mL	1mL	0mL	1mL
Tubo 2	1mL	1mL	0,1mL	0,9mL
Tubo 3	1mL	1mL	0,2mL	0,8mL
Tubo 4	1mL	1mL	0,3mL	0,7mL
Tubo 5	1mL	1mL	0,4mL	0,6mL
Tubo 6	1mL	1mL	0,5mL	0,5mL

Fuente: An Pediatr (Barc). 2013.

Para la realización del calibrado se dispone de varios tubos en los que se añaden una cantidad fija de Ac y de Ag* y una cantidad variable de Ag a la que se añade suero normal para enrasar al mismo volumen. Así obtendríamos una tabla como la adjunta.

En el tubo 1 Ac no se une a Ag. En el tubo 2 la mayoría se une a Ag*, la competencia se va desplazando poco a poco a Ag por lo que la radiactividad de la muestra va disminuyendo (disminuyen los complejos Ac-Ag*). Se crea una recta R vs. [Ag].

2.2.16.1.2 RIA de inhibición (Usado cuando no se puede marcar el antígeno)

- Se inmoviliza una cantidad constante de antígeno en un soporte sólido. Se suele saturar con BSA, leche en polvo o caseína para que no se una nada más al soporte.
- Se añade una cantidad constante de Anticuerpo marcado y el antígeno frío a medir (o de calibrado). En este paso se establece una competencia en la que el Ac se une al Ag fijo al soporte o al problema.
- Se eliminan el anticuerpo no inmovilizado y el antígeno soluble y se determina la cantidad de anticuerpo marcado que se ha inmovilizado.
- Se construye una curva de calibrado representando la cantidad de anticuerpo marcado inmovilizado frente a la concentración de antígeno soluble añadida o bien se interpola la radiactividad medida en esta curva de calibrado.

2.2.16.1.3 RIA de sandwich (IRMA).

- Se inmoviliza una concentración fija del Ac1 (no marcado) en un soporte sólido. Tras lo que se satura el soporte.
- Se añade la muestra problema (o de calibrado) de Ag.
- Se añade Ac*2 (marcado) que se une a otro epítipo del Ag.
- Eliminación del Ac*2 no unido.
- Se determina la cantidad de anticuerpo marcado unido.
- A partir de una recta patrón se interpola el valor obtenido para saber la concentración de Ag presente o bien se realiza la recta de calibrado.

2.2.16.1.4 Unión no específica.

Normalmente se suelen obtener valores de radiactividad por encima del 0 cuando $[Ag]=0$, esto se debe a la unión no específica (NSB). Se suelen usar algunos

pocillos para calcular el NSB que existe (haciendo un blanco de calibrado). Para ello se añade a un pocillo 1mL de suero+1mL de Ag*+XmL de Ag+(1-X)mL de suero y al no añadir Ac se realiza el mismo proceso y al lavar se mide la unión no específica.

2.2.17. Detección de IgG por la metodología de Western-blot.

Utiliza la electroforesis con una tira de nitrocelulosa donde se forma un complejo antígeno-anticuerpo, que contiene antígenos parasitarios separados según su peso molecular. La revelación de la reacción se hace con un anticuerpo secundario marcado con una enzima. El western blot ha sido evaluado como método de diagnóstico para toxoplasmosis congénita. Es de utilidad para comparar anticuerpos maternos y determinar si estos anticuerpos son transmitidos por la madre o sintetizados por el feto. Se considera positiva la prueba cuando aparece una banda por debajo de 120 kDa. (Gómez y Enrique 2010); (TORRES, OSORIO, NUÑEZ, CHACÓN y GÓMEZ, 2011).

2.2.18. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Utiliza como blancos la amplificación genes únicos (P30) o repetidos como el gen B1, la secuencia TGR1E o el ADNr 18S del ácido desoxirribonucleico de *Toxoplasma gondii*. Es una de las técnicas con alta sensibilidad y ha sido adaptada al diagnóstico de la toxoplasmosis de acuerdo a Figueiro-Filho, López, Senefonte y De Almeida (2005). Sobre esta técnica Álvarez et al. (2008) señalan que una de las grandes ventajas de la reacción de la PCR es su extrema sensibilidad, lo que permite la detección a partir de un solo parásito que equivale a 0,05-0,2 picogramos de ácido desoxirribonucleico. Esta gran capacidad de detección crea la necesidad de utilizar estrictos protocolos para impedir resultados falsos positivos (Lora, Aricapa y Pérez, 2007). En estudios comparativos realizados en animales con ELISA y PCR, se demostró que el PCR tiene mayor sensibilidad y se considera como una metodología de referencia (SHAAPAN, ELMAATY, EL-RAZIK y EL-HAFEZ, 2012).

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

Amniocentesis: Prueba prenatal común en la cual se extrae una pequeña muestra del líquido amniótico que rodea al feto para analizarla.

Anticuerpos: son glicoproteínas del tipo gamma globulina. Pueden encontrarse de forma soluble en la sangre u otros fluidos corporales, disponiendo de una forma idéntica que actúa como receptor de los linfocitos B.

Citomegalovirus: El Citomegalovirus (CMV), es una forma de herpesvirus; en humanos es conocido como Human herpesvirus 5 (HHV-5).

Coriorretinitis: Enfermedad ocular que se caracteriza por la inflamación de la coroides y la retina. La coroides es una fina capa vascular de la pared del ojo y la retina es la región donde se encuentran las células sensibles a la luz que son los conos y los bastones.

Encefalitis: Conjunto de enfermedades producidas por una inflamación del encéfalo

Hepatomegalia: Aumento patológico del tamaño del hígado.

Hidrocefalia: Trastorno cuya principal característica es la acumulación excesiva de líquido en el cerebro.

Linfocitosis: Aumento de la proporción de linfocitos con respecto a los valores de referencia determinados por la fórmula leucocitaria.

Microcefalia: Trastorno neurológico en el cual la circunferencia de la cabeza es más pequeña que el promedio para la edad y el sexo del niño.

Placenta: Órgano efímero presente en los mamíferos placentarios y que relaciona estrechamente al bebé con su madre, satisfaciendo las necesidades de respiración, nutrición y excreción del feto durante su desarrollo.

Taquizoítos: Los taquizoítos forman pseudoquistes en tejidos infestados por toxoplasma.

2.4. HIPÓTESIS

La eficacia de la técnica de electroquimioluminiscencia nos ayudara en la detección temprana de toxoplasmosis en mujeres gestantes que acuden al control prenatal en el Hospital General Alfredo Noboa Montenegro de la ciudad de Guaranda en el periodo comprendido entre diciembre 2013 a mayo 2014.

2.5. VARIABLES.

2.5.1 Variable independiente.

- ✓ Técnica Electroquimioluminiscencia.

2.5.2 Variable dependiente.

- ✓ Toxoplasmosis en el embarazo.

2.5.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.

Variable	Concepto	Categoría	Indicador	Técnica e instrumento
<p>Independiente</p> <p>Electroquimio-luminiscencia</p>	<p>Electroquimio-luminiscencia o quimioluminiscencia electrogenerada es un tipo de luminiscencia producida durante las reacciones electroquímicas en soluciones.</p>	<p>Equipo: Elecsys y cobas e inmunoensayo</p>	<p>Detección de la ausencia o presencia de los anticuerpos IgM e IgG.</p>	<p>Técnica: Método cualitativo electroquimio-luminiscencia</p> <p>Instrumento: Equipo: Elecsys y cobas e inmunoensayo</p>
<p>Variable Dependiente</p> <p>Toxoplasmosis en el embarazo</p>	<p>Enfermedad parasitaria de transmisión vertical producida por <i>Toxoplasma gondii</i>. Infección aguda, reciente o reactivada.</p>	<p>Resultados cualitativos Positivo o Negativo</p>	<p>Detección de la ausencia o presencia de los anticuerpos IgM e IgG.</p>	<p>Técnica: Método cualitativo electroquimio-luminiscencia</p> <p>Instrumento: Equipo: Elecsys y cobas e inmunoensayo</p>

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO.

3.1 MÉTODOS.

Método deductivo: Este método nos ayudara a determinar las causas y consecuencias que va a producir, a través del método cualitativo como la Electroquimioluminiscencia.

Método inductivo: Este método nos ayudara a determinar las causas y consecuencias que originan en la detección temprana de la toxoplasmosis.

3.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN.

La investigación fue del tipo transversal, ya que tuvo un principio y un final, la cual se realizó en una muestra de 178 mujeres embarazadas de la ciudad de Guaranda. La Toxoplasmosis se diagnosticó detectando los anticuerpos específicos IgG e IgM contra el *Toxoplasma gondii* mediante la técnica de Electroquimioluminiscencia (ECL).

3.3 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.

De campo: Ya que la investigación se llevara a cabo en un determinado lugar en donde el investigador y la muestra están realmente en contacto para que se pueda estudiar minuciosamente cada una de las características del fenómeno.

No experimental: El estudio de la detección temprana de toxoplasmosis mediante la utilización de la técnica de Electroquimioluminiscencia se realizara dentro del laboratorio del Hospital General Alfredo Noboa Montenegro de la ciudad de Guaranda, provincia de Bolívar, se construye en la variable de estudio la misma será observada tal como se da indicara en el protocolo, y será sujeta a manipulación por parte del investigador, siempre y cuando cuente con el debido conocimiento de las respectivas normas de bioseguridad en el laboratorio.

3.4 POBLACIÓN Y MUESTRA.

3.4.1 Población.

La población de estudio comprendió a 178 mujeres embarazadas, que acudieron al control prenatal en el Hospital General Alfredo Noboa Montenegro de la ciudad de Guaranda, provincia de Bolívar, durante los meses de Octubre de 2013 hasta Mayo de 2014, de acuerdo con los siguientes criterios:

3.4.2 Muestra.

En esta investigación se trabajó 178 muestras de sangre las cuales se obtuvieron de las pacientes que acudieron al control prenatal en el Hospital General Alfredo Noboa Montenegro, para su posterior análisis, en el cual se va a detectar la toxoplasmosis.

3.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS.

Esta investigación, consideró a las mujeres que acudían al control prenatal en el Hospital General Alfredo Noboa Montenegro de la ciudad de Guaranda, a las cuales se les aplicó una prueba de Electroquimioluminiscencia (es una técnica cualitativa) en sangre para determinar la presencia de anticuerpos IgG / IgM,

3.6. TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

Las técnicas que se utilizaron son tabulaciones representadas en cuadros estadísticos, gráficos, para su posterior análisis e interpretación y se interpreta los resultados mediante la observación de la reacción Ag- Ac, dando como resultado una concentración.

CAPÍTULO IV

4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

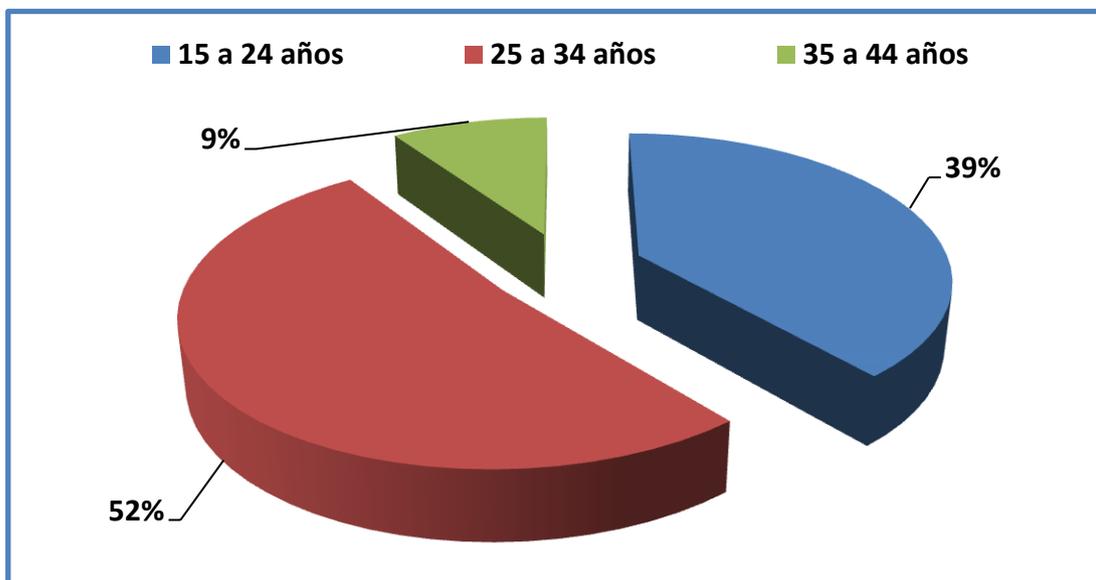
TABLA N° 4. 1 POBLACIÓN OBJETO DEL ESTUDIO POR EDADES.

Población por edades	Frecuencia	Porcentaje
15 a 24 años	69	39 %
25 a 34 años	92	52 %
35 a 44 años	17	9 %
Total	178	100 %

Fuente: Investigación propia.

Elaborado por: Mayra Alexandra Yumi Remache.

GRÁFICO N° 4. 1 REPRESENTACIÓN DE LA POBLACIÓN OBJETO DEL ESTUDIO POR EDADES.



Fuente: Investigación propia.

Elaborado por: Mayra Alexandra Yumi Remache.

Análisis e interpretación: En la tabla 1, podemos apreciar que la edad fluctúa entre 15 y 44 años y el promedio de edad para la muestra investigada es de 29,5 años.

Se destaca el mayor porcentaje (52 %) en el segmento etario de 25 a 34 años, seguido por las mujeres comprendidas entre los 15 y 24 años (39 %) y, por último las mujeres entre los 35 y 44 años (9 %).

Los datos encontrados en el estudio de Torres, (2007) en Valledupar (Colombia) en cuanto a la edad son similares (20 a 30 años), aunque hay un grupo considerable de mujeres menores de 20 años y muchas de ellas están entre los 13 y 16 años. Esta información permite inferir que la edad es fluctuante en la positividad.

Como es bien sabido el *Toxoplasma gondii* no tiene predilección por la edad, la falta de experiencia o por la educación que se tenga en el tema; pero evidentemente, las personas son más propensas a entrar en contacto, cuando existen factores de riesgo.

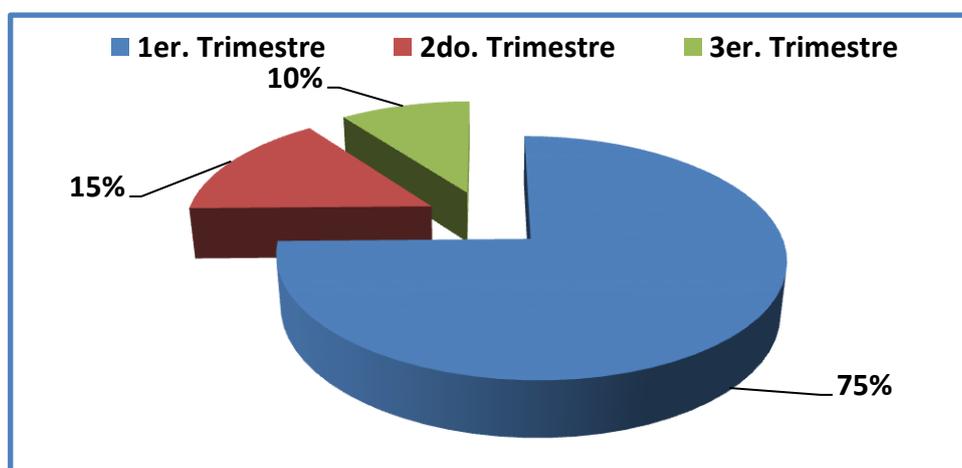
TABLA N° 4. 2 POBLACIÓN OBJETO DEL ESTUDIO POR PERÍODO DE GESTACIÓN.

Período de gestación	Frecuencia	Porcentaje
1er. Trimestre	133	75 %
2do. Trimestre	27	15 %
3er. Trimestre	18	10 %
Total	178	100 %

Fuente: Investigación propia.

Elaborado por: Mayra Alexandra Yumi Remache.

GRÁFICO N° 4. 2 REPRESENTACIÓN DE LA POBLACIÓN OBJETO DEL ESTUDIO POR PERÍODO DE GESTACIÓN.



Fuente: Investigación propia.

Elaborado por: Mayra Alexandra Yumi Remache.

Análisis e interpretación: En lo que respecta a las semanas de gestación, oscilan entre 4 y 40 semanas. Las muestras tienen un promedio de gestación de 22 semanas. Esta variable por sí misma, no puede incidir en la prevalencia de los casos positivos de Toxoplasmosis, ya que la mayor población (133 mujeres) está representada por el 75 % de la población.

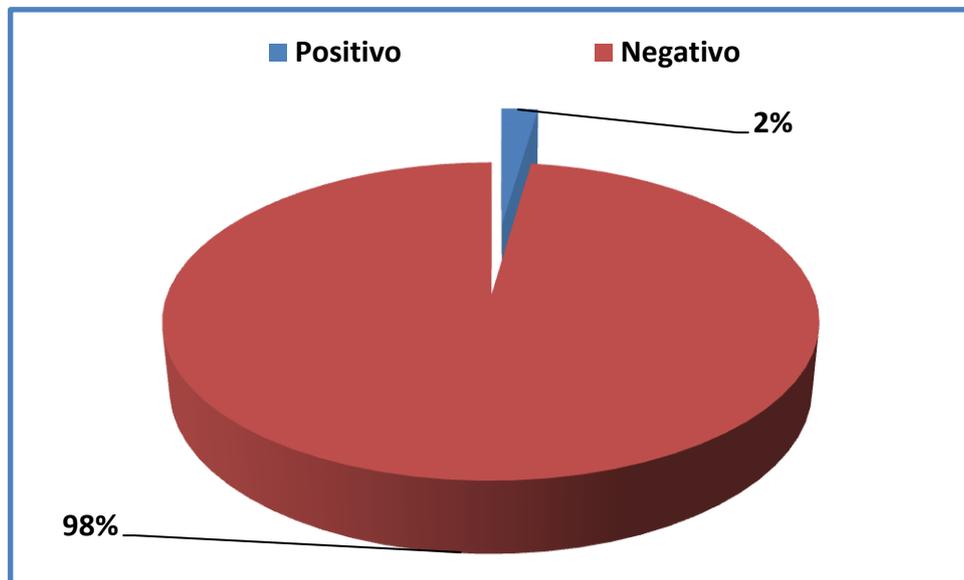
TABLA N° 4. 3 POBLACIÓN AFECTADA POR TOXOPLASMA GONDII.

Toxoplasma gondii	Frecuencia	Porcentaje
Positivos	4	2 %
Negativos	174	98 %
Total	178	100 %

Fuente: Investigación propia.

Elaborado por: Mayra Alexandra Yumi Remache.

GRÁFICO N° 4. 3 REPRESENTACIÓN DE LA POBLACIÓN AFECTADA POR TOXOPLASMA GONDII.



Fuente: Investigación propia.

Elaborado por: Mayra Alexandra Yumi Remache.

Análisis e interpretación: En la tabla 3 se observa que de las 178 gestantes estudiadas, se encontraron 4 casos positivos para anti-toxoplasma IgG e IgM y 174 casos negativos. NO hubo casos de resultados indeterminados.

Estos datos nos indican una prevalencia del 2 % de anti-toxoplasma IgG e IgM positivos, 98 % de anti-Toxoplasma IgG e IgM negativos y 0 % de anti-Toxoplasma IgG e IgM indeterminados. La presencia del 2 % de anti-Toxoplasma IgG e IgM positivos de esta población, indicativo de que estas gestantes han tenido contacto previo con el parásito.

Estos porcentajes de prevalencia, se enmarcan en los rangos encontrados por Narváez (2012), para diferentes regiones ecuatorianas. Así por ejemplo González (1987), en la República del Ecuador demostró una seroprevalencia humana del 40 al 50 % de portadores sanos; sin embargo, en un estudio en mujeres embarazadas en el primer trimestre de la maternidad, se encontró por Mayorga (2008) una prevalencia del 71,4 % mediante el método ELISA.

4.1. COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS.

H_i: La eficacia de la técnica de electroquimioluminiscencia nos ayudara en la detección temprana de toxoplasmosis en mujeres gestantes que acuden al control prenatal en el Hospital General Alfredo Noboa Montenegro de la ciudad de Guaranda en el periodo comprendido entre diciembre 2013 a mayo 2014.

H_o: La eficacia de la técnica de electroquimioluminiscencia no ayudo en la detección temprana de toxoplasmosis en mujeres gestantes que acuden al control prenatal en el Hospital General Alfredo Noboa Montenegro de la ciudad de Guaranda en el periodo comprendido entre diciembre 2013 a mayo 2014.

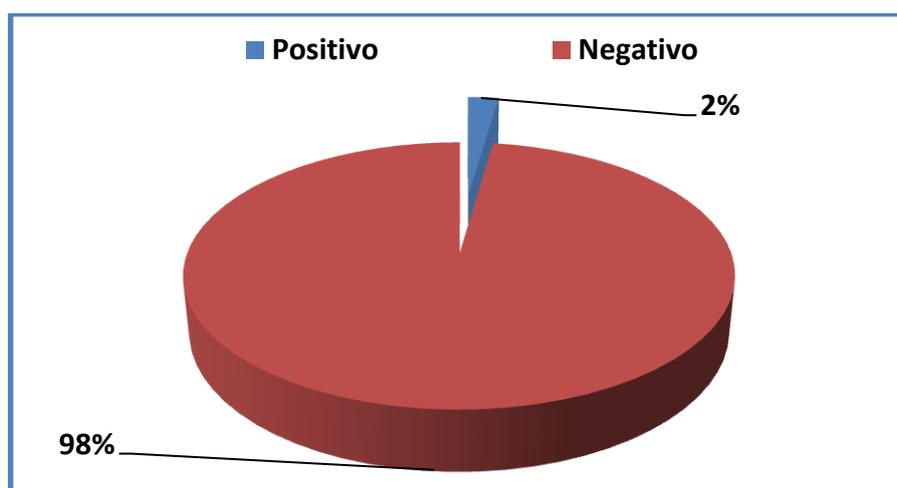
TABLA N° 4. 4 POBLACIÓN AFECTADA POR TOXOPLASMA GONDII.

Toxoplasma gondii	Frecuencia	Porcentaje
Positivos	4	2 %
Negativos	174	98 %
Total	178	100 %

Fuente: Investigación propia.

Elaborado por: Mayra Alexandra Yumi Remache.

GRÁFICO N° 4. 4 REPRESENTACIÓN DE LA POBLACIÓN AFECTADA POR TOXOPLASMA GONDII.



Fuente: Investigación propia.

Elaborado por: Mayra Alexandra Yumi Remache.

INTERPRETACIÓN

De 178 muestras de sangre (suero) con las que se trabajó se procedió a detectar la presencia de los anticuerpos IgM e IgG dándonos como resultado que 4 pacientes resultaron positivos correspondiendo al 2% mientras que 174 dieron como resultado negativo que en porcentaje equivale al 98%

CONCLUSIÓN

Al concluir con este trabajo investigativo se pudo detectar la presencia o ausencia de los anticuerpos Anti-*Toxoplasma gondii* (IgG) y anticuerpos Anti-*Toxoplasma gondii* (IgM) mediante el método cualitativo de electroquimioluminiscencia obteniendo resultados confiables y eficaces que fueron el 2% positivos y el restante que es el 98% negativos por lo tanto se comprueba la hipótesis.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

5.1. CONCLUSIONES.

- Mediante la correcta investigación a través de medios tecnológicos actuales y avanzados se logró conocer y adquirir los conocimientos acerca de la reacción del protozoo *Toxoplasma gondii* en el organismo del ser humano.
- Se pudo determinar la presencia del de anticuerpos *Anti-Toxoplasma gondii* (IgG) y anticuerpos *Anti-Toxoplasma gondii* (IgM) utilizando la técnica cualitativa confiable y lineal como lo es la electroquimioluminiscencia obteniendo resultados muy satisfactorios para el estudio de este protozoo y el daño que causa en las personas.
- Utilizando el método cualitativo de electroquimioluminiscencia se realizó el estudio de las 178 muestras de sangre (suero) aplicando el procedimiento correcto desde la toma de muestra, el pipeteo, y la colocación en el equipo obteniendo como resultados que el 2% resultaron positivos, mientras que el 98% dieron como resultados negativos, verificando con esto la eficacia de la técnica.

5.2. RECOMENDACIONES.

- Se recomienda a las mujeres en período de gestación, realizarse controles periódicos para evitar complicaciones y posibles infecciones durante el periodo gestante.
- Recomendar a los profesionales médicos, solicitar la determinación de inmunoglobulinas anti-*Toxoplasma* en gestantes, educar en la prevención de esta patología y, diagnosticar y aplicar el tratamiento oportuno.
- Las mujeres embarazadas, deben mejorar los hábitos de higiene antes y durante el embarazo, no ingerir carne cruda o poco cocida, tomar agua potable, desinfectar adecuadamente los vegetales y frutas, evitar el contacto con gatos y otros animales domésticos y, utilizar medidas de

protección como la utilización de guantes para trabajos de limpieza y jardinería.

BIBLIOGRAFÍA

- ALARCÓN B., ROMERO J. y SÁNCHEZ E. (2010) Despistaje de toxoplasmosis y enfermedad de Chagas en la consulta prenatal del Hospital Universitario de Caracas. Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela.
- ALVARADO, SIFUENTES, ESTRADA, y ROJAS. (2011) Enfermedades causadas por parásitos.
- ÁLVAREZ, MARTÍNEZ, MORENO, LORENTE, y CRESPO. (2008) Parasitología Humana
- BARRIOS T., PALMERO M. A., RODRÍGUEZ R. y RODRÍGUEZ S. (2008) Uveítis posterior por *Toxoplasma gondii*: a propósito de un caso. Obstet Ginecol Venez.
- BECERRIL, M. Parasitología Médica. McGraw Hill. 2011.
- BOTERO D. y RESTREPO M. (2010) Toxoplasmosis: En Parasitosis Humana. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas.
- CALDERARO A., PERUZZI S., PICCOLO G., MONTECCHINI S., ROSSI S., CHEZZI C. y otros. (2009) Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection. International Journal of Medical Sciences.
- CANALES M., NAVIA F., TORRES M., CONCHA M., GUZMÁN A., PÉREZ C. y OTROS. (2010) Evaluación de un test comercial de avidéz de IgG: Aporte al diagnóstico de primoinfección por *Toxoplasma gondii*. Revista Chilena de Infectología.
- DURLANCH, KAUFER, CARRAL y FREULE. (2008). Toxoplasmosis.
- FAUCI A., BRAUNWALD E., y KASPER D. HARRISON (2009) Principios de Medicina Interna. México: McGraw-Hill.
- FIGUEIRO-FILHO E., LÓPEZ A., SENE FONTE Y DE ALMEIDA F. FIGUEIRO-FILHO E. A., LÓPEZ A. H., SENE FONTE DE ALMEIDA F. R., ET AL. (2009)

Acute toxoplasmosis: study of the frequency, vertical transmission rate and the relationship between maternal-fetal diagnostic tests during pregnancy in a Central- Western State of Brazil. *Rev Bras Ginecol Obstet*.

GAETE B., ESTAY A., y MESA T. (2011) Hidranencefalia en un recién nacido por toxoplasmosis congénita. *Revista Chilena de Pediatría*.

GARCÍA-SEGURA J. M. y Col. (2002) Métodos Radioinmunométricos. *Técnicas instrumentales de análisis en Bioquímica*. Madrid: Síntesis.

GIANNOULIS C., ZOURNATZI B., GIOMISI A., DIZA E. y TZAFETTAS I. (2008) Toxoplasmosis during pregnancy: a case report and review of the literature. *Hippokratia*.

GILBERT R. (2000) Epidemiology of infection in pregnant women. In: *Congenital toxoplasmosis Scientific Background, Clinical management and Control*. Chateau-Gontier, France: E Peterson.

GILBERT R., BUFFOLANO W., PETERSEN E., FOULO, W. y SEMPRINE A. (2000) Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. *BMG articles*.

GÓMEZ J., DE LA TORRE A., MULLER E., RUBIO J., ARENAS J., OSORIO E. y otros. (2011) First Colombian Multicentric Newborn Screening for Congenital Toxoplasmosis. *Neglected Tropical Diseases*.

GREENE. (2008) Use of recombinant antigens for early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis.

JOST C., TOUAFEK F., COURTIN R., RIBEIRO M., MAZIER D. y PARIS L. (2011) Utility of Immunoblotting for Early Diagnosis of Toxoplasmosis Seroconversion in Pregnant Women. *Clinical and Vaccine Immunology*.

LOPEZ M, (2012) *Parasitosis Guías Clínicas*.

LORA F., ARICAPA J. y PÉREZ J. (2007) Detección de *Toxoplasma gondii* en carnes de consumo humano por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tres ciudades del eje cafetero. *Infectología Bogotá* vol 11.

MAYORGA B. (2008) Serodiagnóstico mediante IgG, IgM e IgA ELISA de toxoplasmosis en mujeres en el primer trimestre de embarazo del Hospital Gineco Obstétrico Isidro Ayora de la ciudad de Quito en octubre del 2008. Quito, Pichincha, Ecuador.

MCLEOD R., KIEFFER F., SAUTTER M., HOSTEN T. y PELLOUX H. (2009) Why prevent, diagnose and treat congenital toxoplasmosis. Nih Public Acces.

REIS M. (2001) Diagnóstico de la toxoplasmosis congénita. *Revista Cubana Invest Biomed*.

REMYINGTON J., MCLEOD R. y DESMONTS G. (2011) *Toxoplasmosis* (5th ed.). Philadelphia: JO Editores.

ROC M., PALACIÁN M., LOMBA E., MONFORTE M., REBAJE V., REVILLO M. y otros. (2010) Diagnóstico serológico de los casos de toxoplasmosis congénita. *Dialnet*.

ROSSO, AGUDELO, ISAZA y MONTOYA. (2007). Use of a single serum toxo.

SÁNCHEZ, DÍAZ, GARCÍA, RALEIGH, y PALMA. (2008). Diagnosis of congenital toxoplasmosis.

TAMAYO, TAYUPANTA, TOBAR, VACACELA, VALLE y VASCONEZ. (2009).

SITIOS WEB

- ✓ <http://www.roche.es/content/dam/Assets/Diagnostic/Spain/images/download/D%C3%DAptico%20cobas%20e411%28web%29%20%282%29.pdf>
- ✓ <http://www.elergonomista.com/biologiasselectividad/sb08.html>
- ✓ http://es.wikipedia.org/wiki/Reacci%C3%B3n_ant%C3%ADgeno-anticuerpo
- ✓ http://es.wikipedia.org/wiki/Embarazo_humano

ANEXOS

CONSENTIMIENTO INFORMADO.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO (UNACH)

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO.

TESINA DE GRADO

“Eficacia de la técnica de electroquimioluminiscencia en la detección temprana de toxoplasmosis en mujeres gestantes que acuden al Hospital General Alfredo Noboa Montenegro de la ciudad de Guaranda en el período comprendido entre Diciembre 2013 a Mayo de 2014”.

El investigador:

Señora: Muchas mujeres pueden tener enfermedades durante el embarazo y no haber presentado molestia alguna; sin embargo la falta de tratamiento, puede causar problemas en usted y ocasionar graves infecciones en su hijo al momento del nacimiento. Para poder saber si usted tuvo o tiene estas enfermedades, se requieren de pruebas especiales, para lo cual es necesario que se le tome una muestra de sangre.

Esta muestra será estudiada después con procedimientos especiales de laboratorio. En caso de que alguna de sus muestras resulte positiva, el resultado será entregado a su médico tratante para que usted reciba el tratamiento oportuno y específico.

Invitación: Es posible que usted tenga una infección y que no haya presentado síntomas o que hayan pasado por desapercibido; pero que hoy pueden causar daños en usted o en su hijo. Para conocer si es así, le invitamos a participar en un proyecto de investigación para determinar la presencia de esta infección causada por un parásito llamado toxoplasma que puede causarle daño a usted y a su hijo.

Que se le solicita que usted haga: Si es que usted voluntariamente decide participar, usted deberá autorizarnos tomar una muestra de sangre en cantidad de un tubo, para que sean sometidas a un proceso de diagnóstico especial que permita identificar al parásito que puede estar infectando. Su participación en la investigación, no implica gastar su tiempo más que el necesario para el examen diagnóstico habitual.

Riesgos: El pinchazo para la toma de la muestra de sangre podría causar un poco de dolor y/o un pequeño hematoma.

Beneficios: Es posible que esta investigación determine la presencia de la infección por toxoplasmosis causantes de problemas en su organismo y potenciales complicaciones para su hijo.

Su participación en este estudio, podría ofrecerle mejores posibilidades de tener un diagnóstico rápido y oportuno y así evitar problemas para usted y su hijo al momento del nacimiento.

Si esta infección está presente, los médicos le indicarán un tratamiento para combatirla y evitar graves secuelas para usted y su hijo.

Esta investigación podría ayudarnos a tener un mejor conocimiento de la frecuencia de esta infección que causa daños en los neonatos de las madres gestantes infectadas de la provincia Imbabura.

Costos: Todos los exámenes especiales que se le van a realizar, para ver si usted está infectada, NO tienen costo alguno para usted.

Confidencialidad: Su nombre será manejado confidencialmente. Un número de código será usado a partir de este momento para proteger su identidad.

Los datos obtenidos de esta investigación serán mantenidos bajo llave, en la oficina del investigador.

Voluntario: Su participación es absolutamente voluntaria.

Paciente:

Yo _____ he leído y/o escuchado con atención, los exámenes que se realizarán en mi sangre, para conocer si estoy infectada o no por toxoplasmosis capaces de causarme daño a mi o a mi hijo. Durante el examen se tomarán unas pequeñas muestras en las cuales se realizarán pruebas especiales para determinar la presencia de esta infección. Si esta infección está presente, los investigadores comunicaran a mi médico tratante los resultados y se me indicará un tratamiento para combatirla y que no afecte a mi hijo.

Yo autorizo libremente que se realicen los procedimientos indicados. También me siento libre de seguir o no las indicaciones o tratamientos que se establezcan. Mi firma o huella al final indica, que he leído y/o escuchado y entendido, toda la información arriba explicada.

FOTOGRAFÍAS DE LA INVESTIGACIÓN.



Fuente: Investigación propia.

Elaborado por: Mayra Alexandra Yumi Remache.



Fuente: Investigación propia.

Elaborado por: Mayra Alexandra Yumi Remache.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST ELECSYS TOXO IGM (ROCHE).

Uso previsto

Inmunoensayo para la determinación cuantitativa in vitro de anticuerpos IgM contra *Toxoplasma gondii* en suero humano y Li-heparina, K3-EDTA y citrato de sodio en plasma. La prueba está diseñada para su uso como ayuda en la evaluación del estado inmunológico y como ayuda en el diagnóstico de la infección por *Toxoplasma gondii*.

El "ECLIA" inmunoensayo de electroquimioluminiscencia es para uso en Elecsys y cobas e inmunoensayo.

Almacenamiento y estabilidad

Estabilidad del reactivo Rack Pack sin abrir a 2-8 ° C hasta la fecha de caducidad después de abrir a 2-8 ° C 12 semanas en MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 y cobas e 2 semanas o 12 semanas si almacenan alternativamente en el refrigerador y en los analizadores (no más de un total de 84 horas. inaugurará el analizador)

Estabilidad de los calibradores después de abrir a 2-8 ° C 8 semanas en Elecsys 2010 y E 411 a 20-25 ° C hasta 5 horas cobas en MODULAR ANALYTICS E170, cobas e 601 y cobas e 602 utilizarse una sola vez y almacenar a 2-8 ° C.

Guarde el kit de reactivos Cobas Toxo IgM en posición vertical para garantizar la disponibilidad total de las micropartículas durante la mezcla automática antes del uso. Almacene los calibradores de pie! No lo congele. Asegúrese de que no hay solución de calibración está atrapado en el complemento tapa abierta.

Calibración

Trazabilidad: Este método ha sido estandarizado frente al tercero la norma internacional para el suero anti-Toxoplasma (TOXM) de NIBSC, Reino Unido.

Cada reactivo Toxo IgM Cobas e411 tiene un código de barras que contiene información específica para la calibración del lote de reactivos. La curva maestra predefinida está adaptada al analizador usando el Toxo IgM Cal1 y Cal2.

Calibración de frecuencia: La calibración debe realizarse una vez por lote de reactivos mediante el Toxo IgM Cal1, Cal2 y reactivo nuevo (es decir, no más de 24 horas desde que el equipo de reactivos se registró en el analizador).

Se recomienda repetir la calibración de la siguiente manera:

- ✓ Después de 1 mes (28 días) cuando se utiliza el mismo lote de reactivos.
- ✓ Después de 7 días (cuando se utiliza el mismo estuche de reactivos en el analizador) según sea necesario: por ejemplo, resultados de control de calidad con Toxo IgM PreciControl fuera de los límites definidos con mayor frecuencia cuando esta es requerida por las normas pertinentes

Límites y rangos.

Rango de medición: 0,175-650 UI / mL (definido por el límite de detección y el máximo de la curva maestra). Los valores por debajo del límite de blanco, se reportan como <0,130 UI / mL. Los valores superiores al límite de blanco, pero por debajo del límite de detección no serán marcados por el instrumento. Los valores por encima del rango de medición se indican como > 650 UI / ml.

La dilución no se recomienda para el ensayo Toxo IgM Elecsys.

Límites inferiores de medida.

Límite de blanco (LOB) y límite de detección (LD).

Determinado de acuerdo con los requisitos del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) EP17-A.