UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
"Dr. Alejo Lascano Bahamonde"
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES MÉDICAS

1877 - 2007

Secretaria
Recibido
6/02/2014

Guayaquil, 4 de febrero de 2014

Doctora
Rosario Zambrano Bonilla
DIRECTORA DE LA ESCUELA DE GRADUADOS
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Presente.

En calidad de revisor del trabajo de tesis **"PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EN MÉDICOS VETERINARIOS QUE LABORAN EN CLÍNICAS, CONSULTORIOS Y CENTROS DE RESCATE EN ANIMALES. QUITO, 2012.** "elaborado por el Dr. Santiago David Correa Auqui, como requisito obligatorio para optar por el grado académico de Magister en Microbiología, mención Biomédica, considero que dicha tesis reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometida a sustentación ante el tribunal correspondiente que se designe.

Mucho agradeceré a usted se realice el trámite de sustentación.

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE GRADUADOS
FECHA: 04 FEB. 2014
HORA: 5H00
RECIBIDO POR: Sadia

Atentamente,

Dr Angel Ortiz A.
DIRECTOR
Instituto de Investigaciones Médicas

Dr. Angel Ortiz
Revisor de Tesis

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Instituto de Investigaciones Médicas
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

Copia: archivo

Universidad de Guayaquil - Instituto Nacional de Investigaciones en Salud Pública

Programa de Postgrado Microbiología Avanzada
Maestría en Microbiología

CARTA DE APROBACIÓN

En calidad de Tutor del Trabajo de Tesis "**PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EN MÉDICOS VETERINARIOS QUE LABORAN EN CLÍNICAS, CONSULTORIOS Y CENTROS DE RESCATE EN ANIMALES. QUITO, 2012** "elaborado por el **Dr. Santiago David Correa Auqui**, como requisito obligatorio para optar por el Título Magister en Microbiología, mención Biomédica, considero que dicha Tesis reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometida a sustentación ante el Tribunal correspondiente.

DR. JUAN CARLOS RUIZ CABEZAS

DIRECTOR DE TESIS

C.C. # 0908775307

Instituto Nacional
de Investigación
en **Salud Pública INSPI**

PROCESO DE ZOONOSIS

CERTIFICADO

Certifico que el señor SANTIAGO DAVID CORREA AUQUI con cédula de identidad No. 1713628202 estudiante de la Maestría en Microbiología de la Universidad Estatal de Guayaquil ejecutó el trabajo investigativo práctico del Proyecto de Tesis "DETERMINAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTITOXOPLASMA GONDII EN MEDICOS VETERINARIOS QUE LABORAN EN CLINICAS, CONSULTORIOS Y CENTROS DE RESCATE EN QUITO, AÑO 2012" en el Laboratorio de Microbiología de Salud Animal del Instituto Nacional de Higiene Región Norte "Leopoldo Izquieta Pérez", hoy Instituto Nacional de Investigaciones en Salud Publica INSPI durante el mes de octubre del 2012 período en el cual realizó su tesis de grado .

Quito, Septiembre 30 del 2014

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE GRADUADOS
FECHA 08 OCT. 2014
HORA 11:25
RECIBIDO POR

Dr. Gustavo Salgado Jijón

COORDINADOR DEL LABORATORIO DE ZOONOSIS

INSPI-QUITO

Panamericana Sur Km 12 ½ entrada al Beaterio Junto a PetroEcuador (SECTOR EL BEATERIO)
TELF: 2690-749 / 2690-806
CORREO: lab_vet_izquieta_perez@hotmail.com

Public Health Institutes of the World
IANPHI
MEMBER

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

MAESTRÍA EN MICROBIOLOGÍA MENCIÓN EN BIOMÉDICA

TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OPTAR POR EL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN MICROBIOLOGÍA, MENCIÓN BIOMÉDICA

PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EN MÉDICOS VETERINARIOS QUE LABORAN EN CLÍNICAS, CONSULTORIOS Y CENTROS DE RESCATE DE ANIMALES. QUITO, 2012.

Autor: Dr. Santiago David Correa

Tutor: Dr. Juan Carlos Ruiz Cabezas

GUAYAQUIL – ECUADOR

2014

AUTORIA

Yo, Santiago David Correa Auqui, soy responsable de las ideas, resultados y propuestas expuestas en el presente trabajo de investigación y los derechos de autoria pertenecen a la Universidad de Guayaquil.

Autor

Santiago Correa

C.I. 1713628202

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación está dedicado a mis padres y mis hermanos quienes me brindaron todo su apoyo, afecto, amor y su tiempo.

A mi novia Mercedes, mis amigos y todas las personas que directa o indirectamente me apoyaron para culminar con éxito este trabajo.

AGRADECIMIENTO

La elaboración de la presente investigación conllevó largas jornadas de trabajo con esfuerzo y sacrificio de muchas personas a los cuales deseo agradecer

Mi más sincero agradecimiento a las autoridades y profesores del Programa de Postgrado de la Universidad Guayaquil y a la Escuela de Graduados de la Facultad de Medicina los cuales me brindaron su apoyo incondicional para la ejecución del presente proyecto.

A los doctores del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública quienes me brindaron su apoyo para la realización de la presente investigación.

A mi Director de Tesis Dr. Juan Carlos Ruiz quien con su paciencia tolerancia y apoyo me oriento para culminar el presente trabajo investigativo.

A mis amigas y amigos que siempre me estuvieron apoyando

INDICE GENERAL

	pág.
1. INTRODUCCIÓN	**1**
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	**2**
1.2. OBJETIVOS	**4**
1.2.1. OBJETIVO GENERAL	**4**
1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	**4**
1.3. HIPÓTESIS	**5**
2. MARCO TEÓRICO	**6**
2.1. TOXOPLASMOSIS	**6**
2.1.1 ETIOLOGÍA	**7**
2.1.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	**7**
2.1.3 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *Toxoplasma gondii*	**8**
2.1.4. CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS	**8**
2.1.4.1. Morfología	**8**
2.1.4.2. Ooquistes	**9**
2.1.4.3. Bradizoito	**9**
2.1.4.4. Taquizoito	**10**
2.1.5. CICLO BIOLÓGICO	**10**
2.1.5.1. Ciclo en el hospedador directo	**10**
2.1.5.2. Ciclo en el hospedador intermediario	**12**
2.2.HOSPEDADORES DE *Toxoplasma gondii*	**13**
2.2.1. HOSPEDADORES INTERMEDIARIOS	**13**

2.2.2.HOSPEDADOR DEFINITIVO **13**

2.3.VÍAS DE TRANSMISIÓN Y MECANISMOS DE INFECCIÓN **13**

2.3.1. Oral **14**

2.3.2. Transplacentaria **14**

2.3.3. Sanguínea **14**

2.4. FORMAS CLÍNICAS DE PRESENTACIÓN EN HUMANOS **14**

2.4.1.TOXOPLASMOSIS AGUDA ADQUIRIDA EN EL PACIENTE INMUNOCOMPETENTE **15**

2.4.2.TOXOPLASMOSIS EN PACIENTE INMUNODEFICIENTE **16**

2.4.2.1. Infección primaria severa **16**

2.4.2.2. Infección crónica o reactiva **16**

2.4.3.TOXOPLASMOSIS OCULAR **16**

2.4.4.TOXOPLASMOSIS CONGÉNITA **17**

2.5.FORMAS CLÍNICAS DE PRESENTACIÓN EN ANIMALES **17**

2.6. DIAGNÓSTICO **19**

2.6.1.MÉTODOS SEROLÓGICOS **19**

2.6.1.1. Sabin Feldman **19**

2.6.1.2. Inmunofluorescencia indirecta (IFI) **20**

2.6.1.3. Reacción de fijación del complemento (RFC) **20**

2.6.1.4. Hemoaglutinación indirecta (HAI) **20**

2.6.1.5. Prueba de inmunoabsorción y aglutinación (ISAGA) **21**

2.6.1.6. Aglutinación en látex **21**

2.6.1.7.ELISA **22**

2.6.1.8. Prueba intradérmica de toxoplasmina **22**

2.6.2.MÉTODOS DIRECTOS **23**

2.6.2.1. Examen histopatológico **23**

2.6.2.2. Inoculación al ratón 24

2.6.2.3. Cultivo celular 24

2.6.2.4. Prueba molecular 24

2.6.3.EVASIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE 25

2.7.RESPUESTA INMUNE 25

2.7.1. RESPUESTA CELULAR 26

2.7.2. RESPUESTA HUMORAL 27

2.8.TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN 29

2.9.EPIDEMIOLOGÍA 32

3.MATERIALES Y MÉTODO 35

3.1. LUGAR Y PERIODO DEL ESTUDIO 35

3.2. DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN 35

3.3 UNIVERSO 35

3.4. TAMAÑO MUESTRAL 35

3.5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN 36

3.5.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN 36

3.5.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN 36

3.6. MANEJO DE LA INVESTIGACIÓN 36

3.6.1.ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES 37

3.6.2. FLUJO DE LA INVESTIGACIÓN 37

3.6.2.1. Muestreo 37

3.6.2.2. Manejo de las muestras 37

3.6.2.3. Procesamiento de las muestras 37

3.6.2.4. Pocesamiento estadístico 38

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN **39**

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES **49**

5.1 CONCLUSIONES **49**

5.2 RECOMENDACIONES **50**

6. BIBLIOGRAFÍA **51**

7. ANEXOS **61**

8. GLOSARIO **79**

INDICE DE ANEXOS

pág.

1. FLUJOGRAMA	**60**
2. REGISTRO DEL MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA	**61**
3. CONSENTIMIENTO INFORMADO	**65**
4. AUTORIZACIÓN DEL INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA	**66**
5. FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS	**67**
6. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	**68**
7. PROCEDIMIENTOS DE LAS MUESTRAS PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgG e IgM ANTI-*Toxoplasma gondii*	**69**
7.1. ESQUEMA DEL ENSAYO	**73**
7.2. PROTOCOLO DE PROCESAMIENTO	**74**
8. BASE DE DATOS PRIMARIOS	**75**

ÍNDICE DE TABLAS

pág.

1. **PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI –*Toxoplasma gondii* EN MÉDICOS VETERINARIOS QUE LABORAN EN CLÍNICAS, CONSULTORIOS Y CENTROS DE RESCATE DE ANIMALES.** **39**
2. **PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI – *Toxoplasma gondii* IgG / IgM ESTABLECIDOS MEDIANTE ELISA** **41**
3. **DISTRIBUCIÓN DE CASOS SEROPOSITIVOS PARA *Toxoplasma gondii* DE ACUERDO AL GÉNERO** **43**
4. **DISTIRBUCIÓN DE CASOS SEROPOSITIVOS PARA *Toxoplasma gondii* DE ACUERDO AL TIEMPO DE EXPOSICIÓN LABORAL** **45**
5. **SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI –*Toxoplasma gondii* SEGÚN EL TIPO DE ANTICUERPOS** **47**

ÍNDICE DE GRÁFICOS

pág.

1. **PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI –*Toxoplasma gondii* EN MÉDICOS VETERINARIOS QUE LABORAN EN CLÍNICAS, CONSULTORIOS Y CENTROS DE RESCATE DE ANIMALES.** **40**
2. **PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI – *Toxoplasma gondii* IgG / IgM ESTABLECIDOS MEDIANTE ELISA** **42**
3. **DISTRIBUCIÓN DE CASOS SEROPOSITIVOS PARA *Toxoplasma gondii* DE ACUERDO AL GÉNERO** **44**
4. **DISTIRBUCIÓN DE CASOS SEROPOSITIVOS PARA *Toxoplasma gondii* DE ACUERDO AL TIEMPO DE EXPOSICIÓN LABORAL** **46**
5. **SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI –*Toxoplasma gondii* SEGÚN EL TIPO DE ANTICUERPOS** **48**

RESUMEN

Se determinó la presencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en 132 muestras de médicos veterinarios que laboran en clínicas, consultorios y centros de rescate de animales en Quito, 2012 en un estudio observacional prospectivo. Por medio del método de ELISA se detectaron los casos seropositivos IgG, IgM y sus asociaciones, se analizaron de acuerdo al género y tiempo de exposición laboral. Se obtuvo presencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* de 79.55%. De IgG la seroprevalencia fue de 72.73% y de IgM 6,82%. El 3.01% de profesionales que participaron en el estudio tienen positividad con ambos tipos de anticuerpos. La seropositividad total de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* fue mayor en hombres (55.24%) que en mujeres (44.76%). La seropositividad de anticuerpos anti- *Toxoplasma gondii* en grupos de exposición fue mayor en la de 1 a 5 años con 56.19% y fue disminuyendo progresivamente hasta de 31 a 35 años con un 0.95%, esto puede ser porque el inicio de la profesión es a partir de los 25 años.

En hombres la distribución de casos seropositivos de anticuerpos IgG fue 50.47%, de IgM fue 4.76% y para ambos tipos de anticuerpos fue de 1.90%, mientras que en mujeres las seropositividad para IgG fue 40.95%, IgM 3.81% y para la asociación IgG e IgM fue 1.90%.

De acuerdo al tiempo de exposición laboral de 105 muestras seropositivas se obtuvo 59 casos (56.19%) del grupo de 1 a 5 años con 53 casos (55.21%) para IgG, para IgM 6 casos (66.67%) y para ambos tipos de anticuerpos 4 casos (100.00%).

PALABRAS CLAVES: ***Toxoplasma gondii*, anticuerpos específicos, médicos veterinarios, ELISA, Quito**

SUMMARY

This study determined the presence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in 132 samples of veterinarians doctors who work in clinics, consultories y animals rescue centers in Quito, In 2012 one study prospective observational. For medium of method of ELISA is detected the cases seropositive IgG, IgM and its associations, was analyzed of according the genre and time of laboral exposition. Was obtained oneantibodies *Toxoplasma gondii* of 79.55%. Of IgG that seroprevalencia was 72.73% and IgM 6.82%. The 3.01% of professional that participated in the study has positivity with both types of antibodies. The seropositivitytotal against *Toxoplasma gondii* was mayor in men (55.24%) that in women (44.76%). The seropositivity of antibodies against *Toxoplasma gondii* in groups of expositions was mayor in the of one to five years with 56.19% and was progressively 31 to 35 with a 0.95%, this put to be because start of the profession is a split of the 25 years.

In men the distributions of cases seropositives of antibodies IgG was 50.47%, of IgM was 4.76% and por both types of antibodies was of 1.90%. while that in women theseropositivity to IgG was 40.95%, IgM 3.81% and to the association IgG and IgM was 1.90%.

According the time of laboral exposition of 105 samples seropositive was obtained 59 cases (56.19%) of group of one to five years with 53 cases (55.21%) for IgG to IgM 6 cases (66.67%) and for both tape of antibodies 4 cases (100.00%).

KEY WORDS: ***Toxoplasma gondii*, specific antibodies, veterinarians doctors, ELISA, Quito.**

1. INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria producida por *Toxoplasma gondii (T.gondii)*de distribución mundial;parásitoque infecta primariamente a mamíferos y aves. El hombre puede infectarse por ingestión de carne mal cocida, contaminación fecal, transfusión sanguínea o por transmisión congénita.El gato que es el hospedador completo o definitivo de este parásito y otros felinos salvajes son los únicos animales en los cuales se multiplican tanto en el intestino como en los tejidos.El 30% de los gatos presentan evidencias serológicas de exposición al *Toxoplasma gondii*. (1-3)

Su infestación se da a través de la ingesta de quistes presentes en tejidos de hospedadores intermediarios, taquizoitos presentes en las células infectadas, bradizoitos presentes en quistes de tejidos y esporozoitos liberados por los ooquistes. (2-3)

En el campo de la salud pública, su importancia radica especialmente cuando afecta a personas inmunosuprimidas y mujeres gestantes, en las que puede llegar a producir abortos o nacimientos de niños con lesiones oculares o cerebrales.

En el ámbito mundial, entre 1 000 a 2 000 millones de personas se encuentran infectadas, lo que la convierte en una de las enfermedades parasitarias de mayor prevalencia. (6)

En el sur de Brasil en una evaluación serológica en mujeres embarazadas, el 74.5% presentó anticuerpos (Ac) específicos contra *Toxoplasma gondii*, siendo el contacto con el suelo el principal factor para adquirir la infección. (7)

En Venezuela,en 446 gestantes la seroprevalencia de anticuerpos para *Toxoplasma gondii* fue de 38%. (8)

En Colombia se realizó un estudio seroepidemiológico de *Toxoplasma gondii* en médicos veterinarios de Villavicencio con una seroprevalencia del 47.1% que no se ha incrementado o disminuido desde hace 23 años. (9)

En médicos veterinarios puede generar enfermedad ocupacionalpor el contacto directo con los animales y sus fluidos.

La presente investigación es una contribución a la comunidad porque se puede conocer la incidencia de la enfermedad y con esto se pueden realizar nuevos estudios para determinar la prevalencia de la infección en nuestro medio.

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria producida por el protozoo coccidio intracelular *Toxoplasma gondii* del filo Apicomplexa de distribución mundial que afecta a animales y que puede ser transmitida al hombre por ser una enfermedad zoonótica. El hospedador definitivo es el gato y sus hospedadores intermediarios son los animales domésticos, silvestres y el hombre. (4)

En el ámbito mundial, entre 1,000 a 2,000 millones de personas se encuentran infectadas, lo que la convierte en una de las enfermedades parasitarias de mayor prevalencia. (6)

En Ecuador la seroprevalencia de toxoplasmosis de acuerdo a las distintas áreas geográficas fue; en la Costa (Esmeraldas) 90.1%, Sierra (Quito) 46.5%, (Ambato) 21.6% y (Azogues) 36.4%; Oriente (Río Napo) 60.9%. (71)

La toxoplasmosis es una enfermedad que adquieren los humanos tras la ingesta de carne mal cocida que contiene quistes tisulares o por la ingesta de quistes inactivos de material contaminado con heces de gato. Los brotes pueden producirse por inhalar polvo contaminado y por beber agua contaminada. Dentro de las infecciones oportunistas, es la más frecuente en los pacientes infectados con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), mientras que en los pacientes

inmunocompetentes, la infección se manifiesta sólo en 10% a 20% de los casos; generalmente con un comportamiento benigno y autolimitado. (5)

La toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria de alta prevalencia y de distribución mundial. En latinoamerica se están desarrollando investigaciones y proponiendo programas de control. Su prevención se centra en aquellos pacientes que no presentan anticuerpos específicos para *Toxoplasma gondii* y consiste fundamentalmente en aplicar normas higiénico-sanitarias para minimizar el riesgo de su ingreso al organismo.

Se puede pensar que los médicos veterinarios tienen mayor probabilidad de contraer toxoplasmosis por el contacto directo con los animales y sus fluidos, por lo que su riesgo de contagio puede ser mayor a la población en general; motivo por el cual se establece la necesidad de realizar pruebas inmunológicas en personal médico veterinario o en gestantes en quienes se sospeche exposición.

Este estudio propone establecer indirectamente la presencia de *Toxoplasma gondii*, en médicos veterinarios que laboran en clínicas, consultorios y centros de rescate en Quito a través de la detección de inmunoglobulinas específicas (IgG, IgM), mediante ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), porque con esta prueba se pueden analizar muchas muestras en forma simultánea con equipo poco sofisticado obteniendo resultados de alta sensibilidad y especificidad, además se puede determinar tanto infecciones recientes como latentes de toxoplasmosis, detectando simultáneamente anticuerpos IgM e IgG.

La interpretación de los resultados puede ser muy importante para establecer medidas preventivas y tratamientos oportunos, porque los síntomas que aparecen en esta enfermedad son muy variados dependiendo del tipo de presentación de toxoplasmosis y a los órganos que afectan. Para evitar secuelas como es la linfadenopatía, mialgia, neumonitis, miocarditis, retinitis, pancreatitis es importante saber la seropositividad o seronegatividad, en caso de donación

de órganos en transplante cardíaco de un donante seropositivo y receptor seronegativo puede producir toxoplasmosis fatal. (4,11)

También sería necesarioen profesionales veterinarias mujeres en estado de gestación considerando que podrían reactivarse quistes de una infección previa de *Toxoplasma gondii* que afectarían al feto en su desarrollo normal produciendo toxoplasmosis congénita; así como de mucha importancia, determinar la incidencia de la enfermedad en su ámbito profesional para recomendar medidas de prevención.

En la literatura consultada en El Ecuador, no se ha encontrado investigaciones sobre toxoplasmosis en médicos veterinarios del país por lo que es de interés público la realización de éste trabajo.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en médicos veterinarios que laboran en clínicas, consultorios y centros de rescate de animales Quito, 2012.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Establecer mediante ELISA la presencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* IgG / IgM.

2. Distribuir los casos seropositivos para *Toxoplasma gondii* de acuerdo al género y al tiempo de exposición laboral del médico veterinario.

3. Establecer la distribución de la seroprevalencia según el tipo de anticuerpos.

1.3. HIPÓTESIS

Los médicos veterinarios que laboran en clínicas, consultorios y centros de rescate en Quito tienen una prevalencia mayor a 40% de Ac IgG anti-*Toxoplasma gondii* y 4% de Ac IgM anti-*Toxoplasma gondii*.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. TOXOPLASMOSIS

La toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria, zoonótica de distribución mundial que afecta al hombre y otras especies de animales de sangre caliente, incluidas las aves. (11-12)

El gato es el hospedador definitivo y elimina en las fecas la forma infestante del parásito *Toxoplasma gondii.* Éste hospedador directo se infecta al ingerir roedores y pájaros contaminados con el parásito. Los insectos como cucarachas, lombrices de tierra también pueden transportar el *Toxoplasma gondii* contaminando a otros animales o a los alimentos al transportar ooquistes. Entre los animales de abasto, el porcino y la ternera son los más contaminados. Otros animales de sangre caliente como bovinos, caprinos, roedores y otros mamíferos pueden infectarse con este parásito. También se ha aislado de aves y peces. (2,13)

El hombre es uno de los hospedadores intermediarios que se infecta por tres vías principales de transmisión las cuales son: la alimentaria, zoonótica y la congénita. Además se puede infectar por transmisión y transfusión de sangre o trasplante de órganos y en raros casos por inoculación accidental de sangre infectada en trabajadores de laboratorio. (14)

La toxoplasmosis puede producir una infección generalizada en el hombre que cursa de leve y asintomática, así como también puede ocasionar la muerte en el feto, produciendo la llamada toxoplasmosis congénita. (15)

En pacientes inmunocompetentes, geriátricos y niños suele causar coriorretinitis toxoplásmica. La reactivación del parásito en pacientes con HIV dá lugar a encefalitis inusualmente severa. También existe una relación causal entre la toxoplasmosis y la etiología de la esquizofrenia. (16-18)

Se ha observado que individuos mayores con esquizofrenia que han tenido mayor exposición con gatos en la infancia tienen mayor prevalencia de anticuerpos para *Toxoplasma gondii*, algunos individuos adultos con toxoplasmosis desarrollan síntomas psicóticos similares a los de la esquizofrenia, además los fármacos eficaces al tratamiento de pacientes con esquizofrenia inhiben al *Toxoplasma gondii*. (19)

2.1.1. ETIOLOGÍA

El *Toxoplasma gondii* fue descubierto por Nicolle y Monceaux en 1908 cuando aislaron un parásito intra-celular en el hígado y el bazo del roedor salvaje tunecino *Ctenodactylus gondii*. (20)

Toxoplasma gondii es un parásito intracelular, obligado potencialmente, capaz de invadir y multiplicarse en cualquier célula nucleada, incluso en hematíes de aves. (21, 4)

Es un parásito móvil, gram negativo, sin hospedero específico (euríxeno), tiene forma arqueada, semilunar y no posee flagelos, pese a lo cual tiene autonomía de movimientos de rotación helicoidales, en los que participa toda la célula gracias a las fibrillas dispuestas sobre su superficie. Su tamaño varía entre 2-12 x 1.5-4 um según el órgano de donde procedan. (10, 22)

Su nombre sugiere a su aspecto arqueado (toxo) y al del hospedador en que se encontró el parásito (*gondii*). (4)

2.1.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Toxoplasma gondii taxonómicamente está clasificado de la siguiente manera:

Reino	Protista
Sub-reino	Protozoo
Phylum	Apicomplexa
Clase	Sporozoasida

Sub-clase	Coccidia
Orden	Eucoccidiorida
Sub-orden	Eimeria
Familia	Sarcocystidae
Género	*Toxoplasma*
Especie	*gondii.* (22)

2.1.3. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *Toxoplasma gondii.*

La variabilidad de presentaciones clínicas en toxoplasmosis podría relacionarse con el genotipo de *Toxoplasma gondii* que causa la infección. Mediante pruebas moleculares se determinó que la mayoría de las cepas aisladas de humanos y animales pertenecen a 1 de 3 genotipos distintos denominados linaje I, II y III que difieren en su virulencia, comportamiento biológico y patrones epidemiológicos de ocurrencia. Además existen cepas recombinantes con genotipos relacionados a los tres linajes anteriores, éstas derivarían de una infección simultánea por más de un tipo de cepa en felinos, ya que es en el intestino de éstos, donde se produciría la recombinación génica durante la reproducción sexual del parásito. (23)

En infecciones oculares severas predomina el genotipo I de *Toxoplasma gondii*, o genotipos recombinantes de tipo I y III; en pacientes inmunosuprimidos y en infecciones congénitas, predomina el tipo II. El único tipo aislado de casos benignos o asintomáticos de toxoplasmosis humana es el genotipo II. El genotipo I se asocia a enfermedad grave tanto en animales como en el hombre. (24-25)

2.1.4. CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS

2.1.4.1. Morfología

El *Toxoplasma gondii* es de forma semilunar o en arco, con un polo anterior agudo, una cara convexa y la otra generalmente cóncava, miden de 4 a 6 micras de largo y de 2 a 4 micras de ancho. Teñido con giemsa se puede observar el

núcleo rosado, ubicado centralmente o paracentral y el citoplasma coloreado de azul. Observando con el microscopio electrónico se puede distinguir una ultraestructura compleja. Un anillo polar y una formación cónica hueca ubicada en el citoplasma, en el polo anterior con dirección al interior del parásito se denominada *conoide*, el cual parece continuarse en los *roptries,* estructuras alargadas, cilíndricas homogéneas y divergentes en dirección al centro del parásito. El *conoide* puede ser prominente, representando un organelo apropiado para perforar la membrana de la célula hospedadora. En el citoplasma también se distinguen mitocondrias, granulaciones, fibras delgadas y el aparato de Golgi. El núcleo redondo u oval es semicentral y está algo desplazado al polo posterior, posee doble membrana y tiene nucléolo. (3, 10)

El *Toxoplasma gondii* puede presentarse en tres formas morfológicas o de desarrollo según en el momento del ciclo biológico que se encuentre; ooquiste, bradizoitos, y taquizoito. (3, 20)

2.1.4.2. Ooquistes

Salen en la materia fecal del gato infectado y en el medio ambiente son viables durante años, pueden ser transportados por insectos y gusanos, son casi esféricos y miden de 10 - 12 micras. Cuando son eliminados con las heces de los gatos son inmaduros, no esporulados y en condiciones favorables alcanzan su estado infectivo al día siguiente de su puesta o durante los 5 días posteriores. En el interior de cada ooquiste esporulado forma dos esporoquístes y en cada uno de ellos hay cuatro esporozoitos. (3-4, 13, 20)

Una vez esporulados son extremadamente resistentes, incluso a los desinfectantes más potentes. La ebullición o bien el calor seco a temperaturas superiores a los 66 °C, los destruye. (22)

2.1.4.3. Bradizoito

Son denominados quistozoitos por su forma enquistada, asociada a infecciones crónicas. Son formas de resistencia, pueden llegar a alcanzar un tamaño entre

10 a 200 micras, mide de 6-7 a 2-4 micras y contiene un núcleo voluminoso en la zona ecuatorial. Puede encontrarse en cualquier tejido u órgano, fundamentalmente en el sistema nervioso central (SNC) y tejido muscular (corazón y músculo estriado esquelético), además pueden persistir en forma latente durante toda la vida y son capaces de reactivarse.

Poseen una membrana propia de precipitados granulares adosados a la membrana vacuolar circundante que al fusionarse dá lugar a la membrana quística. En el interior contienen miles de bradizoitos morfológicamente semejantes a los taquizoitos pero con una reproducción más lenta. (3-4, 10, 22, 26)

2.1.4.4. Taquizoito

Son denominados endozoitos por su multiplicación endocelular, asociada a la infección aguda.Es la forma activa de replicación responsable de la diseminación de la infección y de la destrucción tisular. Se lo encuentra en sangre y tejidos, son parásitos que se reproducen aceleradamente en la vacuola parasitófora de la célula hospedadora en el interior del pseudoquiste.Pueden provocar la lísis de la célula produciéndose la liberación de los taquizoitos o dar lugar a quistes tisulares (3, 26)

2.1.5. CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico de *Toxoplasma gondii* tiene lugar en el gato y algunos felinos silvestres, hospedadores definitivos o completos, y en los hospedadores intermediarios entre los cuales se encuentra el hombre.

2.1.5.1. Ciclo en el hospedador directo

El estadio intestinal comienza cuando el hospedador definitivo (gato) se infecta al ingerir carne con quistes de *Toxoplasma gondii*, penetra al epitelio de las vellosidades de la porción baja del intestino delgado y una vez en el interior de las células, crece dando lugar al trofozoito, que inmediatamente divide su núcleo

y cada porción nuclear se rodea con una parte citoplasmática. Así queda constituido el esquizonte inmaduro, que luego madura para formar numerosos merozoitos, los cuales se liberan al estallar la célula del hospedador.(3, 27)

Dentro de tres, cinco o más días, algunos merozoitos evolucionan hacia formas sexuadas o gametos. El microgameto que madura hasta producir de 12 a 32 microgametos y fecunda al macrogameto dentro de la célula hospedera dando lugar, finalmente, a los ooquístes que salen en las materias fecales del gato. En el exterior los ooquístes maduran y en su interior se forman 2 esporoquístes cada uno de los cuales contiene 4 esporozoítos. (13)

Cuando la infección del gato ocurre a través de taquizoitos (ingestión de animales con infección aguda) o por esporozoitos (ingestión de ooquiste) se produce primero infección tisular con taquizoitos seguido de la producción de bradizoitos que inician el ciclo intestinal, con un período que se extiende desde la contaminación hasta la parición de los parasitos en el hospedador de veinticuatro a cuarenta días.

Una vez que los ooquistes infectantes son ingeridos por vertebrados de sangre caliente, hospedadores intermediarios y también el gato (hospedador directo) son disueltos por la acción de las enzimas proteolíticas del estómago y el intestino delgado, atraviesan la capa enteroepitelial y son fagocitados por las células macrofágicas del sistema retículo-endotelial comenzando el estadio paraentérico o tisular.

La multiplicación de los toxoplasmas se va a dar en el interior de cualquier célula nucleada, de preferencia en las células del sistema retículo endotelial, en las del sistema nervioso central y en las células musculares comenzando así la fase asexual.

La fase asexual se da en la vacuola parasitófora y se inicia por un proceso de brote interno o endogenia, que conduce a la formación de dos individuos hijos (endodiogenia), los cuales prosiguen su proliferación en forma sucesiva, mediante este mismo mecanismo.

La multiplicación acelerada de toxoplasmas (taquizoitos), concluye con la formación de pseudoquistes repletos de parásitos. El proceso termina con la destrucción de las células parasitadas y con la liberación de nuevos zoitos en el lugar, o a distancia, por vía hemática o linfática, se diseminan por todo el organismo, invadiendo nuevas células.

Cuando la multiplicación de los parásitos (quistozoitos o bradizoitos) es lenta el proceso termina con la formación de quistes. Los quistozoitos segregan precipitados granulares que se adosan a la membrana vacuolar circundante. Al fusionarse las granulaciones da lugar a la membrana quistica. Los quistes son de diferente tamaño y en su interior contienen cientos o miles de quistozoitos.

Los quistes son infectantes al ser ingeridos por el humano o por cualquier otro vertebrado, incluido el gato cuando comen carne cruda o mal cocida.

2.1.5.2. Ciclo en el hospedador intermediario

En el hombre y un gran número de mamíferos y aves tanto domésticos como silvestres que actúan como hospedadores intermediarios el *toxoplasma* evoluciona a través de los estadíos paraentéricos o tisulares, no existe en ninguno de sus estadíos las fases enteroepiteliales.

La infección de estos hospedadores ocurre tanto por carnivorismo como por fecalismo igual como sucede en el gato. Se presentan las dos fases o períodos de la infección tisular la fase proliferativa, pseudoquística, taquizoítica, durante el inicio de la infección, y la fase crónica quística bradizoítica que persiste en los tejidos (muscular estriado, esquelético, cardíaco, nervioso etc.) durante toda la vida. La infección de la madre al feto se va a producir por el hallazgo de taquizoitos aislados o dentro de sus pseudoquistes en el torrente sanguíneo durante el período primario o agudo de la infección. La madre gestante solo puede transmitir la infeccion al feto cuando ha adquirido la toxoplasmosis pocotiempo antes de iniciarse el embarazo o en el trascurso del mismo en la fase proliferativa o taquizoítica de corta duración.

La transmisión de persona a persona puede ocurrir en transplantes de órganos, los receptores reciben terapias con inmunodepresores que facilitan el desarrollo y evolución de los taquizoitos procedente del donante, o la reactivación de los quistes bradizoíticos presentes en sus tejidos. (4, 10, 28-29)

2.2. HOSPEDADORES DE *Toxoplasma gondii*

2.2.1.HOSPEDADORES INTERMEDIARIOS

Los hospedadores intermediarios son todos los animales de sangre caliente con células nucleadas incluyendo el hombre y las aves. El gato también puede convertirse en hospedador intermediario cuando padece la fase extraintestinal o tisular del ciclo. En los hospedadores intermediarios tiene lugar un ciclo de reproducción asexual que culmina con la formación de quistes tisulares alojados en los tejidos (músculo, miocardio y sistema nervioso central). No existe en ninguno de sus estadíos las fases enteroepiteliales. (30-31)

2.2.2.HOSPEDADOR DEFINITIVO

El único hospedador definitivo o completo es el gato y los felinos silvestres (jaguar, ocelote, león, leopardo, lince, etc), se denomina también hospedador completo, ya que actúa a la vez como definitivo e intermediario al realizarse en él tanto las fases del ciclo agamogónico enteroepiteliales y tisulares, como las fases del ciclo gamogónico siendo capaz de adquirir el parasitismo por depredación (ingestión de quistes bradizoíticos tisulares) o fecalismo (ingestión de ooquistes que se eliminan inmaduros en el exterior y que han madurado en el medio). (28)

2.3. VÍAS DE TRANSMISIÓN Y MECANISMOS DE INFECCIÓN

El gato juega un papel muy importante en la propagación de la toxoplasmosis. Ellos se infectan al ingerir roedores, aves u otros animales pequeños infectados.

Los gatos pueden eliminar tres semanas después de la infección millones de ooquistes en sus heces.

Las personas se infectan principalmente por tres vías de transmisión

2.3..1ORAL

Por la ingestión de ooquístes procedentes del suelo contaminado con las materias fecales del gato parasitado, por comer frutas y verduras sin lavar, por beber agua contaminada con el parásito, por ingestión accidental cuando se limpia la caja de arena donde defeca el gato, ingestión de quistes presentes en carnes crudas o mal cocidas, especialmente de cerdos, ovejas y de res. (14, 29)

2.3.2.TRASPLACENTARIA

Cuando la mujer se infecta *de Toxoplasma gondii* durante el embarazo (infección activa) puede transmitir la infección a su hijo produciéndose toxoplasmosis congénita. La mujer puede cursar asintomáticamente, pero puede haber graves consecuencias para el feto, como alteraciones a nivel del sistema nervioso central y en los ojos.

2.3.3.SANGUÍNEA

El personal de laboratorio se puede infectar accidentalmente de *Toxoplasma gondii* tras la inoculación de sangre contaminada, por manipulación de animales infectados y por transfusiones o transplantes. También los receptores de órganos se infectan tras recibir un órgano de un donante toxoplasma activo. (4, 14)

2.4. FORMAS CLÍNICAS DE PRESENTACIÓN EN HUMANOS

La toxoplasmosis puede ser aguda o crónica, sintomática o asintomática. En los niños mayores y adultos la infección aguda recientemente adquirida suele ser

asintomática; y en caso de presentar síntomas y signos (enfermedad aguda) estos suelen ser de corta duración y autolimitados, como una gripe o mononucleosis, dolor de cabeza, dolores musculares, inflamación de los ganglios linfáticos, etc. En la mayoría de los casos persiste como quistes en los tejidos pero la persona no suele tener manifestaciones clínicas (infección crónica), pero en otros casos se presenta con formas clínicas persistentes o recurrentes (enfermedad crónica). (32)

La severidad de la infección con *Toxoplasma gondii* depende de la inmunocompetencia del paciente. En las personas con un sistema inmune competent,e la infección es generalmente, asintomática por lo que el diagnóstico en estos casos solo puede hacerse por pruebas de laboratorio. En los individuos con inmunodeficiencia severa como los enfermos con SIDA la infección tiene un comportamiento frecuentemente mortal ante una primo infección severa. Se suelen diferenciar cuatro grandes categorías clínicas como:Toxoplasmosis aguda adquirida en el paciente inmunocompetente, toxoplasmosis en el paciente inmunodeficiente, toxoplasmosis ocular y toxoplasmosis congénita. (22)

2.4.1.TOXOPLASMOSIS AGUDA ADQUIRIDA EN EL PACIENTE INMUNOCOMPETENTE

Se presenta como una infección autolimitada, de muy bajo riesgo en las personas inmunocompetentes. En condiciones normales ocurre una vez en la vida y deja un estado de inmunidad humoral y celular permanente. (33)

Cuando se presentan síntomas pueden resolverse al cabo de pocos meses. En adultos observamos del 10 al 20 % casos de toxoplasmosis enforma sintomática. Puede presentarse linfadenopatía cervical asintomática. También puede cursar con malestar, fiebre mialgia, sudoración nocturna, faringitis, hepatomegalia y puede desarrollarse coriorretinitis unilateral. (34)

2.4.2. TOXOPLASMOSIS EN PACIENTE INMUNODEFICIENTE

En pacientes inmunodeprimidos la toxoplasmosis tiene dos formas de presentación: infección primaria severa y la infección crónica que se reactiva.

2.4.2.1. Infección primaria severa

El paciente adquiere la primo infección al infectarse de *Toxoplasma gondii* del suelo, al consumir carne o al recibir transplante de órganos, donde la infección se desarrolla sin que la inmunidad la controle y es generalmente fatal. (20)

2.4.2.2. Infección crónica o reactiva

En los casos de reactivación la infección es endógena, observándose en los pacientes encefalitis con lesiones múltiples y algunas veces focales, semejando un absceso o tumor, también se manifiesta con neumonía, miocarditis, retinocoroiditis progresiva y otras manifestaciones. En pacientes con HIV la complicación más común se da a nivel del sistema nervioso central y constituye una de las infecciones oportunistas más importantes en estos pacientes, denominándose encefalitis toxoplásmica. Con frecuencia los síntomas psiquiátricos, son una psicosis manifiesta, demencia, ansiedad y agitación. (20, 34)

2.4.3. TOXOPLASMOSIS OCULAR.

Se presenta con síntomas como visión borrosa, fotofobia, dolor ocular, y epífora. (35)

La toxoplasmosis ocular es una enfermedad más severa en los extremos de la edad (niños y adultos mayores) en pacientes inmunocompetentes generalmente es de causa congénita siendo la coriorretinitis, (resultado de la retinitis previa combinada con una reacción inflamatoria que comprende el epitelio pigmentario y las coroides) la principal manifestación clínica

predominando *Toxoplasma gondii* genotipo I y recombinantes de tipo II y III. El parásito se aloja en la retina en la forma de bradizoito enquistado (quistes) y al romperse este quiste, se desarrolla una retinitis. (24, 22, 35)

La retinitis ocasionada por el parásito se asocia con manifestaciones inflamatorias de magnitud variable que puede involucrar distintas partes del ojo produciendo vasculitis, vitritis (compromiso del humor vítreo), coroiditis y uveitis anterior (50% de los pacientes con toxoplasmosis ocular) (36-37)

2.4.4.TOXOPLASMOSIS CONGÉNITA

La toxoplasmosis congénita es provocada por infección aguda en la mujer durante el embarazo, por lo general es asintomática y sólo puede ser detectada con pruebas serológicas. La transmisión del parásito de la madre al hijo únicamente puede ocurrir cuando la infección se adquiere por primera vez durante el embarazo y aumenta gradualmente con el progreso de la gestación.
En términos generales, un tercio de las madres con infección aguda darán a luz un hijo con toxoplasmosis, en su mayoría con un desarrollo normal; sin embargo, el 4% tiene posibilidades de morir, tener un daño neurológico permanente o compromiso visual desde los primeros años de vida. (38-40)

Se pueden presentar signos y síntomas diversos e inespecíficos que pueden presentarse en diversos momentos después del nacimiento como son: neumonitis, exantema, anemia, ictericia, coriorretinitis, estrabismo, ceguera, convulsiones, retraso psicomotor o mental, hidrocefalia, diarrea, hipotermia y microcefalia. (34)

La tríada de hidrocefalia, coriorretinitis y calcificación intracraneal es característica de toxoplasmosis congénita en niños mayores. (36)

2.5. FORMAS CLÍNICAS DE PRESENTACIÓN EN ANIMALES

El vacuno adulto es resistente a la toxoplasmosis, mientras que las ovejas y las cabras son sensibles y acostumbran a manifestar una toxoplasmosis mediante

abortos provocados por una placentitis local. Es probable que la infestación ocurra por ingestión de los ooquistes que se encuentran contaminando los pastos y alimentos. (41)

La infección por *Toxoplasma gondii* es sumamente prevalente en el cerdo por lo que la carne cruda puede ser una fuente de infección para las personas. En lechones lactantes menores de dos semanas, inmunológicamente inmaduros, la infección puede ser fatal. Aunque son raros los casos de enfermedad manifiesta, los síntomas que presentan son anorexia, apatía, fiebre, diarrea, disnea, tos, cianosis, debilidad de miembros posteriores etc, que remite al cabo de unos días o termina con la muerte de 8 a 15 días después. La infección postnatal suele ser subclínica o presentarse con fiebre coincidiendo con la fase de parasitemia, inadvertida en condiciones naturales. La primo infección en cerdas gestantes al igual que ocurre en la especie ovina puede originar abortos, partos prematuros o nacimiento de lechones débiles. (21, 42)

En gatos, si están presentes los signos clínicos, suele incluir neumonía, alteraciones neurológicas, pancreatitis, miocarditis con arritmias y diversos síntomas oculares. La uveítis se presenta clínicamente en forma de múltiples focos de retinitis o retinocoroiditis, con grados variables. Los gatos jóvenes pueden presentar manifestaciones como letargo, anorexia, maullidos, desvanecimientos y la muerte. Los nacimientos de gatos muertos se asocian normalmente con infección transplacentaria. (2, 41)

En los perros, cuando las infecciones son leves, cursa asintomáticamente, pero en las más intensas los signos clínicos que presentan son trastornos respiratorios (50%), digestivos (25%), y nerviosos (25%). En perros menores de un año se impone el diagnóstico diferencial con el moquillo por cursar con la misma sintomatología. En pocos casos la toxoplasmosis canina se asocia a lesiones oculares, pero si se manifiesta observaremos coriorretinitis, neuritis óptica, y con menor frecuencia uveitis anterior e inflamación de los músculos extraoculares. (2, 21)

2.6.DIAGNÓSTICO

2.6.1. MÉTODOS SEROLÓGICOS

Las pruebas serológicas más utilizadas para el diagnóstico de toxoplasma son: IFI (inmunofluorescencia indirecta), Prueba de Sabin y Feldman, son estándares con los que se comparan los otros métodos como ELISA, HAI (hemoaglutinación indirecta), Reacción de Fijación del Complemento y Aglutinación en Látex. (4)

2.6.1.1. Sabin Feldman

Éste método sirve para la determinación de IgG séricas durante la fase de parasitemia y se orientan a los antígenos de membrana permitiendo un diagnóstico temprano.

Según la Organización Mundial de la Salud es la prueba de referencia para el diagnóstico de la toxoplasmosis, considerando que es la de mayor sensibilidad, especificidad y reproducibilidad. (21, 43, 40)

La reacción utiliza toxoplasmas vivos (taquizoitos) por lo que constituye un riesgo elevado para el manipulador así como limitaciones técnicas, además el mantenimiento de la cepa requiere un bioterio o una línea de cultivo celular sólo disponible en laboratorios especializados. (44)

En Estados Unidos se ha recomendado un cribado (tamizado) prenatal, a la mujer engestación mediante la prueba de Sabin-Feldman a las 12 semanas, con una nueva prueba a las 20 y 22 semanas, y por último, cerca del término del embarazo. (45)

Los antígenos vivos pierden la capacidad de colorearse con azul de metileno al ponerse en contacto con sueros que contienen anticuerpos debido a la presencia del *Toxoplasma*, pudiéndose observar al microscopio óptico o con contraste de fase. Los parásitos alterados por la acción de los anticuerpos, no toman el colorante. Si el 50% o más se encuentran sin teñir la reacción es positiva. (46)

2.6.1.2. Inmunofluorescencia indirecta (IFI)

Este método es de alta especificidad, preciso y rápido, pero tiene como desventaja la utilización del microscopio de fluorescencia que puede ser de costo elevado.

Con esta prueba se detectan las inmunoglobulinas IgG e IgM específicas y se confirma la infección cuando la IgG se aumenta. Un título de 1:64 se interpreta como infección pasada o muy reciente. Reacciones alrededor de 1:256 se consideran como títulos intermedios y pueden indicar infecciones estabilizadas o recientes. Los títulos de 1:1024 o mayores, sugieren infección activa. (29, 44)

Para realizar este método no se requiere trabajar con parásitos vivos sino con antígenos purificadoso liofilizados. Las inmunoglobulinas IgG presentes en el suero del paciente se adhieren a los antígenos, donde se detectan por medio de gamaglobulina anti-humana conjugada con isotiocianato de fluoresceína que produce fluorescenciasi existe unión antígeno-anticuerpo. (20)

2.6.1.3. Reacción de fijación del complemento (RFC)

Es un método serológico de alta sensibilidad y especificidad que emplea como indicador la lísis de los eritrocitos por el complemento. Una vez que se produce la interacción antígeno-anticuerpo, la fracción Fc de la inmunoglobulina permite la fijación del factor C1q, activando los factores del complemento. Así, cuando en el suero problema se encontraran anticuerpos específicos para el antígeno ensayado este se fijará al inmunocomplejo por lo que no quedará libre para lisar los eritrocitos sensibilizados. En caso contrario, el complemento quedará libre y podrá lisar los eritrocitos. (47)

2.6.1.4. Hemoaglutinación indirecta (HAI)

La técnica de hemoaglutinación indirecta no se recomienda para diagnóstico de toxoplasmosis aguda, ni como única prueba en la embarazada, porque su positividad es tardía, más de dos meses después de la infección por lo cual no

detecta en forma temprana la seroconversión. Se la puede utilizar para realizar estudios epidemiológicos que determinen la prevalencia de infección poblacional. (40)

En este método se utiliza un antígeno soluble, ligado a eritrocito de carnero previamente tamizado, por lo que son evidenciados por la aglutinación de los eritrocitos preparados. A veces puede dar reacciones cruzadas, tiene buena concordancia con la reacción de Sabin y Feldman. (20)

2.6.1.5. Prueba de inmunoabsorción y aglutinación (ISAGA).

Es una técnica altamente sensible y específica. Es la técnica más sensible, con un 98% de efectividad en las primoinfecciones. También se utiliza para la detección de IgM, IgA e IgE como marcadores de la fase aguda de la infección en mujeres embarazadas y en recién nacidos. En el adulto, la IgM se torna negativa entre los 9 meses y el año del inicio de la infección, la IgA entre los 6 y 9 meses y la IgE entre los 4 y 6 meses.(40)

2.6.1.6. Aglutinación en látex

Es una técnica rápida de aglutinación para la detección directa de antígenos o anticuerpos anti-toxoplasma en humanos. La determinación se efectúa ensayando una suspensión de partículas de látex recubiertas con un extracto antigénico de *Toxoplasma gondii*, frente a las muestras problema. La presencia o ausencia de aglutinación (formando un botón) es indicativa de la presencia o ausencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma* en la muestra ensayada. (48-49)

Presenta una sensibilidad del 90% y especificidad del 97 al 99%. Se considera una prueba semicuantitativa por lo que su significación y utilidad clínica son muy limitadas.(50)

2.6.1.7. ELISA (Inmunoensayo enzimático)

El método ELISA *Toxoplasma gondii* es un inmunoanálisis enzimático tipo sándwich para la detección cualitativa o cuantitativa de anticuerpos en suero.

Los micropocillos ELISA con fase sólida son recubiertos con antígenos de*Toxoplasma*(taquizoitos). Si los anticuerpos específicos correspondientes están presentes en una muestra de pacientes son unidos a los antígenos en la fase sólida luego al agregar la enzima peroxidasa se une específicamente a los anticuerpos resultando la formación de un complejo tipo sándwich.

Una vez formado este complejo enzimático se incuba con una solución de tetrametilbenzidina (TMB) produciéndose una coloración azulada que cambia al detener la reacción con un agregado de ácido sulfúrico. La intensidad de este color es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos que tiene la muestra. Se han utilizado ensayos de ELISA para la detección de anticuerpos de tipo IgA, IgM, IgE e IgG en diferentes fluidos biológicos. (1, 46, 51)

Los test para anticuerpos IgM específicos son útiles para el diagnóstico de infección aguda e infección congénita. Cuando existe la persistencia de IgM durante años o más es necesario tambien realizar el test de IgG e interpretar los resultados. Muchas personas tienen infecciones asintomáticas con títulos bajos de IgG, lo que se observa en pacientes con infección crónica ocular. Los inmunosuprimidos como pacientes con SIDA tienen infecciones activas por *Toxoplasma*, existe la presencia de anticuerpos IgG, aunque los títulos pueden ser bajos, pero la presencia de IgM rara vez puede ser detectada. (4)

2.6.1.8. Prueba intradérmica de la toxoplasmina

La toxoplasmina es una prueba de hipersensibilidad tardía, semejante a la tuberculina. Se utiliza en estudios epidemiológicos para determinar contacto previo con el germen. (29)

La toxoplasmina se prepara con extractos de parásitos y se aplica por vía intradérmica. Se realiza la lectura entre 48 a 72 horas después de su aplicación y se considera positiva cuando se palpa una pápula de 5 o más milímetros en el sitio de aplicación. Aparece positiva después de la quinta o sexta semana de la infección y permanece así indefinidamente. (44)

2.6.2. MÉTODOS DIRECTOS

La observación de parásito es lo ideal pero es posible hacerlo en un reducido número de casos. Se lo puede encontrar en el líquido cefalorraquídeo (LCR), ganglios linfáticos, médula ósea, y ocasionalmente en otros tejidos. Cuando se obtiene material por punción, se busca el parásito en fresco o coloreado.

La observación de ooquistes de *Toxoplasma gondii* por examen coproparasitario bajo la técnica de flotacion, únicamente se la realiza en heces de felinos, porque en estos se produce la fase del ciclo enteroepitelial. La desventaja en la aplicación de este método es la baja sensibilidad ya que los ooquistes son eliminados máximo hasta 6 días de la infeccion, dando resultados falsos positivos, además no pueden ser diferenciados por su morfología de los ooquistes de *Hammondia spp.* (20, 41)

2.6.2.1. Examen histopatológico

Este método es de escasa sensibilidad ya que en los tejidos las características morfológicas son difíciles de precisar, pues el estudio histológico muestra formas redondeadas o partes del parásito, según sea su posición u orientación y se requiere mucho tiempo y cortes seriados para poder identificarlo; por ese motivo ocurren errores de diagnóstico con falsos positivos o negativos. Se confunden sus estructuras con otros protozoos y hongos. En los ganglios se parecen a las células reticulares con inclusiones. La coloración con giemsa o hematoxilina-eosina, ayuda a la diferenciación de los cortes histológicos.(20, 46)

2.6.2.2. Inoculación al ratón

Se realiza a partir de muestras obtenidas de líquido amniótico o de sangre de cordón del neonato. El hallazgo positivo es muestra indudable de infección prenatal. (40).

Generalmente se obtiene la muestra de sangre, LCR, esputo y de los tejidos infectados tales como ganglios linfáticos, músculos, placenta, ojos enucleados y vísceras. Luego se lo inocula para su aislamiento en el ratón. Los taquizoitos pueden aparecer despues de 4 a 8 días en el exudado peritoneal y se los observa realizando un frotis teñido con giemsa. (20)

2.6.2.3. Cultivo celular

El cultivo celular se ha visto facilitado por la aparición de los laboratorios de virología. Para esta técnica se emplean habitualmente fibroblastos humanos. La sensibilidad de esta prueba es comparable a la inoculación en un animal, con la ventaja de que en 3-6 días puede verse ya el parásito. El inconveniente radica en que es un método que consume mucho tiempo para obtener los resultados (4 a 15 días) y son muy frecuentes las contaminaciones. (52)

2.6.2.4. Prueba molecular

La biología molecular ha permitido identificar al parásito mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) amplificando su ADN, indicando la presencia del *Toxoplasma gondii* en los líquidos, tejidos y líquido amniótico. (20)

Es un método de alta sensibilidad y especificidad para la detección de encefalitis por toxoplasma, enfermedad diseminada e infección intrauterina. (4)

El ADN de *Toxoplasma gondii* es detectado por la amplificación de un fragmento de 115 pares de bases del gen B1 y se utiliza como cebadores al gen B22 y B23. (53)

Otras secuencias únicas en el genoma, que incluyen los genes SAG-1, SAG-2, SAG-3, SAG-4 y GRA-4 se han utilizado como moldes para la PCR en laboratorios de investigación. *Toxoplasma gondii* tipo III se ha diagnosticado utilizando la técnica de nested-PCR-RFLP para los locus SAG2 5′, BT UB, GRA 6 y SAG 3.” (46)

2.6.3. EVASIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE

A pesar de su antigenicidad, los parásitos protozoos buscan mecanismos para vivir en el interior de sus hospedadores, la evasión a la respuesta inmune se ha adquirido a lo largo de millones de años de la evolución evitando la adhesión y la fagocitosis por los neutrófilos. (54)

El *Toxoplasma gondii* realiza diferentes mecanismos para evitar su eliminación por el sistema inmunitario. La evasión de la destrucción por los macrófagos se produce por la prevención de la fusión del fago lisosoma. Los taquizoitos pueden promover a la apoptosis de los macrófagos e inhibir la síntesis de las citoquinas proinflamatorias evitando la traslocación nuclear del factor nuclear Kappa –B (NF-kB).

En el secuestro intracelular, los parásitos que están en el interior de las células hospedadoras no expresan antígenos del CHM clase I (ej. ojo, cerebro) evitando la detección por los linfocitos T citotóxicos, CD 8+, y la inmunosupresión que produce en el hospedador por mecanismos aún desconocidos. (54-55)

2.7. RESPUESTA INMUNE

El tipo de reacción inmunitaria que se desarrolla contra la infección por protozoarios y su eficacia dependen en parte de la localización del parásito en el interior del hospedador. La respuesta inmune que se da frente al *Toxoplasma gondii* es de tipo humoral y celular. La concentración de los parásitos en el torrente sanguíneo y en los líquidos tisulares está controlada por los anticuerpos, mientras que las inmunoreacciones mediadas por células se dirigen principalmente contra los parásitos intracelulares. (9, 56)

Se ha comprobado que los mecanismos de inmunidad mediada por células desempeñan un papel destacado en la resistencia contra *Toxoplasma gondii*. (57)

El control de la infección es muy complejo dependiendo entre otros factores de la virulencia de la cepa y el estado inmune del hospedero. (58)

Los macrófagos, linfocitos T, las células asesinas Nk y las citoquinas liberadas son los principales elementos implicados en la respuesta inmune. (22)

2.7.1. RESPUESTA CELULAR

La inmunidad celular consta de dos tipos de reacciones: la muerte de los parásitos fagocitados como resultado de la activación de los macrófagos por las citoquinas liberadas de las células T, particularmente el (IFN-ɣ) y la lísis de las células infectadas mediante linfocitos T citotóxicos (CTL) CD8+. (22, 59)

Las respuestas inmunes Th2 generan anticuerpos que junto con el complemento destruyen a los organismos extracelulares y previenen su diseminación entre las células. Sin embargo esta respuesta no tiene efecto sobre las formas intracelulares del parásito que necesita una respuesta dependiente de IL12 y mediada por Th1 para ser destruidas. Los linfocitos Th1 sensibilizados secretan IFN- ɣ en respuesta a las ribonucleoproteínas de toxoplasma el cual a su vez, activa a los macrófagos capacitándolos para destruir a los organismos intracelulares permitiendo la fusión lisosoma–fagosoma. Algunos linfocitos T pueden secretar citoquinas, interfiriendo en la replicación del toxoplasma. Los linfocitos T citotóxicos especializados CD8+ pueden destruir los taquizoitos y las células infectadas por el toxoplasma. De esta forma Th1 y Th2 colaboran entre sí para asegurar la eliminación de los taquizoitos. Los quistes que contienen a los bradizoitos son poco inmunogénicos y no estimulan la inflamación siendo posible que este estado no se reconozca como extraño. La activación de los macrófagos va estar mediada por Th1, importante cuando los parásitos resisten a la destrucción intracelular. Uno de los mecanismos más importantes en las células M1 es la producción de óxido nítrico de manera que los radicales de nitrógeno

formados por la interacción del ON con los oxidantes son letales para estos parásitos intracelulares. (57, 59)

El INFɣ es el principal mediador de la resistencia contra el *Toxoplasma gondii* porque inhibe la invasión parasitaria por inhibición de las actividades fosfolipasa A2 (PLA2) que normalmente participan en la penetración del parásito a la célula huésped bajo mecanismos como la lisis de la membrana celular, fusión de la misma o liberación de calcio. (60)

2.7.2. RESPUESTA HUMORAL

La respuesta humoral está dada por la inducción de las diferentes inmunoglobulinas A, M, G, E que va a defender al hospedador del parásito.

Se conocen varios mecanismos humorales de protección contra los parásitos.

La ocupación de receptores del parásito por parte de los anticuerpos impide la invasión a la célula hospedera. Pueden ocupar también sitios activos de enzimas indispensables para el parásito produciendo la muerte. Además pueden ocupar los sitios activos de las toxinas parasitarias impidiendo su acción sobre la célula hospedera.

La aglomeración de los parásitos impide orientarse hacia las células hospederas para penetrarlas, previniendo su dispersión en el organismo, o la aglomeración de las células a los parásitos para fagocitarlos o para destruirlos con sustancias tóxicas (moléculas oxidantes).

La activación de sistemas complementarios como la aglomeración de IgG sobre un parásito de tal forma que sus porciones Fc quedan en estrecha proximidad, permitiendo activar el complemento que induce los procesos inflamatorios que promueven la fagocitosis y estimulan la respuesta inmune específica letal para los parásitos. Otro mecanismo es la acumulación de IgE, al combinarse con el antígeno del parásito provoca la degranulación del mastocito induciendo una inflamación alérgica de tipo histamínico matando al parásito. (59)

Las diferentes inmunoglobulinas son consideradas como marcadores de la fase aguda o crónica de la infección.

La detección de la IgE aún se mantiene poco estudiada aunque parece ser prometedora como marcador de infección adquirida recientemente. Datos limitados sugieren que la presencia de IgE en un paciente con infección aguda es breve en el tiempo, más aun que los niveles de IgM e IgA. (22)

Las IgE son detectables por ELISA en el suero de adultos infectados, en niños con infección congénita y en niños con coriorretinitis por toxoplasma. Su cuantificación no parece ser particularmente útil para el diagnóstico de infección por *Toxoplasma gondii* en el feto o en el recién nacido cuando se compara con la prueba de IgA. (61)

Los anticuerpos IgG son las inmunoglobulinas segundas en aparecer, facilitan el mecanismo de citotoxicidad dependiente de anticuerpos, opsonizan al antígeno, activan al complemento, pueden atravesar la placenta y su principal blanco son los antígenos de superficie del parásito. (22)

Las IgG aparecen de modo habitual dentro de las primeras 2 semanas de la infección, con un pico en 1-2 meses, luego disminuyen y persisten casi siempre durante toda la vida. Si no hay títulos de IgG lo más probable es que la paciente no haya tenido la infección y no se pueden atribuir a ella las manifestaciones clínicas de la madre o del feto. A veces se puede descubrir una infección tan temprana que la IgG puede ser negativa al principio, y una muestra subsiguiente revela la seroconversión. Las deficiencias en la respuesta inmune humoral pueden dar resultados IgG negativas. (62)

La IgG materna atraviesa la placenta y por tanto la presencia de IgG en el recién nacido puede ser por paso a través de la placenta y no necesariamente por infección intrauterina. En consecuencia, el diagnóstico de la infección del neonato no se puede basar en una IgG positiva. (61)

Los anticuerpos IgM suelen aparecen primero y declinan con más rapidez que los anticuerpos IgG. Es la mejor activadora del complemento, hace una aglutinación excelente gracias a su estructura, aumenta el nivel de citotoxicidad y su principal blanco son los antígenos de superficie del parásito. (22)

La medición de la IgM se utiliza para determinar si las infecciones son recientes o del pasado y para el diagnóstico de infección congénita. Los títulos se elevan en la primera o segunda semana de la infección. En casi todos los pacientes, la IgM se hace negativa al año de la infección, pero casi nunca antes de los 5 meses. En algunos casos los títulos de anticuerpos IgM pueden persistir elevados por más de un año (se han descrito hasta 12 años), pero por lo general con títulos bajos considerándose como pacientes crónicamente infectados. En mujeres embarazadas con IgM positiva se deben hacer siempre pruebas confirmatorias adicionales como: IgA, IgE, prueba de avidez para IgG, o la aglutinación diferencial de IgG para determinar el posible tiempo de la infección. Nunca se debe hacer el diagnóstico de infección aguda durante el embarazo con una sola prueba positiva de IgM. Sin embargo, una sola prueba negativa sirve para descartarla. (4, 62)

Los anticuerpos IgA aparecen en respuesta a la infección con *Toxoplasma gondii*; la IgA mucosal está presente en las secreciones mucosales y también está presente en el suero. Algunos estudios han indicado la importancia de la IgA como un elemento de la inmunidad de mucosas en la infección oral con quistes del parásito. (22)

Los anticuerpos IgA específicos se pueden demostrar en suero de adultos con infección aguda y en recién nacidos con infección congénita. La detección de IgA parece ser más sensible que la de IgM para el diagnóstico de *Toxoplasma gondii*, tanto en fetos como en recién nacidos. (61-62)

2.8. TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

En pacientes inmunodeprimidos y con encefalopatía focal producido por *Toxoplasma gondii* el tratamiento de primera elección se lo realiza con la

administración de pirimetamina 200 mg, como dosis de carga los dos o tres primeros días, seguido de 75 mg/día por vía oral y sulfadiazina 1.5 - 2 g/h vía oral cada 6 horas y acido fólico 10 mg/dia via oral, intramuscular o intravenoso por 3 a 6 semanas. Como alternativa pirimetamina y clindamicina con una dosis de 600- 1,200 mg vía intravenoso o 450 mg/6h oral. Otros tratamientos alternativos son claritromicina 1 g cada 12 horas vía oral, azitromicina 1.2 - 1.5 g cada día vía oral o Dapson 100 mg vía oral. (22, 63)

Si hubiera intolerancia por la sulfadiazina el tratamiento se lo realiza con pirimetamina 50mg, clindamicina 2.4 g repartidos en 4 dosis de 4 a 6 semanas. (3)

En pacientes inmunocompetentes el tratamiento a elección espirimetamina 25 mg vía oral día, sulfadiazina 2 - 3 g vía oral día y ácido fólico vía oral día. Mientras que en pacientes con toxoplasmosis ocular el tratamiento es similar pero con la administración de corticoides.

En mujeres embarazadas el tratamiento de elección depende del tiempo de gestación. Así, antes de las 20 semanas espiramicina 3 g vía oral día y después de las 20 semanas pirimetamina 25 mg vía oral día, sulfadiazina 3 g vía oral día y ácido fólico de haber evidencias fetal. (3, 22)

El tratamiento a elección en el recién nacido es pirimetamina 2 mg/kg/ día los dos primeros días, luego 1 mg/kg/día, sulfadiazina 100 mg/kg/día, ácido fólico 10 mg/kg/día y prednisolona 1mg/kg/dia dividido en dos dosis. (22)

La pirimetamina es un antagonista del ac. fólico por lo que se tiene que administrar leucovorin durante el período de terapia y una semana después de finalizar el tratamiento. (36)

Ciertos regimenes de antibióticos que son utilizados en el tratamiento de la toxoplasmosis pueden producir efectos secundarios en pacientes por lo que deben ser evaluados y monitoreados frecuentemente. (74)

Las medidas preventivas se deben orientar a los grupos con mayor susceptibilidad para desarrollar la enfermedad por *Toxoplasma gondii*, fetos e inmunocomprometidos y personal que pueda estar en contacto con felinos y sangre infectada.
Las acciones de prevención contra la toxoplasmosis se orientan a la interrupción de la cadena de infección marcada por el ciclo vital del *Toxoplasma gondii*:

Limitar las posibilidades de excreción de ooquistes por los gatos dotándoles de carne o vísceras bien cocidas o congeladas y alimentos balanceados.

Evitar que los gatos cacen y se alimenten de roedores y pájaros que pueden estar infectados conteniendo quistes del parásito.

Utilizar guantes para limpiar la bandeja sanitaria del gato y hacerlo diariamente, además evitar su contacto con la mujer embarazada.

Utilizar guantes durante la realización de tareas en el jardín y lavarse bien las manos antes de comer.

Cortar la carne por separado de los vegetales y lavarse las manos después de manipular carne cruda.

Evitar comer carne mal cocida y leche o queso no pasteurizados.

Evitar el consumo de carne de cordero, cerdo y ciervo mal cocida.

En caso de inmunocomprometidos el peligro de una transmisión iatrogénica a través de transfusiones repetidas de sangre o elementos sanguíneos y por trasplante de órganos infectados es primordial realizar estudios serológicos para toxoplasmosis en los donantes, utilizándose solo aquellos con serología negativa. (13, 41, 64)

Respecto al desarrollo de vacunas, se han ensayado hasta ahora dos a partir de cepas mutantes de *Toxoplasma gondii*; la primera provoca en el parásito una

inhibición genética para formar bradizoitos y quistes; y la segunda evita la producción de quistes que se diseminan en la naturaleza por las heces de los gatos. (3)

2.9. EPIDEMIOLOGÍA

La toxoplasmosis es una parasitosis de distribución mundial, se estima que en Estados Unidos el 22.5% de la población de 12 años y más, se han infectado con *Toxoplasma gondii*. Se ha demostrado en varios lugares del mundo que hasta el 95% de algunas poblaciones se han infectado con el parásito, además se han registrado, de acuerdo a diferentes ensayos serológicas que del 40 a 50% de adultos sanos entre los 30 y 40 años de edad tienen la infección. En las zonas del mundo que tienen climas calientes con humedad y altitudes bajas suele ser mayor la presentación de la infección por *Toxoplasma gondii.* (3, 14)

Se han reportado seroprevalencias muy elevadas en países como Guatemala 94% y El Salvador 80%; y bajas como en Estados Unidos 19% y Japón 7%.

En un estudio realizado en el departamento de neurovirología de la escuela de medicina en la Universidad Johns Hopkins en Estados Unidos el año 2009, se estableció una asociación firme entre toxoplasma y la etiología de la esquizofrenia, por las siguientes razones:

Muchos estudios han reportado que los individuos con esquizofrenia, en comparación con los controles, tienen una mayor prevalencia de anticuerpos para *Toxoplasma gondii,* algunas personas adultas pueden desarrollar síntomas psicóticos similares a los de la esquizofrenia, los fármacos antipsicóticos de reconocida eficacia en la esquizofrenia también inhiben al *Toxoplasma gondii* y los individuos con esquizofrenia han tenido mayor exposición a los gatos en la infancia.(19)

En Armenia, capital del Departamento de Quindío de Colombia, se realizó un estudio en mujeres gestantes donde se encontró que tener contacto con gatos menores de 6 meses es un factor de riesgo para adquirir la toxoplasmosis,

debido, posiblemente que a esa edad los gatitos son susceptibles de adquirir la infección por *Toxoplasma gondii* y excretar los ooquistes en las heces fecales. (9)

En el año 2006 se realizó un estudio seroepidemiológico transversal a *Toxoplasma gondii* en médicos veterinarios del municipio de Villavicencio obteniéndose seroprevalencias de 4.6% en IgM, 44.1% en IgG y 2.32% compartida para IgM e IgG. También se obtuvo seroprevalencia del 71.8% (287) de anticuerpos anti-IgG contra *Toxoplasma gondii* y del 2.8% (8) de anticuerpos anti-IgM contra *Toxoplasma gondii* de un estudio de toxoplasmosis y factores relacionados con las enfermedades transmitidas por alimentos en trabajadores de plantas de beneficio animal en cinco ciudades capitales de Colombia en el año 2008. (66)

En Mexico se estima que nacen dos millones de niños al año y se considera que, de estos, entre 4000 y 11600 podrían tener una infección congénita no detectada. (75)

En Ecuador en el campo de medicina veterinaria se han realizado pocos estudios de la prevalencia de toxoplasmosis en los animales domésticos, subproductos y animales de compañía.

Se encontró un estudio de prevalencia en felinos y caninos con un 16% (8/50) y 7 % (7/100) respectivamente por hemaglutinación indirecta realizado por Kuberf en el año de 1990.

Se determinó de prevalencia de *T. gondii* por inmunodiagnóstico de sueros de cerdos faenados de dos regiones andinas del Ecuador en el año 2007. (50)

Son pocos los estudios realizados de la prevalencia de toxoplasmosis en medicina humana a pesar, de ser un problema de salud pública en El Ecuador.

Para el diagnóstico de toxoplasmosis fue utilizada la técnica de aglutinación modificada en 334 muestras y la técnica de hemoaglutinación en 863 muestras

obteniendo una seroprevalencia de 49.41% (165/334) y 41.18% (335/863) respectivamente en el año de 1987. (66)

Se encontró un estudio de seroprevalencia con positividad a *Toxoplasma gondii* detectando el 69.5% (139/200) entre 200 mujeres embarazadas en el año de 1988 (Pincay) en la ciudad de Portoviejo. (50)

En 1990 se realizó un estudio seroepidemiológico en el Hospital Gineco-Obstétrico “Isidro Ayora” en 113 mujeres embarazadas donde se reportó una prevalencia de 72.6% (82/113) de toxoplasmosis. (67)

En el 2003 se obtuvo una seroprevalencia del 56.5% (279/497) en un estudio realizado para determinar anticuerpos IgG Anti-*Toxoplasma gondii* y factores de riesgo en embarazadas concurrentes al Hospital “Enrique Garcés” de la Ciudad de Quito. (68)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR Y PERIODO DEL ESTUDIO

La investigación se realizó en médicos veterinarios que laboran en clínicas, consultorios veterinarios y en centros de rescate de animalessilvestres de Quito e inmediatamente se procesó enelInstituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI)Quito.

El INSPI está ubicado en el sur de la cuidad de Quito calle Iquique N 14-285 y Yaguachi.

3.2 DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

Diseño no experimental Observacional Prospectivo

3.3 UNIVERSO

El universo estuvo constituido por 190 médicos veterinarios (información obtenida de la base de datos del Ministerio de Salud Pública), que laboran en 143 consultorios, 70 clínicas veterinarias y 2 centros de rescate de animales silvestres de Quito en julio y agosto del 2012.

3.4 TAMAÑO MUESTRAL

El muestreo fue de tipo no probabilístico, el tamaño muestral correspondió a 132 médicos veterinarios que laboran en 70 clínicas, 143 consultorios veterinarios y en 2 centros de rescate de animales silvestres de Quito. Se tomó las muestras durante julio y agosto del 2012, de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión.

3.5 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

3.5.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Médicos veterinarios que laboran de forma permanente en laboratorios, clínicas y consultorios veterinarios.

Médicos veterinarios que laboran en centros de rescates de animales silvestres.

Médicos veterinarios que laboran en Quito que aceptaron participar en la investigación.

Muestra de óptima calidad para ser procesada.

3.5.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Médicos veterinarios que laboran en forma esporádica en tiendas de mascotas.

Médicos veterinarios que laboran en consultorios, clínicas y centros de rescate ubicados fuera de Quito.

Medicos veterinarios que no aceptaron participar en la investigación.

Muestras que fueron tomadas inapropiadamente que no tuvieron las condiciones óptimas para ser procesadas (muestras hemolizadas, coaguladas, ictéricas, lipémicas).

3.6 MANEJO DE LA INVESTIGACIÓN

Durante la investigación se recogieron las muestras y se obtuvo los datos primarios que fueron registrados en las fichas de recolección de datos. Luego se procedio a procesar las muestras de acuerdo a los métodos y procedimientos que indican la técnica, tomando todas las medidas de bioseguridad.

3.6.1 ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

La realización de este proyecto contó con el consentimiento informado de médicos veterinarios que laboran en clínicas, consultorios veterinarios y en centros de rescate de animales silvestres de Quito, considerándose una codificación para los profesionales intervinientes. Por lo cual se guardó confidencialidad del caso y el uso de la información fue solo investigativa, por lo que no se infringió en alguna normativa legal.

3.6.2 FLUJO DE LA INVESTIGACIÓN

3.6.2.1 Muestreo

Para la realización de la investigación el profesional responsable tomó todas las medidas de bioseguridad para proteger su integridad y la del paciente. Para la extracción de la muestra se realizó la asepsia del pliegue o flexura del codo, sitio del cual se extrajo de 3 a 5 ml de sangre de la vena cefálica o mediana cubital, con aguja número 21 a 23 de tubo Vacutainer al vacío sin anticoagulante de 132 médicos veterinarios que laboran en clínicas, consultorios y centros de rescate para animales silvestres en julio y agosto del 2012.

Una vez extraída la sangre se rotuló el tubo con código del paciente. (49)

3.6.2.2 Manejo de las muestras

Una vez obtenidas las muestras se registró en la ficha de recolección de datos y se envió inmediatamente alelInstituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI)Quito. Posteriormente se centrifugó y obtuvo el suero que sirvió para su procesamiento, análisis y obtención de los resultados del estudio.

3.6.2.3 Procesamiento de las muestras

Una vez obtenido el suero se pudo almacenar hasta 7 días entre 2-8 ºC o por más largo tiempo a -20ºC.

En el procesamiento de las muestras para la detección de anticuerpos IgG e IgM Anti- *Toxoplasma gondii* se siguió el procedimiento exactamente como describe la técnica de ToxoIgG ORGENICS y ToxoIgM ORGENICS. (69)

3.6.2.4 Procesamiento estadístico

Para la descripción de las variables se utilizaron tablas y gráficos de distribución de frecuencias.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. UNIVERSO Y MUESTRA ANALIZADA

El universo estuvo constituido por 190 médicos veterinarios.
El muestreo fue de tipo no probabilístico, el tamaño muestral correspondió a 132 médicos veterinarios que laboran en 70 clínicas, 143 consultorios veterinarios y en 2 centros de rescate de animales silvestres de Quito. Se tomó las muestras durante julio y agosto del 2012, de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión.

PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI –*Toxoplasma gondii* EN MÉDICOS VETERINARIOS QUE LABORAN EN CLÍNICAS, CONSULTORIOS Y CENTROS DE RESCATE DE ANIMALES

Casos	#	%
Positivos	105	79,55
Negativos	27	20,45
Total	132	100,00

4.1.1. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Durante julio y agosto del 2012 que duró la investigación, se determinó que de los 132 médicos veterinarios 105 (79.55 %) tienen presencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii*, mientras los 27 (20.45 %) resultaron negativos.

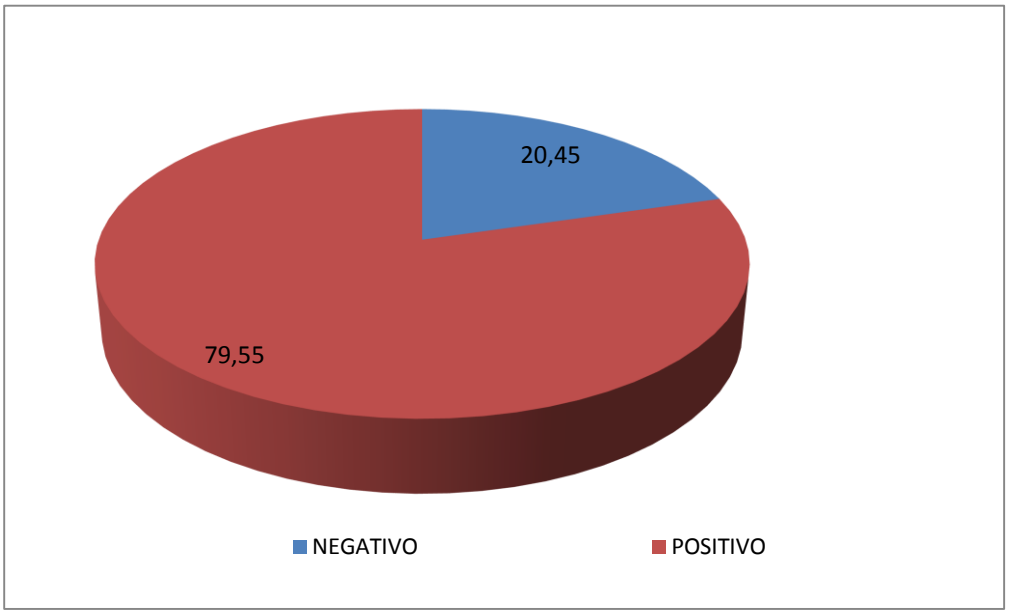
4.1.2. DISCUSIÓN

En Latinoamérica la infección con *Toxoplasma gondii* se encuentra ampliamente distribuida, detectándose anticuerpos anti- *Toxoplasma gondii* hasta el 65% en la población humana. En Chile, El Ecuador, Brasil, Panamá, Costa Rica, Cuba y Venezuela se ha descrito elevadas prevalencias de esta infección. (9)

La prevalencia de *Toxoplasma gondii* de la población en general en las diferentes áreas geográficas de El Ecuador en el año 2012 son: Costa (Esmeraldas) 90.1%; Sierra (Quito) 46.5%, (Ambato) 21.6% y (Azogues) 36.4%; Oriente (Río Napo) 60.9%. (71)

De acuerdo a la presente investigación los médicos veterinarios tienen una mayor presencia que el resto de la población. En la sierra y específicamente, en la ciudad de Quito el porcentaje es mayor, posiblemente se deba a su exposición laboral y contacto con los animales y sus fluidos en el trabajo.

GRÁFICO1. PRESENCIADE ANTICUERPOS ANTI –*Toxoplasma gondii* EN MÉDICOS VETERINARIOS QUE LABORAN EN CLÍNICAS, CONSULTORIOS Y CENTROS DE RESCATE DE ANIMALES



4.2. PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI –*Toxoplasma gondii* IgG / IgM ESTABLECIDOS MEDIANTE ELISA

	Positivos		Negativos	
T. gondii	**#**	**%**	**#**	**%**
IgG	96	72,73	36	27,27
IgM	9	6,82	123	93,18
TOTAL	105	79,55	159	120,45

4.2.1. ANÁLISIS DE RESULTADOS

De los 132 médicos veterinarios que participaron en la investigación, 96 (72.73%) fueron positivos para anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* IgG mientras que los 36 (27.27%) fueron negativos; 9 (6.82%) fueron positivos a anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* IgM mientras que los 123 (93.18%) fueron negativos

4.1.2. DISCUSIÓN

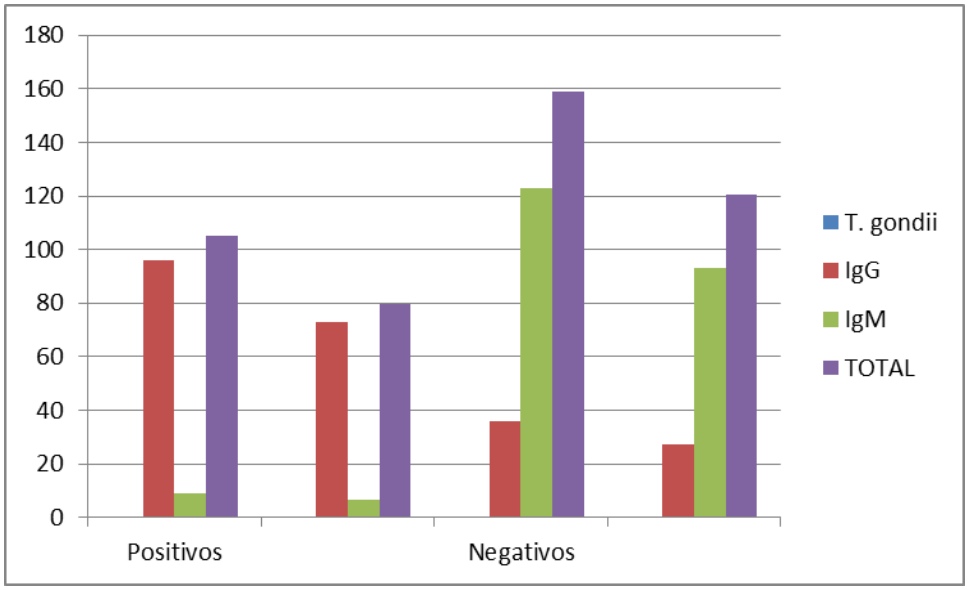
Los procentajes obtenidos de *Toxoplasma gondii* en médicos veterinarios de Quito son mayores al resto de la población, e inclusive de la investigación realizada en Villavicencio, Colombia y menor que las obtenidas en Manabí. Esto posiblemente por deficiencias higiénico-sanitarias en el área de estudio.

En médicos veterinarios de Villavicencio la seroprevalencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* IgG, fue del 44.1% y de IgM 4.6%

La población de la sierra de El Ecuador específicamente en Quito la seroprevalencia es del 46.5 % (71).

Según elCentro de Investigación y Tratamiento de Enfermedades Infecciosas e Inflamatorias Crónicas (CITEIC), la prevalencia de anticuerpos IgG en la población está representando por el 83% en la provincia de Manabí (72).

GRÁFICO 2. PRESENCIADE ANTICUERPOS ANTI –*Toxoplasma gondii* IgG / IgM ESTABLECIDOS MEDIANTE ELISA



4.3. DISTRIBUCIÓN DE CASOS SEROPOSITIVOS PARA *Toxoplasma gondii* DE ACUERDO AL GÉNERO

Género	IgG		IgM		IgG-IgM		Total	
	#	%	#	%	#	%	#	%
Masculino	53	50,47	5	4,76	2	1,90	58	55,24
Femenino	43	40,95	4	3,81	2	1,90	47	44,76
Total	96	91,43	9	8,57	4	3,8	105	100,00

4.3.1. ANÁLISIS DE RESULTADOS

De los 105 muestras seropositivas a *Toxoplasma gondii* de acuerdo al génerose obtuvo en hombres un total de 58 (55.24%) resultando 53 (50.47%) seropositivas a IgG; 5 (4.76%) seropositivas a IgM y la asociación IgG e IgM 2 (1.90%), mientras que en mujeres fue de 47 (44.76%) de los cuales 43 (40,95%)fueron seropositivas a IgG, 4 (3.81%) seropositivas a IgM y la asociación IgG e IgM 2 (1.90%) seropositivos a la infección.

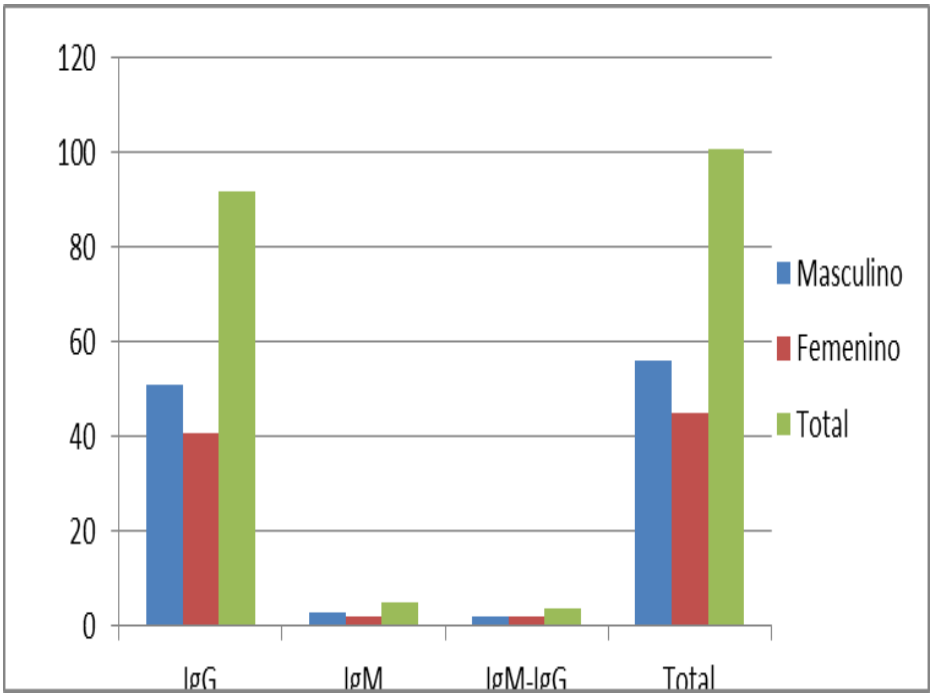
4.3.2. DISCUSIÓN

En médicos veterinarios de Villavicencio la seroprevalencia por género fue de 6.5% en hombres y 2.5% en mujeres para anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* IgM, mientras que para IgG la seroprevalencia en hombres fue 45.6% y 42.5% en mujeres. La seroprevalencia compartida de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* IgG e IgM fue del 2.32%. (9)

Según el CITEIC, en un estudio realizado en la población de la provincia de Manabí en el año 2009, la seroprevalencia fue representada por 84.4% para hombres y 16.6% para mujeres. (72)

En un estudio obtenido de veterinarios en Ontario (Canadá) se obtuvo una seroprevalencia 14.2% para IgM, mientras que en un estudio obtenidode estudiantes de medicina veterinaria y personal de la Universidad de Córdoba (España) la seroprevalencia para IgG fue de 43.25%. La seroprevalencia total obtenida por un estudio nacional de salud en Colombia fue del 47.9% para hombres y 46.3% para mujeres para IgG. (9).

GRÁFICO 3. DISTRIBUCIÓN DE CASOS SEROPOSITIVOS PARA *Toxoplasma gondii* DE ACUERDO AL GÉNERO



4.4. DISTRIBUCIÓN DE CASOS SEROPOSITIVOS PARA *Toxoplasma gondii* DE ACUERDO AL TIEMPO DE EXPOSICIÓN LABORAL

Intervalos	IgG		IgM		Total	
Exposición Laboral	**#**	**%**	**#**	**%**	**#**	**%**
1-5	53	55,21	6	66.67	59	56,19
6-10	20	20,83	3	33.33	23	21,90
11-15	13	13,54	0	0	13	12,38
16-20	4	4,16	0	0	4	3,80
21-25	3	3,13	0	0	3	2,86
26-30	2	2,08	0	0	2	1,90
31-35	1	1,04	0	0	1	0,95
Total	96	100	9	100	105	100

4.4.1. ANÁLISIS DE RESULTADOS

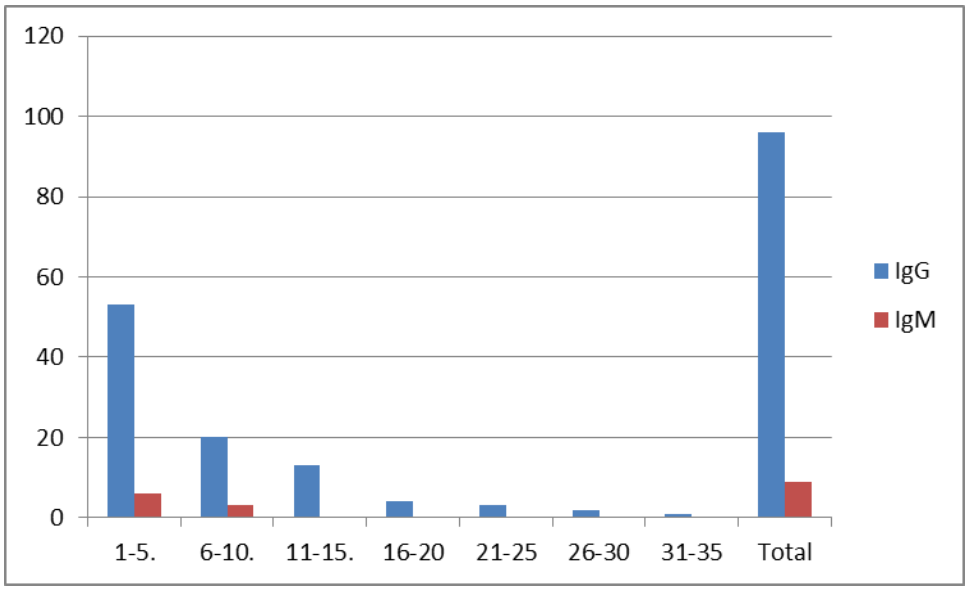
En relación a la tabla el grupo de mayor seropositividad para *Toxoplasma gondii* de acuerdo al tiempo de exposición laboral fue de 1 a 5 años con 53 casos (55.21%) para IgG que está relacionada con exposición previa y fue disminuyendo progresivamente hasta los 35 años con 1 caso (1.04%), mientras que para IgM que está relacionada con el inicio de la infección activa el grupo de mayor seropositividad fue de 1 a 5 años con 6 casos (66.67%)

4.4.2. DISCUSIÓN

Según el CITEIC, existió un pico de mayor incidencia entre las edades de 21 – 30 años que representan el 45% mientras que a partir de los 41 años esta prevalencia bajo. De acuerdo a estos datos en relación al tiempo de exposición

laboral concuerdan con la edad, siendo que el tiempo de inicio de la profesión es a partir de los 25 años. (72)

GRÁFICO 4. DISTRIBUCIÓN DE CASOS SEROPOSITIVOS PARA *Toxoplasma gondii* DE ACUERDO AL TIEMPO DE EXPOSICIÓN LABORAL



4.5. SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI –*Toxoplasma gondii* SEGÚN EL TIPO DE ANTICUERPOS

	SEROPREVALENCIA		Total	
T.gondii	**#**	**%**	**#**	**%**
IgG	96	72,73	132	100
IgM	9	6,82	132	100
TOTAL	105	79.55	132	100

4.5.1. ANÁLISIS DE RESULTADOS

De los 132 médicos veterinarios que participaron en la investigación, 96 (72.73%) fueron positivos para anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* IgG mientras que los 36 (27.27%) fueron negativos; 9 (6.82%) fueron positivos a anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* IgM mientras que los 123 (93.18%) fueron negativos y 4 (3.03%) fueron positivosa anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* IgG e IgM mientras que 128 (96,97%) fueron negativos

4.5.2. DISCUSIÓN

Los procentajes obtenidos de *Toxoplasma gondii* en médicos veterinarios de Quito son mayores al resto de la población, e inclusive de la investigación realizada en Villavicencio, Colombia y menor que las obtenidas en Manabí. Esto posiblemente por deficiencias higiénico-sanitarias en el área de estudio.

En médicos veterinarios de Villavicencio la seroprevalencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* IgG, fue del 44.1%

La población de la sierra de El Ecuador específicamente en Quito la seroprevalencia es del 46.5 % (71).

Según el Centro de Investigación y Tratamiento de Enfermedades Infecciosas e Inflamatorias Crónicas (CITEIC), la prevalencia de anticuerpos IgG en la población está representando por el 83% en la provincia de Manabí (72).

GRÁFICO 5. PREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI –*Toxoplasma gondii* SEGÚN EL TIPO DE ANTICUERPOS

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

1. Del total de 132 muestras obtenidas de médicos veterinarios que laboran en clínicas consultorios y centros de rescate en Quito se obtuvo la presencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* (IgG e IgM) del 79.55%.

2. La presencia de anticuerpos tipo IgG anti-*Toxoplasma gondii* fue 72,73% y del tipo IgM 6,82%. El 3.01% de profesionales que participaron en el estudio tienen positividad con ambos tipos de anticuerpos por lo que sugiere una infección activa.

3. La seroprositividad total deanticuerpos anti-*Toxoplasma gondii*de acuerdo al género fue mayor en hombres (55.24%) que en mujeres (44.76%).

4. La seropositividad de anticuerpos anti- *Toxoplasma gondii* en grupos de exposición fue mayor en la de 1 a 5 años con 56.19%, seguido de 6 a 10 años con 21.90% y fue disminuyendo progresivamente hasta de 31 a 35 años con un 0.95%, esto puede ser porque el inicio de la profesión es a partir de los 25 años.

5. En hombres la distribución de casos seropositivos de anticuerpos IgG fue 50.47%, de IgM fue 4.76% y para ambos tipos de anticuerpos fue de 1.90%, mientras que en mujeres las seropositividad para IgG fue 40.95%, IgM 3.81% y para la asociación IgG e IgM fue 1.90%

6. De acuerdo al tiempo de exposición laboral de 105 muestras seropositivas se obtuvo 59 casos (56.19%) del grupo de 1 a 5 años con 53 casos (55.21%) para IgG, para IgM 6 casos (66.67%) y para ambos tipos de anticuerpos 4 casos (100.00%).

7. La seroprevalencia de anticuerpos tipo IgG anti-*Toxoplasma gondii* fue 72,73% y del tipo IgM 6,82%.

5.2 RECOMENDACIONES

1. Se sugiere la realización de exámenes serológicos periódicos en médicos veterinarios a fin de conocer sus títulos de anticuerpos porque están expuestos constantemente a los hospedadores intermediarios y definitivos que pueden transmitir la enfermedad.

2. Se recomienda promover y difundir campañas educativas a los profesionales veterinarios a fin de prevenir la zoonosis.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Toxo IgM. Prueba ELISA para la detección de anticuerpos IgM contra Toxoplasma gondii en suero humano. EL-TOXOM. INF 5110901E. 06-2004-14 HUMAN.

2. Schaer Michael. Medicina Clínica del perro y del gato. Barcelona España. Elsevier. 2006. p. 50, 106, 510.

3. Antonio Atias. Parasitología Médica. Santiago Chile. Publicaciones Técnicas Mediterráneo. 2005. p. 265, 266,267, 278.

4. Henry, J. “Laboratorio”. Madrid. España. Marbán Libros SL. 2007. p. 1210, 1211, 1236.

5. Luis Eduardo Pino, Luis Eduardo; Salinas, Jorge Enrique; López, Myriam Consuelo. Descripción de un brote epidémico de toxoplasmosis aguda en pacientes inmunocompetentes miembros de las fuerzas militares de Colombia durante operaciones de selva, Bogotá, jun. 2009. tab. 13(2):83-91

6. Correa R, Cedeño I, de Escobar C, Fuentes I. Increased urban seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infecting swine in Panama. Vet Parasitol 2008; 153:9–1.

7. Spalding SM, Reis MR, Klein CH, Ribeiro LC. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 2005; 38(2):173-177.

8. Triolo M y Traviezo L. Seroprevalencia de anticuerpos contra Toxoplasma gondii en gestantes del municipio de Palavecino, Estado de Lara. Venezuela. Kasmera.2006; 34(1): 7-13.

9. Encuesta seroepidemiológica transversal de *Toxoplasma gondii* en médicos veterinarios del municipio de Villavicencio. Meta Orinoquia Oyola, L.M.;

Martinez, W.H.; Góngora, A.; Parra, J.L.; Vol. 10, Núm. 001. 2006.pp. 50-56. Universidad de Los Llanos. Colombia 2006.

10. Louis M. Weiss, Kami Kim. Toxoplasma gondii: the model apicomplexan perspectives and methods. Academic Press, 2007. p. 7,8,9.

11. Manual Merck. Editorial Océano. Sexta Edición. 2007 p. 536,535.

12. Sukthana Y. Toxoplasmosis. Beyond animals to humans. Trends parasitol. España. Elsevier. 2006. 22, 3: 137.

13. María del Rosario Pascual y Anderson. Enfermedades de origen alimentario su prevención. España Ediciones Díaz de santos 2005. Edigrafos SA.p. 118,119.

14. División of Parasitic Diseases (DPD) Natioanl Center for Zoonotic, Vector-Borne, and Enteric Diseases (ZVED) 2010. 2. Abstract.

15. Farreras Rozman: Medicina Interna, duodécima edición, Editorial Elseviert 1992.

16. Holland GN. Ocular toxoplasmosis the influence of patient age. Men Inst Oswaldo Cruz. 2009 Mar;104 (2): 351-7. Abstract.

17. Genot S, Frank J, Forel JM, Rebaudet S, Aizenberg D, de Paula AM, et al. Severe Toxoplasma gondii I/III recombinant- genotype encephalitis in a human immunodeficiency virus patient. J Clin Microbiol. 2007 Sep; 49(9):3138-40 Epub2007 Jul18. Abstract.

18. Wang HL, Wang GH, Li QY, Shu C, Jiang MS, Guo Y. Prevalence of Toxoplasma infection in first-episode schizophrenia and comparison between Toxoplasma- seropositive and Toxoplasma- seronegative schizophrenia. Acta Psychiatr Scand 2006 Jul; 114 (4):40-8. Abstract.

19. Yolken RH, Dickerson FB, Fuller Torrey E. Toxoplasma and schizophrenia. Parasite Immunol. 2009 Nov; 31(11):706-15.

20. David Botero y Marcos Restrepo. PARASITOSIS HUMANAS incluye animales venenosos y ponzoñosos y atlas en color al final. Medellín Colombia Editorial CIB.) Cuarta edición reimpresión 2006. p. 262, 263, 271, 273,274.

21. Cordero del Campillo, Rojo Vásquez F A. Parasitología Veterinaria. Madrid España. McGRAW-HIL-Interamericana de España, S.A.U. Primera Edición 1999 Reimpresión 2001. P. 667, 814

22. Dubey JP,Lindsay DS, Speer CA. Structure of Toxoplasma gondii taquyzoites, bradizoites and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clin Microbiol Review 1998; 11: 267- 99. Abstract.

23. Dubley JP, Karhemere S, Dahl E, Sreekumar C, Diabaté A, Dabiré KR, et al. First biologic and genetic characterization of Toxoplasma gondii isolates from chickens from Africa (Democratic Republic of Congo, Mali, Burkina Faso, and Kenya). J Parasitol 2005; 91: 69-72. Abstract.

24. La Toxoplasmosis en los Animales Domésticos y Silvestres criados en Cautiverio: Aspectos Epidemiológicos y Diagnóstico *Walter U. Basso, María C. Venturini. Del libro Temas de Zoonosis IV. Ed. Asociación Argentina de Zoonosis. Capítulo 39. 2009.*

25. Holland GN. Ocular Toxoplasmosis; a global reassessment. Par II disease manifestations and management. Am J Ophthalmol 2004 Jan; 137(1):1-17. Abstract.

26. Lawrence R. Ash, Tomas C. Orihel. Ash Orihel's Atlas of Human Parasitology. American Society for Clinical Pathology. Quinte Edición. 2007. P. 118.

27. López M, Corredor A, Nicholls R, Agudelo C, Alvarez C, Caceres E, et al. Atlas de Parasitología. Manual Moderno. Universidad Nacional de Colombia. 2006. P 81.

28. Gallegos.J. Berenguer .Manual de Parasitología Morfología y Biología de los parásitos de interés sanitario. Universitat. Barcelona España. 2007. p. 182,184185.

29. Harrison´s Priciples of Internal Medicine.Toxoplasma infection.16th ed. Lugar de publicación: Medical Publishing División edit; 2005. p. 1243-8.

30. Pilar Estebanes. Medicina Humanitaria. Díaz de santos 2005 Edigrafos SA. p. 334)

31. Atilio Sebastián Gómez, Adrián Maximiliano Quaranta, María Florencia Pirota Dr. Telmo Ramón Quaranta Toxoplasmosis: sus formas clinicas. Revista de Posgrado de l 16 a VI a Cátedra de Medicina - N° 165 – Enero 2007.

32. American Academy of Family Physicians (15 de mayo de 2003). «Toxoplasmosis» (en inglés). Consultado el 12 de diciembre de 2009.

33. Acha PN, Szyfres B. Toxoplasmosis. En: Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2da ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 1986, p 646-58

34. Rober B. Tailor. Medicina de familia. Principios y práctica. Barcelona España Sexta edición. Editores asociados. Alan K. Davis, Scott A. Fields, D. Melessa Phillips, Joseph E. Scharger. Elsevier. 2006. p.409, 410.

35. Garweg JG, Kodjikian L, PeyronF, Binquet C, Fleury J, Grange JD, Quantin C, Wallon M. Congenital ocular toxoplasmosis – ocular manifestations and prognosis after early diagnosis of infection. Klin Monbl Augenheikd 2005 Sep; 222(9):721-7

36. Gerald M. Fenichel. Neurología Pediátrica Clínica un enfoque por signos y síntomas. 5ta edición. Madrid España. Elsevier. 2006. P.122

37. Dodds EM. Toxoplasmosis ocular. Archivos de la Sociedad Española de Microbiología 2003; 10: 232-6

38. Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, Gilbert R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counseling. Lancet 1999; 353: 1829-33.

39. Gras L, Wallon M, Pollak A, et al. Association between prenatal treatment and clinical manifestation of congenital toxoplasmosis in infancy: a cohort study in thirteen european centres. Acta Paediatrica 2005; 94: 1721-31.

40. Durlach R, Kaufer F, Carral L, Freuler C, Ceriotto M, Rodríguez M, Freilij H, Altcheh J, Vázquez L, et al. Consenso Argentino de Toxoplasmosis Congénita Medicina (Buenos Aires) versión On-line ISSN 16699106v.68. ene./feb. 2008. Fundación Revista Medicina.

41. Maggie Fisher y John McGarry Fundamentos de Parasitología en animales de Compania. Buenos Aires Argentina. Editorial Inter- Médica. 2007 p. 134,135.

42. Dwight D. Bowman. Parasitología Veterinaria de Georgi. España. Elsevier. Octava edición. 2004. p. 106.

43. Press C, Montoya JG, Remington JS. Use of a single serum sample for diagnosis of acute toxoplasmosis in pregnant women and other adults. J Clin Microbiol 2005; 43: 3481-3.

44. Ángela Restrepo M. Fundamentos de Medicina para las Enfermedades Infecciosas. Medellín Colombia.CIB .2003. 6ta edición. p. 596, 597.

45. John P Cloherty, Eric C Eichelwald, Ann R. Stark. Manual de cuidados España Elsevier. 2005. Cuarta edición. p. 389

46. Beaman M, McCabe RE, Wong SY, Remington JS. Toxoplasma gondii. En: Mandel GL, Bennett JE, Dolin R, editores. Enfermedades infecciosas. Principios y prácticas. Tomo II. 4ta ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1997. p: 2754-70.

47. Gamazo C, López I, Goñi, Diaz R. Manual Practico de Microbiología, Barcelona España. Elsevier. 2005. 3ra edición. p. 175.

48. Young D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 4th ed. AACC Press.1995.

49. Sergio Mollinedo. José Santalla. Pamela Duran. INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD*"Dr. Nestor Morales Villazón" I.N.L.A.S.A.* PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS DE LA RED NACIONAL DE TOXOPLASMOSISNiveles I, II y IIILa Paz, Bolivia 2003

50. Meneses Freire P. Determinación de Prevalencia de *T. gondii* por inmunodiagnóstico de sueros porcinos faenados en 2 regiones andinas del Ecuador. Tesis Doctoral MVZ UCE 2007.

51. Borges AS, de Castro Fiquereido JF. Detection of anti-Toxoplasma gondii IgG, IgM and IgA immunoglobulins in the serum, cerebrospinal fluid and saliva of patients with acquired immunodeficiency síndrome and neurotoxoplasmosis. Arg Neuro-Psiquiatric 2004; 62: 1033-7.

52. Juan J. Picazo y Antonio Fuertes Ortiz de Urbina. Protocolos Clínicos de Diagnóstico Serológico Comentado.- Núm. 6 Toxoplasma gondii. Versión 1. Enero 1998

53. Yenisey A, Fraga J, Fonseca C, Jiménez N , Pinillos Taimy , Alberto J Dorta-Contreras, et al. Diagnóstico molecular de la infección por *Toxoplasma gondii* en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con SIDA Publicado el 06 de marzo 2009.

54. R. Tizard. Introducción a la Inmunología Veterinaria 1 Reseña. Elsevier España. Octava edición. Barcelona España Elsevier 2010. p. 315, 316.

55. Swapan k Nath. Sanjay G Revankar. Microbiología Basada en la Resolución de Problema. Madrid España. Elsevier Saunders Edición español 1ra. 2007

56. Richard A. Goldsby, Tomas J, Kindt Barbara Osborne, Janis Kuby. Inmunología 5ta edición. McGraw-Hill Interamericana 2004 p. 424

57. Pereira DN, Lane A de Melo, Marcos PL, Almeida RV. Toxoplasma gondii en Pereira. Parasitología Humana. Sao Paulo DN editor .11ª edición.; 2005. p. 163-73.

58. Switaj K, Master A, Skrzypczak M, Zaborowski P. Recent trends in molecular diagnostics for Toxoplasma gondii infections. Clin Microbiol Infect 2005; 11: 170–6

59. Ferreira V, Afani A, Lanza P, Aguillón JC, Sepulveda C. Inmunología Básica y Clínica. Santiago- Buenos Aires. Mediterráneo. 2005. p. 199, 200, 201, 203.

60. Heber Orlando Siachoque. Inmunología Diagnóstico e interpretación de pruebas de laboratorio. Bogotá Colombia. Centro editorial Universidad del Rosario. p.115.

61. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein J, (eds.). Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2006. p. 947-1092.

62. Fernando Rosso, Alejandro Agudelo, Ángela Isaza, José Gilberto Montoya, Toxoplasmosis congénita: aspectos clínicos y epidemiológicos de la infección durante el embarazo. Corporación Editora Médica del Valle. 2007

63. C. Montejo A. Garcia. C. Ortiz. A. Bonet, Manual de Medicina Intensiva. Tercera Edición. Madrid España. Elsevier 2006. p. 372

64. Lluis Serra Majem. Nutrición y Salud Pública España. Elsevier 2da edición. 2006 .p.505

65. Ingrid Alexandra Montealegre Santa, Yanely Angélica Valbuena, Liliana Jazmín cortes, Astrid carolina flórez Sánchez. Seroprevalencia de la toxoplasmosis y factores relacionados con las enfermedades transmitidas por alimentos en trabajadores de plantas de beneficio animal en cinco ciudades capitales de Colombia, 2008 Abstract.

66. Gonzales L, López J, Moscoso F. 1987, Miocardiopatia Toxoplásmica Crónica (presentación de 6 casos) Revista ecuatoriana de medicina . Volumen xxlll N. 1 .1987.

67. Escobar L, Torres D, 1995 Seroepidemiología en la mujer embarazada. Hospital gineco-obstétrico Isidro ayora. Revista Medica Microbiología e Infectología 2 (2) pp. 28-30.

68. Freire y Bedon 2003. Seroprevalencia de ac. IgG Anti-*Toxoplasma gondii* mas factores de riesgo en embarazadas concurrentes al Hospital Enrique Garcés. Ciudad de Quito. Tesis Doctoral, PUCE Escuela de Medicina.

69. ImmunoLISA™ Toxo IgG Orgenics 80282 000/E13/DI Version11/2006

70. ImmunoLISA™ Toxo IgM Orgenics Captura 40283000/E13/DI Version11/2006

71. http://www.farmacologiavirtual.org/index.php.Toxoplasmosis

72. Manzo,V,J. Pita,S,M. Morales,C,M. Ponce,M,M “FORTALECIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN CLÍNICA EPIDEMIOLÓGICA DE LOS

PROTOZOARIOS: TOXOPLASMOSIS EN LA PROVINCIA DE MANABÍ AÑO 2009 - PRIMER SEMESTRE 2010”

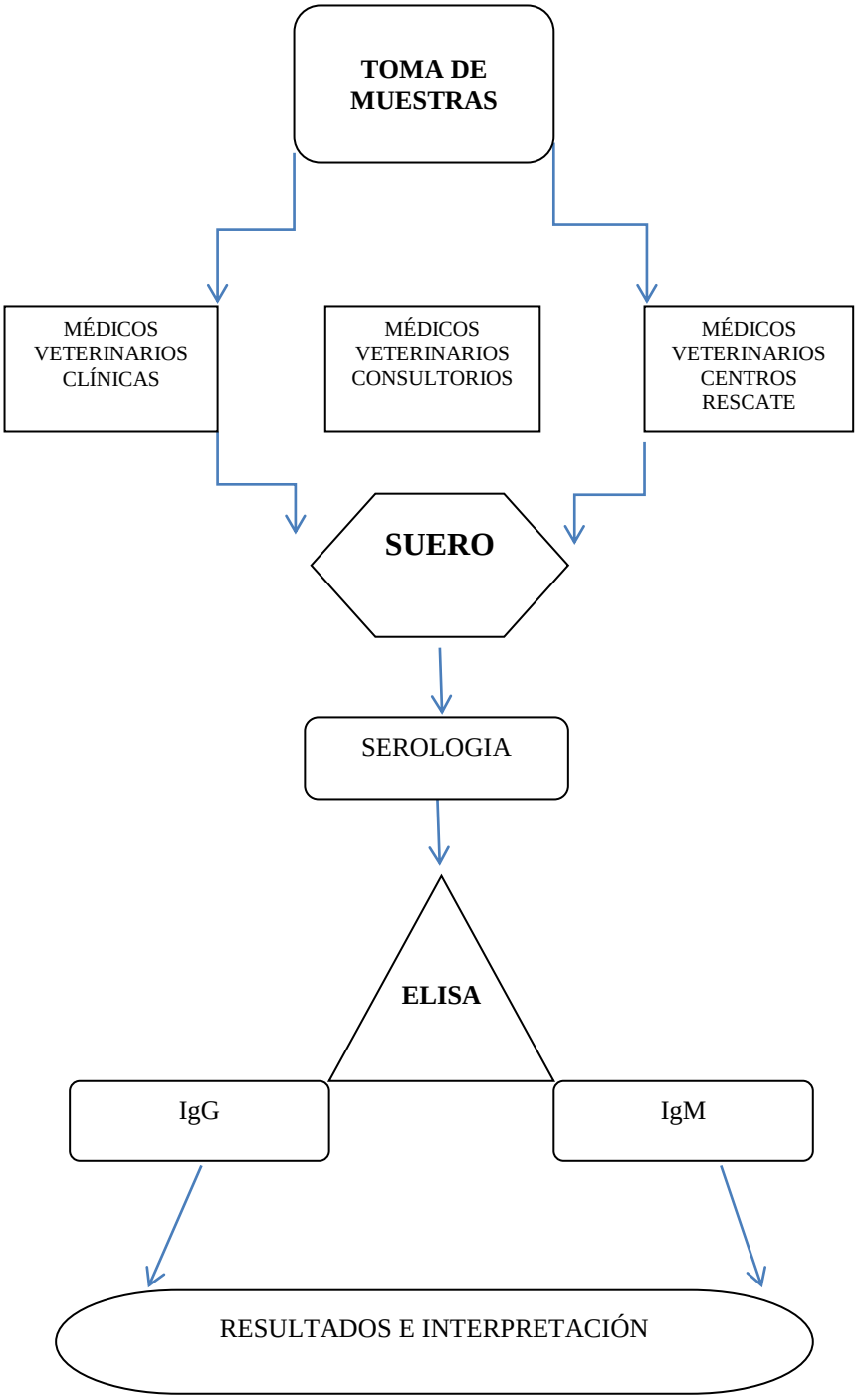
73. Etheredge,G,D. G Michael,M.P. Muehlenbeiny J.K. Frenkel. 2004. The roles of cats and dogs in the transmission of Toxoplasma infection in Kuna and Umbera Children in eastern Panamá. Rev Panam Salud Publica 16 (3) 176/86

74. Kim SJ, Scott IU, Brown GC, Brown MM, Ho AC, Ip MS, Recchia FM. Interventions for Toxoplasma Retinochoroiditis: A Report by the American Academy of Ophthalmology. Ophthalmology. 2012.

75. Galvan-Ramírez M de L, et al. Prevalence of toxoplasma infection in Mexican newborns and children: a systematic review from 1954 to 2009. ISRN Pediatr. 2012

7. ANEXOS

ANEXO 1. FLUJOGRAMA



ANEXO 2. REGISTRO DEL MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA

Código	Razón Social.
7627	RAMIREZ ROJAS CIA. LTDA.
7937	CLÍNICA VETERINARIA
8316	CLÍNICA VETERINARIA GERRITSEN
8593	VETERINARIA DOBERMAN
8594	VETERINARIA COLON
8596	VETERINARIA SAN BERNARDO
8879	CLÍNICA VETERINARIA SAN BERNARDO
8881	HOSPITAL VETERINARIO LUKY CIA. LTDA
9029	VLTFLEXX SA.
9262	LASSIE
9630	CLÍNICA VETERINARIA
10205	CLÍNICA VETERINARIA PROVETS
10469	CLÍNICA VETERINARIA BRASIL
10572	CLÍNICA ANDALUZ
11039	CLÍNICA VETERINARIA
12461	HOSPITAL VETERINARIO NORTE
12782	CLÍNICA VETERINARIA
13477	CLÍNICA VETERINARIA DSNICV
13653	CLÍNICA VETERINARIA ROTTWEILER
16538	CLÍNICA VETERINARIA
16556	CLÍNICA VETERINARIA
17152	CLÍNICA VETERINARIA ARGOS
17227	VETERINARIA COICER
17292	BEAGLE CLÍNICA VETERINARIA
17576	CLÍNICA VETERINARIA
17595	SERVICIOS VETERINARIOS ECUAVET
18530	CLÍNICA VETERINARIA CAN CAN- CENTER
18698	CLÍNICA VETERINARIA ELTRIÁNGULO
19536	CLÍNICA PHARMAPET
20511	S.O.S VETERINARIA
20762	ANIMALISIMO CLÍNICA VETERINARIA Y PET SHOP
21629	DISPENSARIO VETERINARIO
21644	CONSULTORIO VETERINARIO
21697	CLÍNICA VETERINARIA
22150	HEALTHY PETS CLÍNICA VETERINARIA
22726	MISHI GUAU
23245	SALUD ANIMAL
25886	ANIMAL HOME
26446	SU KAMPO
29741	CLÍNICA VETERINARIA SOMALI
30072	FUNDACIÓN PROTECCIÓN ANIMALES ECUADOR PAE
36852	CLÍNICA VETERINARIA METRO PET
39150	CLÍNICA VETERINARIA COLON CUVETCOL CIA. LTDA.

40148 DOGTORS CAT
41107 SAN FRANCISCO
43145 CLÍNICA VETERINARIA SHOOPY
7627 RAMÍREZ ROJAS CLA. LTDA.
9262 LASSIE
9630 CLÍNICA VETERINARIA
0205 CLÍNICA VETERINARIA PROVETS
20511 S.O.S VETERINARIA
20762 ANIMALISIMO CLÍNICA VETERINARIA Y PET SHOP
21629 DISPENSARIO VETERINARIO
21644 CONSULTORIO VETERINARIO
21697 CLÍNICA VETERINARIA
22150 HEALTHY PETS CLÍNICA VETERINARIA
22726 MISHI GUAU
29741 CLÍNICA VETERINARIA SOMALI
36852 CLINICA VETERINARIA METRO PET
39150 CLINICA VETERINARIA COLON CLJVETOL CIA. LTDA.
40148 DOGTORS CAT
41107 SAN FRANCISCO
43145 CLINICA VETERINARIA SHOOPY
9332 CONSULTORIO VETERINARIO
9411 CONSULTORIO VETERINARIO
10027 CONSULTORIO VETERINARIO JACK
10313 HOSPITAL VETERINARIO METROPOLITANO
10553 CONSULTORIO VETERINARIO
11096 CONSULTORIO VETERINARIO
111S3 CONSULTORIO VETERINARIO
11S12 CONSULTORIO VETERINARIO SAMOYEDO
12249 CONSULTORIO VETERINARIO
13674 LIQUIDADA CONSULTORIO VETERINARIO
13866 CONSULTORIO VETERINARIO
13954 DR.PETS
14123 CLÍNICA VETERINARIA PET 5 CLINIC
14483 SERVICAN CONSULTORIO VETERINARIO
14631 VETERINARIA MUNDO ANIMAL
14991 CONSULTORIO VETERINARIO BASSET HOUND
15400 CONSULTORIO VETERINARIO
15981 NOVA VETERINARIA
16026 CONSULTORIO VETERINARIO
16371 CENTRO DE ATENCION MÉDICA VETERINARIA EL QUINCHE
16860 VET ZUR CONSULTORIO VETERINARIO
16953 VETERINARIA SAN JUAN
17185 CONSULTORIO VETERINARIO
1S034 CONSULTORIO VETERINARIO DALMATA
18527 CONSULTORIO VETERINARIO
18723 CONSULTORIO VETERINARIO
18774 ASVA

19543 CONSULTORIO VETERINARIO LA BRETAÑA
19830 CONSULTORIO VETERINARIO
20272 CONSULTORIO VETERINARIO
20935 VETERINARIA K-NINO
20950 CONSULTORIO VETERINARIO GARRAS Y HUELLAS
21435 CONSULTORIO VETERINARIO
21485 CONSULTORIO VETERINARIO
21539 CONSULTORIO VETERINARIO
21564 CONSULTORIO VETERINARIO
21628 DISPENSARIO VETERINARIO
21766 CONSULTORIO VETERINARIO
21769 CONSULTORIO VETERINARIO
21989 CONSULTORIO VETERINARIO
22317 CONSULTORIO VETERINARIO LA MASCOTA
22530 CONSULTORIO VETERINARIO
22558 CONSULTORIO VETERINARIO
22662 CONSULTORIO VETERINARIO
23008 CENTRO CUNICO VETERINARIO SANTIAGO
23251 CONSULTORIO VETERINARIO VET VID
23745 CONSULTOR1O VETERINARIO
23985 CONSULTORIO VETERINARIO
24130 CONSULTORIO VETERINARIO INTEGRAL VET - SUR
25360 BLUE PET SHOP
25455 SUPERMAXCOTAS CONSULTORIO Y PETSHOP
27688 CONSULTORIO VETERINARIO
28128 CONSULTORIO VETERINARIO
29738 CONSULTORIO VETERINARIO SAN CARLOS
29816 PET STORE GOLDEN
29860 CONSULTORIO VETERINARIO
30026 CONSULTORIO VETERINARIO
30286 CONSULTORIO VETERINARIO
30581 CONSULTORIO VETERINARIO PERROS Y GATOS
31905 CONSULTORIO VETERINARIO ANIMALIA
32691 SERVICAN
33246 VETERINARIA SHIT TZU
33666 CONSULTORIO VETERINARIO
33979 CONSULTORIO VETERINARIO GRAN DANES
34082 CONSULTORIO VETERINARIO
34350 CONSULTORIO VETERINARIO
34462 MASCOTAS
42498 CONSULTORIO VETERINARIO BIOCAN
42744 CONSULTORIO VETERINARIO
42755 NUESTRAS MASCOTAS DEL VALLE
43083 CONSULTORIO VETERINARIO SAN MARTIN
433.35 MUNDO ANIMAL
44235 PET SALUD
45840 CONSULTORIO VETERINARIO

46181 ANIMAL HEALTH
46440 CONSULTORIO VETERINARIO
46480 CONSULTORIO VETERINARIO
47412 CONSULTORIO VETERINARIO
47431 LIFES SHELTER CONSULTORIO VETERINARIO
47485 SERVICIOS VETERINARIOS
7670 CONSULTORIO VETERINARIO
47754 ANIMAL KINGDOM
48551 VETERIN AGRO SALUD
48595 CONSULTORIO VETERNIARIO
48642 CONSULTORIO VETERINARIO
48713 CONSULTORIO VETERINARIO
48930 VET EXPRESS
48986 CONSULTORIO VETERINARIO
49181 CONSULTORIO VETERINARIO
49519 CLINICA VETERINARIA ZURIEL
$0014 VET VIDA NÚMERO. 2
51184 RENACER EMERGENCIAS VETERINARIAS
51313 PET SHOP VETERINARIA AMIGOS INSEPARABLES
51380 SUPERMAXCOTAS PELO- PICO-PATA
51429 MED VET CONSULTORIO VETERINARIO
51546 ECUAFARVET S.A
51549 CLÍNICA BULG DOG
51832 CONSULTORIO VETERINARIO PETS ONLY
52731 CONSULTORIO VETERINARIO
52842 LA MASCOTA
52849 CONSULTORIO VETERINARIO
53171 PETKING'S
54768 CONSULTORIO VETERINARIO
55361 CONSULTORIO VETERINARIO NUESTRAS MASCOTAS
57157 CORP. ECUATORIANA DE INSUMOS Y SERVICIOS ECUACEIS CIA. LTDA
57539 CONSULTORIO VETERINARIO
57734 CONSULTORIO VETERINARIO-APIS
58582 CONSULTORIO VETERINARIO SAN ANDRES
58740 CONSULTORIO VETERINARIO PARQUE INGLES
60707 CONSULTORIO VETERINARIO USFQ
60917 ENTRE PATAS Y COLAS
61612 CONSULTORIO VETERIANARIO KIKIRÍGUAU
240341 LA GRANJA
170937400 CLÍNICA VETERINARIA ANIMAL VET
171537556 VETERINARIA MEGAVET
171735772 CLÍNICA VETERINARIA
171736971 CLÍNICA VETERINARIA SANTO DOMINGO

ANEXO 3. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo……portador de C.I….....Doctor en Medicina Veterinaria y Zootecnia doy mi consentimiento para que el personal del Laboratorio Veterinario Biocan sección Zoonosis, realice la toma de muestra (extracción de sangre) que se utilizará en el Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical "Leopoldo Izquieta Pérez" Quito, para "DETERMINAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EN MÉDICOS VETERINARIOS QUE LABORAN EN CLÍNICAS, CONSULTORIOS Y CENTROS DE RESCATE EN QUITO. DICIEMBRE. 2012".

Nombre…….
Firma…….....
C.I……

Nombre del testigo……
Firma…….
C.I……

Lugar: ……
Fecha: ……

ANEXO 4. AUTORIZACIÓN DEL INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA

Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical "Leopoldo Izquieta Pérez" Quito

Ministerio de Salud Pública

INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE Y MEDICINA TROPICAL
"LEOPOLDO IZQUIETA PÉREZ"
DIRECCIÓN REGIONAL NORTE - QUITO

OFICIO 00866-2011-DINHMT-RN

Quito DM., 08 de Abril del 2011

Señor Doctor
Santiago Correa
MÉDICO ZOOTECNISTA
Presente.-

De mi consideración:

Mediante el presente, el Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical "Leopoldo Izquieta Pérez" Quito, brindará las facilidades de asesoría técnica por parte del personal de planta del INH, en los Laboratorios Veterinarios, para la realización del proyecto de tesis: "DETERMINAR LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-TOXOPLASMA GONDII EN MÉDICOS VETERINARIOS QUE LABORAN EL LAS CLÍNICAS, CONSULTORIOS Y CENTROS DE RESCATE EN QUITO".

Sin otro particular me es grato suscribirme de usted.

Atentamente,

Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical "LEOPOLDO IZQUIETA PÉREZ" DIRECCIÓN QUITO

Varsovia Cevallos, Ph.D.
DIRECTORA INHMT "LIP" REGIONAL NORTE

VC/GC
c/c Dr. Gustavo Salgado - COORDINADOR DEL PROCESO DE SALUD ANIMAL INH-ZN

CALLE IQUIQUE N 14 – 285 Y YAGUACHI
CASILLA 17-12-535 FAX.: (593-2) 552-715 – TELF. COM.: 2503-211 / 2502-068 / 2565-858
E-mails: inh@andinanet.net - inh@gmai.com

ANEXO 5. FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

CÓDIGO…….....EDAD…….
SEXO……FECHA DE TOMA DE MUESTRA…….
NÚMERO DE TELÉFONO……HORA……..
TIEMPO DE EXPOSICIÓN LABORAL Y SITIO DE TRABAJO
……..

TIPO DE MUESTRA
……

OBSERVACIONES
……
……
……
……

RESULTADOS
ELISA IgG……..
ELISA IgM……..

RESPONSABLE……..

ANEXO 6. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

Silla de extracción de sangre
Torniquete
Alcohol desinfectante al 70%
Torundas de algodón
Tubos al Vacío (Vacutainer) sin anticoagulante
Porta tubos
Guantes de examinación
Geles refrigerantes
Agua destilada
Micropipetas calibradas de 1000, 100 y 10 ul
Puntas para micropipetas
Porta micropipetas
Agua destilada o desionizada
Contador de tiempo con rango de 60 minutos o más

EQUIPOS

Centrífuga
Micropipetas
Lector de Elisa Erba Chem 7
Refrigerador
Vórtex
Incubadora.

REACTIVOS

Kits Análisis inmunoLISA ToxoIgG y ToxoIgM ORGENICS para la Detección de anticuerpos IgG Anti-*Toxoplasma gondii*.

ANEXO 7. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgG e IgM Anti- *Toxoplasma gondii.*

En el procesamiento de las muestras para la detección de anticuerpos IgGAnti-*Toxoplasma gondii* se siguió el procedimiento exactamente como describe la técnica.

Se prestó particular atención en el procedimiento de lavado ya que fue la etapa más crítica del análisis. Fue importante que todos los reactivos y muestras estuvieran a temperatura ambiente antes del uso.

Al comenzar el ensayo se registró cuidadosamente todas las muestras y controles en la hoja especialmente provista en el kit. También se tomó el número requerido de micropocillos y se colocó firmemente en el portatiras.

1. Se diluyó la muestra con la solución de dilución en una proporción de 1:101 adecuadamente definida como por ejemplo (1000 µl del diluyente de la muestra + 10 µl de la muestra). Para este kit no fue necesario diluir los calibradores ya que estos están listos para usar. Se mezcló cuidadosamente todos los componentes líquidos y luego se procedió como se indica a continuación.

2. Se colocó el número necesario de micropocillos en la microplaca. Se dejó los pocillos 1 y 2 (posiciones A1 Y B1 de la microplaca) para el blanco del reactivo.

3. Se añadió 100 µl de los calibradores y 100 µl de suero control por duplicado. Luego se procedió a añadir 100 µl de las muestras diluidas en relación de 1:101 en cada uno de los micropocillos que fueron previamente identificados.

4. Se procedió a incubar las microplacas durante 60 minutos a 37 º C. La microplaca se selló con el papel contraste adhesivo que se encuentra en los materiales del kit de inmunoLISA.

5. Se lavó la microplaca con una lavadora automática con la dilución de lavado en cada uno de los pocillos sacando previamente el papel de contraste adhesivo.

6. Se procedió a pipetear 100 µl del conjugado de enzimas en cada pocillo, excepto en el primer y el segundo que son los blancos del reactivo y se procedió a colocar nuevamente el papel sellador. Se tuvo cuidado de no tocar la superficie interior de los micropocillos con la punta de la pipeta al llenar con el conjugado enzimático para evitar la contaminación y se mezcló bien el conjugado de enzima en el vortex antes de su uso.

7. Se incubó las microplacas durante 60 minutos a 37 º C.
8. Se procedió a lavar nuevamente como en el paso 5.

9. Se pipeteó 100 µl de cromógeno sustrato en cada uno de los micropocillos incluyendo las posiciones A1 Y B1 y se incubó la microplaca a temperatura ambiente (18-24 º C) durante 20 minutos, evitando que se exponga a fuertes iluminaciones.

10. Se procedió a pipetear 100 µl de ácido sulfúrico en cada uno de los micropocillos, se colocó en los calibradores, suero control y las muestras.

11. Se midió la intensidad del color de la solución en cada micropocillo y su absorbancia a 450 nm. La lectura se lo realizó inmediatamente después de colocar la solución de parada y no se dejó pasar de un tiempo máximo de 20 minutos.

12. Finalmente se procedió a interpretar los resultados.

En el procesamiento de las muestras para la detección de anticuerpos IgM Anti-*Toxoplasma Gondii* se seguió el procedimiento exactamente como se describe en la técnica.

Se prestó particular atención en el procedimiento de lavado ya que es la etapa más crítica del análisis. Fue importante que todos los reactivos y muestras se encuentren a temperatura ambiente antes del uso.

Al comenzar el ensayo se registró cuidadosamente todas las muestras y controles en la hoja especialmente provista en el kit. También se tomó el número requerido de tiras o micropocillos y se colocó firmemente en el portatiras.

1. Se diluyó la muestra con la solución de dilución en una proporción de 1:101 adecuadamente definida como por ejemplo (1000 µl del diluyente de la muestra + 10 µl de la muestra) y se mezcló suavemente en el vórtex.

2. Se colocó el número necesario de micropocillos en la microplaca. Se dejó el pocillo 1 (posición A1 de la microplaca) para el blanco del reactivo.

3. Se añadió 100 µl de los calibradores y 100 µl de suero control negativo por duplicado. Luego se procedió a añadir 100 µl del control positivo en un solo micropocillo. No fue necesario diluir los controles y el calibrador ya que estos estuvieron listos para usar.

4. Se procedió a distribuir 100ul de las muestras diluidas en cada uno de los micropocillos y se comprobó que los pocillos de todas las muestras sean de color azul.

5. Se incubó las microplacas durante 60 minutos a 37ºC. la microplaca. Se selló con el papel contraste adhesivo que se encontraban en los materiales del kit de inmunoLISA.

6. Se lavó la microplaca con una lavadora automática con la dilución de lavado en cada uno de los pocillos sacando previamente el papel de contraste adhesivo.

7. Se procedió a pipetear 100 µl del inmunocomplejo Ag/Ac en cada micropocillo, excepto en el primero que es el blanco de reactivo A1 y se procedió a colocar

nuevamente el papel sellador. Se comprobó que todos los micropocillos sean de color rojo, excepto A1. Se tuvo cuidado de no tocar la superficie interior de los micropocillos con la punta de la pipeta al llenar con el inmunocomplejo Ag/Ac, para evitar la contaminación.

8. Se Incubó las microplacas durante 60 minutos a 37 º C

9. Se procedió a lavar nuevamente como en el paso 6.

10. Se pipeteó 100 µl de cromógeno sustrato en cada uno de los micropocillos incluyendo la posición A1 correspondiente al blanco de reactivo y se incubó la microplaca a temperatura ambiente (18-24 º C) durante 20 minutos, evitando que se exponga a fuertes iluminaciones.

11. Se procedió a pipetear 100 µl de ácido sulfúrico en cada uno de los micropocillos, se colocó también en el control positivo y las muestras positivas de azul a amarillo

12. Se midió la intensidad del color de la solución en cada micropocillo y su absorbancia a 450 nm. La lectura tuvo que ser leída inmediatamente después de colocar la solución de parada y no se pasó de un tiempo máximo de 20 minutos.

13. Finalmente se procedió a interpretar los resultados. (70).

ANEXO 7.1. ESQUEMA DEL ENSAYO (IgM, IgG)

MÉTODO	OPERACIÓN
Calibradores y Control Las muestras diluidas 1::101	100 µl 100 µl
Primera incubación	**60 min**
Temperatura	+37°C
1er paso de lavado	4-5 ciclos
Inmunocomplejo	100 µl
Segunda incubación	**60 min**
Temperatura	+37°C
2do paso de lavado	4-5 ciclos
TMB/H2O2	100 µl
Tercera incubación	**20 min**
Temperatura	Ambiente
Ácido Sulfúrico	100 µl
Lectura	450 nm

MÉTODO	OPERACIÓN
Calibradores y Control Las muestras diluidas 1::101	100 µl 100 µl
Primera incubación	**60 min**
Temperatura	+37°C
1er paso de lavado	4-5 ciclos
Enzima conjugada	100 µl
Segunda incubación	**60 min**
Temperatura	+37°C
2do paso de lavado	4-5 ciclos
TMB/H2O2	100 µl
Tercera incubación	**20 min**
Temperatura	Ambiente
Ácido Sulfúrico	100 µl
Lectura	450 nm

ANEXO 7.2. PROTOCOLO DE PROCESAMIENTO (IgM, IgG)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BLA	CAL4	MUE1									
B	BLA	CAL4	MUE2									
C	CAL1	CAL5	MUE3									
D	CAL1	CAL5	MUE4									
E	CAL2	CAL6	MUE5									
F	CAL2	CAL6	MUE6									
G	CAL3	SC	MUE7									
H	CAL3	SC	MUE8									

BLA: Blanco CAL: Calibrador SC: Suero Control M: Muestra

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BLA	M3										
B	NC	M4										
C	NC	M5										
D	CAL1	M6										
E	CAL2	M7										
F	PC	M8										
G	M1	M9										
H	M2	M10										

BLA: Blanco NC: Control Negativo CAL: Calibrador PC: Control PositivoM: Muestra

ANEXO 8. BASE DE DATOS PRIMARIOS

Parte 1	Absorbancia	cut-of	Título	Resultado	Resultado
Blanco	1,176				
C negativo	0,082	0,332			
C negativo	0,073	0,323			
Cal	0,941		2,913	Reactivo	
Cal	0,908		2,811	Reactivo	
C Positivo	3,015		9,334	Reactivo	
1	0,379		1,173	no reactivo	Reactivo
2	0,100		0,310	no reactivo	Reactivo
3	0,079		0,245	no reactivo	Reactivo
4	0,185		0,573	no reactivo	Reactivo
5	0,162		0,502	no reactivo	Reactivo
6	0,587		1,817	Reactivo	Reactivo
7	0,068		0,211	no reactivo	Reactivo
8	0,122		0,378	no reactivo	Reactivo
9	0,097		0,300	no reactivo	No reactivo
10	0,179		0,554	no reactivo	No reactivo
11	0,138		0,427	no reactivo	Reactivo
12	0,206		0,638	no reactivo	Reactivo
13	0,084		0,260	no reactivo	Reactivo
14	0,111		0,344	no reactivo	No reactivo
15	0,103		0,319	no reactivo	Reactivo
16	0,091		0,282	no reactivo	Reactivo
17	0,102		0,316	no reactivo	Reactivo
18	0,126		0,390	no reactivo	No reactivo
19	0,135		0,418	no reactivo	Reactivo
20	0,086		0,266	no reactivo	Reactivo
22	0,130		0,402	no reactivo	Reactivo
23	1,123		3,477	Reactivo	No reactivo
24	0,155		0,480	no reactivo	Reactivo
25	0,092		0,285	no reactivo	Reactivo
26	0,076		0,235	no reactivo	Reactivo
27	0,099		0,307	no reactivo	No reactivo
28	0,088		0,272	no reactivo	Reactivo
29	0,073		0,226	no reactivo	No reactivo
30	0,100		0,310	no reactivo	Reactivo
31	0,108		0,334	no reactivo	No reactivo
32	0,427		1,322	Reactivo	No reactivo

33	0,110		0,341	no reactivo	Reactivo
34	0,105		0,325	no reactivo	Reactivo
35	0,134		0,415	no reactivo	Reactivo
36	0,117		0,362	no reactivo	No reactivo
37	0,067		0,207	no reactivo	Reactivo
38	0,087		0,269	no reactivo	Reactivo
39	0,119		0,368	no reactivo	No reactivo
40	0,162		0,502	no reactivo	Reactivo
41	0,149		0,461	no reactivo	Reactivo
42	0,112		0,347	no reactivo	Reactivo
43	0,113		0,350	no reactivo	Reactivo
44	0,103		0,319	no reactivo	Reactivo
45	0,302		0,935	no reactivo	Reactivo
46	0,126		0,390	no reactivo	Reactivo
47	0,090		0,279	no reactivo	No reactivo
48	0,107		0,331	no reactivo	Reactivo
49	0,081		0,251	no reactivo	Reactivo
50	0,198		0,613	no reactivo	Reactivo
51	0,074		0,229	no reactivo	Reactivo
52	0,104		0,322	no reactivo	Reactivo
53	0,102		0,316	no reactivo	Reactivo
54	0,125		0,387	no reactivo	Reactivo
55	0,081		0,251	no reactivo	Reactivo
56	0,117		0,362	no reactivo	Reactivo
57	0,069		0,214	no reactivo	Reactivo
58	0,083		0,257	no reactivo	Reactivo
59	0,136		0,421	no reactivo	Reactivo
60	0,113		0,350	no reactivo	Reactivo
61	0,077		0,238	no reactivo	No reactivo
62	0,212		0,656	no reactivo	No reactivo
63	0,088		0,272	no reactivo	No reactivo
64	1,400		4,334	Reactivo	Reactivo
65	0,138		0,427	no reactivo	Reactivo
66	0,113		0,350	no reactivo	Reactivo
67	0,083		0,257	no reactivo	No reactivo
68	0,121		0,375	no reactivo	Reactivo
69	0,180		0,557	no reactivo	Reactivo
70	0,117		0,362	no reactivo	Reactivo
71	0,174		0,539	no reactivo	Reactivo
72	0,161		0,498	no reactivo	Reactivo
73	0,309		0,957	no reactivo	Reactivo
74	0,171		0,529	no reactivo	Reactivo

75	0,295		0,913	no reactivo	Reactivo
76	0,064		0,198	no reactivo	No reactivo
77	0,110		0,341	no reactivo	Reactivo
78	0,076		0,235	no reactivo	Reactivo
79	0,107		0,331	no reactivo	Reactivo
80	0,116		0,359	no reactivo	Reactivo
81	0,182		0,563	no reactivo	Reactivo
82	0,143		0,443	no reactivo	No reactivo
83	0,384		1,189	no reactivo	No reactivo

Parte 2					
	Absorbancia	**cut-of**	**Título**	**Resultado**	
Blanco	0,041			no reactivo	
C negativo	0,09	0,340		no reactivo	
C negativo	0,084	0,334		no reactivo	
Cal	0,658		1,970	Reactivo	
Cal	0,935		2,799	Reactivo	
C Positivo	2,786		8,341	Reactivo	
82	0,259		0,775	no reactivo	No reactivo
83	0,102		0,305	no reactivo	No reactivo
84	0,093		0,278	no reactivo	Reactivo
85	0,158		0,473	no reactivo	No reactivo
86	0,161		0,482	no reactivo	Reactivo
87	0,422		1,263	Reactivo	No reactivo
88	0,491		1,470	Reactivo	No reactivo
89	0,233		0,698	no reactivo	Reactivo
90	0,188		0,563	no reactivo	No reactivo
91	0,107		0,320	no reactivo	Reactivo
92	0,154		0,461	no reactivo	No reactivo
93	0,237		0,710	no reactivo	Reactivo
94	0,145		0,434	no reactivo	No reactivo
95	0,153		0,458	no reactivo	Reactivo
96	0,106		0,317	no reactivo	Reactivo
97	0,107		0,320	no reactivo	Reactivo
98	0,423		1,266	Reactivo	Reactivo
99	0,087		0,260	no reactivo	Reactivo
100	0,188		0,563	no reactivo	Reactivo
101	0,131		0,392	no reactivo	No reactivo
102	0,1		0,299	no reactivo	Reactivo
103	0,364		1,090	Reactivo	No reactivo

104	0,083		0,249	no reactivo	No reactivo
105	0,105		0,314	no reactivo	Reactivo
106	0,234		0,701	no reactivo	No reactivo
107	0,285		0,853	no reactivo	Reactivo
108	0,526		1,575	Reactivo	Reactivo
109	0,097		0,290	no reactivo	No reactivo
110	0,192		0,575	no reactivo	Reactivo
111	0,179		0,536	no reactivo	Reactivo
112	0,115		0,344	no reactivo	Reactivo
113	0,193		0,578	no reactivo	Reactivo
114	0,084		0,251	no reactivo	Reactivo
115	0,184		0,551	no reactivo	Reactivo
116	0,200		0,599	no reactivo	Reactivo
117	0,117		0,350	no reactivo	Reactivo
118	0,101		0,302	no reactivo	Reactivo
119	0,121		0,362	no reactivo	Reactivo
120	0,21		0,629	no reactivo	No reactivo
121	0,387		1,159	no reactivo	No reactivo
122	0,13		0,389	no reactivo	No reactivo
123	0,069		0,207	no reactivo	No reactivo
124	0,126		0,377	no reactivo	Reactivo
125	0,115		0,344	no reactivo	No reactivo
126	0,123		0,368	no reactivo	No reactivo
127	0,107		0,320	no reactivo	Reactivo
128	0,308		0,922	no reactivo	Reactivo
129	0,281		0,841	no reactivo	Reactivo
130	0,192		0,575	no reactivo	Reactivo
131	0,169		0,506	no reactivo	Reactivo
132	0,127		0,380	no reactivo	Reactivo

8. GLOSARIO

ANTÍGENO. Son todas las sustancias que pueden ser reconocidas por el sistema inmune adaptativo, bien sean propias o ajenas que desencadena la formación de anticuerpos y puede causar una respuesta inmunitaria.

ANTICUERPO. Son proteínas (inmunoglobulinas) secretadas por un tipo particular de células, llamadas linfocitos B. Su propósito es reconocer cuerpos extraños invasores como las bacterias, virus o parásitos y mantener al organismo libre de ellos.

BRADIZOITO. (del griego brady=lento y zoon=animal) es la forma de replicación lenta del parásito, no solo de Toxoplasma gondii, sino de otros protozoos responsables de infecciones parasitarias. En la toxoplasmosis latente (crónica), el bradizoíto se presenta en conglomerados microscópicos envueltos por una pared llamados quistes, en el músculo infectado y el tejido cerebral.

CONTACTO. Individuo (humano o animal) que ha estado en asociación con un individuo infectado, teniendo la oportunidad de adquirir la infección.

CONTAGIO. Transferencia directa del agente infeccioso desde la fuente de infección al nuevo huésped.

CONTROL. Conjunto de medidas para reducir la prevalencia o incidencia de una enfermedad o infección

CICLO EVOLUTIVO. Etapas secuenciales del desarrollo de un parásito. Si existen fases sexuales, comprende desde el cigoto hasta la generación de gametos, o desde el huevo hasta el estado adulto.
CICLO EVOLUTIVO INDIRECTO. Es aquel en el cual el parasito necesita dos o más hospedadores para desarrollarse completamente.

DIARREA. Eliminación de deposiciones con mayor contenido de agua que lo normal (contenido normal de agua: 85%).

EURÍXENO. Parásito que puede afectar varios hospedadores y varios órganos.

HOMEOTERMOS*.* Se aplica al animal capaz de regular la temperatura de su cuerpo para mantenerla constante: *las aves y los mamíferos son los únicos vertebrados homeotermos.*

HOSPEDADOR DEFINITIVO. Hospedero en el cual el parásito alcanza su madurez sexual.

HOSPEDADOR INTERMEDIARIO. Hospedero en el cual el parásito desarrolla parte de su ciclo evolutivo, sin alcanzar su madurez sexual.

INCIDENCIA. Número de casos nuevos de una enfermedad que se presentan durante un período determinado en relación con la población donde ocurren. Generalmente se expresa en forma de tasa.

INFESTACIÓN: Alojamiento, desarrollo y reproducción de artrópodos en la superficie del cuerpo, pelos, ropas objetos e incluso ambientes. Se emplea también en el caso de roedores.

INSECTO. Artrópodo con 3 pares de patas.

MIGRACIÓN. Son los recorridos que hacen las formas inmaduras o fases larvarias de los parásitos en el interior del hospedador hasta alcanzar el órgano específico y lograr su desarrollo y madurez sexual.

MORBILIDAD. Relación entre el número de afectados de una enfermedad determinada y la población total de una zona.

MORTALIDAD. Relación entre el número de muertos por todas las causas y la población total de una zona.

OOQUISTE. Es la fase esporulada de ciertos protistas, incluyendo el Toxoplasma y *Cryptosporidium*. Este es un estado que puede sobrevivir por largos períodos de tiempo fuera del hospedador por su alta resistencia a factores del medio ambiente.

PARÁSITO. Organismo que con el objeto de alimentarse, reproducirse, o de cumplir su ciclo evolutivo se aloja en otro ser vivo animal o vegetal en forma permanente o temporal produciendo ciertas alteraciones denominadas patologías.

PERIODO DE PREPATENCIA. (Del latín prae, delante, y patere, ser evidente.) Fase de una afección parasitaria que se extiende desde la contaminación hasta la aparición de los parásitos en el enfermo.

PROTOZOARIOS. Tambien llamados protozoos, son organismos microscópicos constituidos por una sola célula. Etimológicamente significa pequeño animal.

PORTADOR (INFECTADO ASINTOMÁTICO). Individuo que alberga un agente infeccioso específico, sin presentar manifestaciones de enfermedad y que puede ser fuente de infección para otros individuos.

PERIODO DE INCUBACIÓN. Intervalo que transcurre entre la infección de un sujeto susceptible (persona o animal) y el momento que presenta las primeras manifestaciones de la respectiva enfermedad.
PREVALENCIA. Número de casos de una infección o enfermedad que existe en un grupo específico de población en un momento determinado.

PREVENCIÓN. Medidas para proteger al hombre o animales contra una enfermedad. Pueden ser independientes de las destinadas al control.

QUISTE. Forma inmóvil de resistencia y de multiplicación, envuelta por una doble membrana formada por los protozoos.

RESERVORIO (DE AGENTES INFECCIOSOS). Hombre, animal, planta, suelo o materia orgánica inanimada, en los cuales el agente infeccioso vive, se multiplica y de los que depende principalmente para su subsistencia de manera que pueda ser transmitido a un huésped susceptible.

RESISTENCIA. Conjunto de mecanismos que algunas especies tienen para defenderse de la invasión o multiplicación de agentes patógenos, o contra los efectos nocivos que pueden causar los productos tóxicos, ya sea producido por éstos o de otra procedencia. (Ej: resistencia del hombre a algunos microorganismos resistencia de algunos microorganismos a antibióticos y quimioterápicos; resistencia de algunos artrópodos a insecticidas).

SENSIBILIDAD (DE UNA REACCIÓN INMUNODIAGNÓSTICA). Porcentaje de resultados positivos encontrados en individuos afectados por una determinada infección.

SEROLOGÍA (REACCIÓN). Reacción inmunodiagnóstica de laboratorio que se practica en el suero de un sujeto sospechoso con el objeto de

detectar anticuerpos y/o antígenos producidos frente a una determinada infección.

TAQUIZOITO. Son formas móviles que forman quistes en tejidos infestados por toxoplasma, y otros parásitos. Los taquizoitos se encuentran en vacuolas dentro de las células infestadas.

VECTOR. Organismo animal, generalmente artrópodo, que puede transportar activamente un agente desde la fuente infectante hasta un susceptible.

VECTOR MECÁNICO. Es el vector que lleva en el exterior de su cuerpo o en interior agentes patógenos.

VÍA DE INFECCIÓN. Sitio (s) a través de los cuales se introduce el agente etiológico en el organismo del huésped.

ZOONOSIS. Infección que se transmite en forma natural entre el hombre y animales vertebrados y viceversa.

Presidencia de la República del Ecuador

Plan Nacional de Ciencia, Tecnología, Innovación y Saberes

senescyt

REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

FICHA DE REGISTRO DE TESIS

TÍTULO Y SUBTÍTULO: PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI – *Toxoplasma gondii* EN MÉDICOS VETERINARIOS QUE LABORAN EN CLÍNICAS, CONSULTORIOS Y CENTROS DE RESCATE. QUITO 2012.	
AUTOR: SANTIAGO DAVID CORREA AUQUI	TUTOR: DR. MSc. JUAN CARLOS RUIZ CABEZAS
	REVISORES:Dra. ELENA SHINKARENKO Dr. ÁNGEL ORTÍZ
INSTITUCIÓN: UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL	FACULTAD: CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA: MAESTRÍA EN MICROBIOLOGÍA	
FECHA DE PUBLICACIÓN:	No. DE PÁGS: 83
TÍTULO OBTENIDO: MAGÍSTER EN MICROBIOLOGÍA, MENCIÓN BIOMÉDICA	
ÁREAS TEMÁTICAS: SALUD	
PALABRAS CLAVE: *Toxoplasma gondii,* ANTICUERPOS ESPECÍFICOS, MÉDICOS VETERINARIOS, ELISA, QUITO.	

RESUMEN:
Se determinó la presencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en 132 muestras de médicos veterinarios que laboran en clínicas, consultorios y centros de rescate de animales en Quito, 2012 en un estudio observacional prospectivo. Por medio del método de ELISA se detectaron los casos seropositivos IgG, IgM y sus asociaciones, se analizaron de acuerdo al sexo y tiempo de exposición laboral. Se obtuvo la presencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en 79.55%. De IgG la seroprevalencia fue de 72.73% y de IgM 6,82%. El 3.01% de profesionales que participaron en el estudio tienen positividad con ambos tipos de anticuerpos. La seropositividad total de anticuerpos anti-Toxoplasma gondii fue mayor en hombres (55.24%) que en mujeres (44.76%). La seropositividad de anticuerpos anti- *Toxoplasma gondii*en grupos de exposición fue mayor en la de 1 a 5 años con 56.19% y fue disminuyendo progresivamente hasta de 31 a 35 años con un 0.95%, esto puede ser porque el inicio de la profesión es a partir de los 25 años. En hombres la distribución de casos seropositivos de anticuerpos IgG fue 50.47%, de IgM fue 4.76% y para ambos tipos de anticuerpos fue de 1.90%, mientras que en mujeres las seropositividad para IgG fue 40.95%, IgM 3.81% y para la asociación IgG e IgM fue 1.90%.

No. DE REGISTRO (en base de datos):	No. DE CLASIFICACIÓN:	
DIRECCIÓN URL (tesis en la web):		
ADJUNTO PDF:	☐ SI X	☐ NO
CONTACTO CON AUTOR/ES	Teléfono: 0992402879	E-mail:biocanbiocan@hotmail.com
CONTACTO EN LA INSTITUCIÓN:	Nombre: Secretaria de la Escuela de Graduados	
	Teléfono: 2288086	
	E-mail: egraduadosug@hotmail.com	