



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Componente práctico de carácter Complexivo, presentado al H.
Consejo Directivo de la Facultad, como requisito previo a la
obtención del título de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TEMA:

“Identificación de la toxoplasmosis mediante pruebas serológicas en
felinos”

AUTOR:

Patricio Alexander Quinga Cedeño

TUTOR:

Dra. MVZ Diana Leticia Torres Morán Msc.

Babahoyo – Los Ríos – Ecuador

2022

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación se los dedico con mucho cariño a mi familia, quienes confiaron en mis capacidades, me apoyaron y estuvieron al pendiente de mi proceso de formación como Médico Veterinario Zootecnista, a pesar de las dificultades que se presentaron en el camino nunca se desalentaron con fin de verme lograr mis objetivos. Los amo demasiado.

AGRADECIMIENTO

Agradecimiento infinito a mis padres: María Alexandra Cedeño y Patricio Quinga. Quienes dejaron a un lado sus diferencias y nunca faltó el apoyo de su parte pese a las dificultades, confiaron y se sacrificaron para que nunca falte nada de lo necesario con la finalidad que cumpla mis metas.

A mis hermanas: Malena Quinga y Nathaly Quinga. Las cuales me hicieron sentir como en casa aun residiendo lejos de nuestra ciudad natal y nunca pusieron en duda que lograría terminar esta etapa.

Sin duda a los docentes de la carrera quienes a lo largo de este trayecto impartieron sus conocimientos con la paciencia necesaria y brindaron mucha experiencia teórica y práctica. Aquí también considero a los compañeros que se convirtieron en amigos más cercanos en el transcurso, por el apoyo mutuo y no dejarnos desmotivar para culminar la carrera.

Por último, pero no menos importante quiero agradecer a dos establecimientos y al personal que lo conforman, ubicados en la provincia de Orellana, La veterinaria pet clinic y Veterinaria Orellana. Por abrirme sus puertas de modo que logré reforzar conocimientos teóricos importantes y adquirir experiencia en el ámbito profesional. Siendo esta experiencia una motivación para culminar formación como Médico Veterinario Zootecnista.

RESUMEN

La toxoplasmosis es una de las enfermedades zoonóticas que causa muerte neonatal la cual es transmitida principalmente por los gatos, y ha ocasionado 327 muertes y hospitalización por ETA con unos 4428 decesos. Es por esto que es muy importante la temprana detección de la enfermedad la cual ocasiona múltiples daños a la salud pública, realizando diferentes tipos de pruebas serológicas, que son explicadas en el presente documento entre las cuales están la, hemaglutinación indirecta (HAI), inmunofluorescencia indirecta (IFI) y ELISA. Estas técnicas son expuestas en el presente documento teniendo en cuenta que hay algunas desarrolladas para métodos rápidos y otras que toman un mayor tiempo, pero para la realización de las técnicas de diagnóstico es necesario que se cumplan ciertos criterios como que en los gatos debe predominar el cuadro pulmonar, exámenes enzimáticos y recuento leucocitario que pueden indicar lesiones tisulares. Evidencia serológica de infecciones recientes o pasadas (IgG e IgM) Demostración de la presencia del parásito en tejidos o fluidos mediante biopsias o extracción de líquido cefalorraquídeo respectivamente.

Palabras clave: Diagnostico, toxoplasmosis, pruebas, técnica, pruebas serológicas.

SUMMARY

Toxoplasmosis is one of the zoonotic diseases that causes neonatal death which is mainly transmitted by cats and has caused 327 deaths and hospitalization for FBD with about 4428 deaths. Therefore early detection of the disease is very important, which causes multiple damages to public health, performing different types of serological tests, which are explained in this document, among which are the Sabin-Feldman (SF) test, indirect hemagglutination (HAI), indirect immunofluorescence (IIF) and ELISA. These techniques are presented in this document, considering that there are some developed for rapid methods and others that take a longer time, but to carry out the diagnostic techniques it is necessary that certain criteria be met, such as that in cats the lung picture, enzyme tests and leukocyte count that may indicate tissue damage. Serological evidence of recent or past infections (IgG and IgM) Demonstration of the presence of the parasite in tissues or fluids through biopsies or extraction of cerebrospinal fluid, respectively.

Keywords: Diagnosis, toxoplasmosis, tests, technique, serological tests.

INDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I.....	2
MARCO METODOLÓGICO	2
1.1. Definición del tema caso de estudio	2
1.2. Planteamiento del problema	2
1.3. Justificación.....	2
1.4. Objetivos	3
1.4.1. General.....	3
1.4.2. Específicos	3
1.5. Fundamentación teórica	3
1.5.1. La toxoplasmosis.....	3
1.5.1.1. Ciclo de vida	3
1.5.2. Signos de toxoplasmosis en felinos.....	4
1.5.2.1. Muerte por toxoplasmosis	5
1.5.3. Criterios que se deben cumplir para la realización de examen de toxoplasmosis en felinos	6
1.5.4. Técnicas serológicas más usadas en el diagnóstico de toxoplasmosis en felinos	6
1.5.5. Análisis de pruebas serológicas.....	6
1.5.6. Pruebas indirectas	7
1.5.6.1. Pruebas primarias	7
1.5.6.1.1. Metodología por microscopic agglutination test MAT ...	7
1.5.6.2. Pruebas secundarias.....	8
1.5.6.2.1. Diagnostico por hemaglutinación indirecta (HAI).....	8
1.5.6.2.2. Diagnostico por inmunofluorescencia indirecta (IFI).....	8
1.5.6.2.3. Metodología por indirect hemagglutination test IHAT	9
1.5.7. Pruebas directas	9

1.5.7.1. Diagnóstico de toxoplasmosis por técnica de ELISA para IgG	9
1.5.7.2. Diagnóstico de toxoplasmosis por técnica de ELISA IgM de Vircell (Granada, España)	10
1.5.7.3. Diagnóstico de toxoplasmosis por técnica de ELISA IgM de Ani-Labsystems (Vantaa, Finlandia)	11
1.5.8. Estudio de caso clínico por metodología de diagnóstico IHAT y MAT	12
1.6. Hipótesis	12
1.7. Metodología de la investigación	12
CAPITULO II.....	13
RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	13
2.1. Desarrollo del caso.....	13
2.2. Situaciones encontradas	13
2.3. Soluciones planteadas	13
2.4. Conclusiones	14
2.5. Recomendaciones	14
BIBLIOGRAFÍA.....	15
ANEXOS.....	20

ÍNDICE TABLAS

Cuadro 1. Pruebas serológicas para la detección de anticuerpos frente a T. gondii.....	20
---	-----------

ÍNDICE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Ciclo de vida del toxoplasma	21
--	-----------

INTRODUCCIÓN

Se define a la toxoplasmosis como una enfermedad infecciosa, la cual es ocasionada por el parásito protozooario *Toxoplasma gondii* que tiene la particularidad de sobrevivir en casi todos los ecosistemas que se encuentran en el mundo. Los felinos son los hospederos definitivos del parásito en el cual completan su ciclo de vida y en los animales silvestres se reproducen sexualmente y los hospederos son los que excretan miles de ooquistes los cuales son infectantes durante unos catorce días de la primoinfección (Castillo-Morales et al. 2006 y lo sostiene Grandía G. et al. 2013).

Los ooquistes infectantes alcanzan una gran resistencia a las condiciones ambientales la cual les permite vivir con una viabilidad que dura años, es de esta forma que logran infectar fuentes alimenticias y de agua en las diferentes especies domesticadas que son destinadas al consumo humano provocando una zoonosis (Ortega-Pacheco et al. 2013).

La forma de diagnóstico más usada es la serología, la cual consiste en investigar la inmunidad humoral que se presenta contra el *Toxoplasma gondii*. Es importante mencionar que se debe mantener en cuenta que las primeras inmunoglobulinas producidas son IgM, seguidas de las IgA y la IgE, las cuales permiten detectar la fase aguda de la enfermedad, posteriormente a los dos primeros meses de la infección, excepto la IgM la cual puede estar presente hasta un año después. Las inmunoglobulinas G aparecen más tardíamente, logrando alcanzar el máximo en uno o dos meses y prevalecen las mismas durante años, sirviendo como marcador serológico de la infección (Remington et al. 2004).

CAPITULO I

MARCO METODOLÓGICO

1.1. Definición del tema caso de estudio

Se describe en el presente documento a la identificación de la toxoplasmosis mediante pruebas serológicas felinos, las cuales permiten evaluar la identificación del *toxoplasma* para por medio de la misma dar un tratamiento preciso a felinos.

Es fundamental desarrollar una buena técnica de diagnóstico debido a que se habla de una enfermedad zoonótica ocasionada por la familia del *toxoplasma* llamada toxoplasmosis, y que transmite principalmente por su hospedero definitivo son los felinos.

1.2. Planteamiento del problema

Es indispensable el uso de técnicas serológicas para la detección de enfermedades como la toxoplasmosis, debido a que es una enfermedad que ocasiona múltiples daños en sus hospederos, evidenciando rara vez afecciones en los felinos, pero si ocasionando abortos y muerte fetal en otras especies, es por esto que se ha convertido en algo indispensable la identificación de la toxoplasmosis por pruebas serológicas, debido a que brindan rapidez y confiabilidad en las mismas.

1.3. Justificación

Es fundamental lograr un correcto diagnóstico de la toxoplasmosis para proporcionar un buen tratamiento y, además, evitar e intervenir en la proliferación y consecuencias de la enfermedad como lo es la muerte fetal en diferentes especies de animales, es por esto que es necesaria una rápida identificación de la enfermedad.

1.4. Objetivos

1.4.1. General

- Identificar la toxoplasmosis mediante pruebas serológicas en felinos.

1.4.2. Específicos

- Clasificar los tipos de pruebas serológicas para identificación de toxoplasmosis en felinos
- Mencionar los signos clínicos de la toxoplasmosis en felinos.

1.5. Fundamentación teórica

1.5.1. La toxoplasmosis

Según (Pfaller et al. 2006 y sostiene Murray et al. 2021) que se define a la toxoplasmosis como una enfermedad zoonótica que por lo general es benigna en los seres humanos inmunocompetentes, la cual es causada por el parásito *Toxoplasma gondii*, el cual se encuentra en el intestino de los felinos. Causa mucho daño a los fetos en mujeres embarazadas y debido al aumento de la población inmunodeprimida las formas graves son mucho más frecuentes.

De acuerdo con (Webster 2010:1), “los gatos (domésticos y salvajes) son cruciales en la epidemiología de la toxoplasmosis porque son los únicos huéspedes que pueden excretar ooquistes resistentes al medio ambiente en las heces”

1.5.1.1. Ciclo de vida

Según (Dubey 2010, Grandía G. et al. 2013) mencionan que “El ciclo biológico consiste en tres fases: la enteroepitelial (en los hospederos definitivos), la extraintestinal (en el hospederos intermediarios y definitivos) y la esporogónica, que ocurre en el medio ambiente”

Para (Dubey 2006, Grandía G. et al. 2013):

Después de la ingestión de ooquistes o quistes tisulares por los hospederos definitivos, la pared de estos es disuelta por las enzimas

proteolíticas durante la digestión. Los esporozoítos y bradizoítos son liberados y penetran el epitelio intestinal, donde desarrollan numerosas generaciones en los cinco tipos o estadios asexuales de la fase enteroepitelial (A, B, C, D y E). El ciclo sexual (gametogonia) se inicia dos días después de la ingestión de los quistes y los merozoítos inician la formación de los gametos de 3 a 15 días de la infección. Los microgametos masculinos penetran los macrogametos femeninos para formar los cigotos, los que más tarde se transforman en ooquistes y salen al lumen intestinal y al ambiente con las heces del felino.

Para (Dubey 2006 Grandía G. et al. 2013):

En la fase extraintestinal, tanto de hospederos definitivos como intermediarios, estas formas infectivas llegan simultáneamente a la lámina propia del intestino, multiplicándose en el endotelio vascular, fibroblastos, células mononucleares y leucocitos segmentados, y como resultado se forman los taquizoítos, y a partir de estos los bradizoítos. Estos últimos permanecen dentro de quistes tisulares en diferentes órganos, estableciéndose la fase crónica de la enfermedad

Según (Dubey 2010 y Grandía G. et al. 2013) “En la fase esporogónica, los ooquistes no esporulados, bajo condiciones adecuadas, se transforman en ooquistes esporulados entre 1 a 5 días, formándose cuatro esporozoítos a partir de los dos presentes inicialmente, convirtiéndose en un estadio totalmente infeccioso”.

1.5.2. Signos de toxoplasmosis en felinos

La mayoría de los felinos que cursan la enfermedad no presentan signos, pero en algunas ocasiones aparecen y se los asocia a animales jóvenes (forma congénita) e inmunodeprimidos. Se puede observar una toxoplasmosis clínica cuando el gato no puede controlar la diseminación y los taquizoítos se replican dando lugar a inflamación y necrosis tisular en diferentes tejidos y órganos (Fariñas Guerrero y Astorga Márquez 2019).

Gran parte de los cuadros clínicos se producen por una reactivación de infecciones subclínicas probablemente concomitantes con cuadros de inmunosupresión, la mayor parte de las veces su diagnóstico se dará durante la necropsia (Gutierrez et al. 2008, Biblioteca y centro de documentación e información "prof. dr. c. arsenio vasconellos 2015).

Fariñas Guerrero and Astorga Márquez (2019) muestra un listado de los síntomas más comunes:

Biblioteca y centro de documentación e información "prof. dr. c. arsenio vasconellos

- Afecciones oculares (uveítis)
- Diarrea
- Fiebre
- Hepatitis
- Inmunosupresión severa que lleva a la muerte
- Letargo
- Neumonía
- Pérdida de apetito
- Trastornos neurológicos

1.5.2.1. Muerte por toxoplasmosis

Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) han informado que en muertes por enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) la toxoplasmosis es la segunda causa más común de muerte con un estimado de 327 muertes. Y también es la cuarta causa principal de hospitalización atribuible a enfermedades transmitidas por los alimentos (un estimado de 4428 muertes) desde mediados hasta el final de la década de 2000 en los EE. UU (Jones et al. 2014).

1.5.3. Criterios que se deben cumplir para la realización de examen de toxoplasmosis en felinos

(Gutiérrez Galindo et al. 2008 y la Biblioteca y centro de documentación e información "prof. dr. c. arsenio vasconsellos 2015) comenta que se deben cumplir tres criterios para la realización de examen de toxoplasmosis en felinos como lo son: Signos clínicos consistentes de toxoplasmosis: en gatos debe predominar el cuadro pulmonar, exámenes enzimáticos y recuento leucocitario que pueden indicar lesiones tisulares, evidencia serológica de infecciones recientes o pasadas (IgG e IgM), exposición de la presencia del parásito en tejidos o fluidos mediante biopsias o extracción de líquido cefalorraquídeo respectivamente.

1.5.4. Técnicas serológicas más usadas en el diagnóstico de toxoplasmosis en felinos

Según (Oliveira et al. 2018) diagnosticar la toxoplasmosis de forma clínica en humanos y en animales es muy complejo de establecer, debido a esto el diagnóstico de laboratorios es fundamental, para poder confirmar la patología. Existen diversos métodos para la detección de toxoplasmosis como lo son las pruebas parasitológicas y serológicas. Los exámenes y pruebas parasitológicas tienen diversas dificultades por lo cual se opta por las pruebas serológicas. En las pruebas serológicas se busca los anticuerpos de las clases IgM e IgG.

En la actualidad se utilizan los métodos serológicos como son la inmunofluorescencia indirecta, aglutinación indirecta, fijación del complemento, ELISA, reacción intradérmica con toxoplasmina, inmunoabsorción-aglutinación, hemaglutinación indirecta, Western blot, e inmunoblotting, siendo las dos últimas menos utilizadas (Grandía G et al. 2013, Wang et al. 2012).

1.5.5. Análisis de pruebas serológicas

Según (Hernández-Cortazar et al. 2016) se sabe que en dependencia de los anticuerpos detectados se puede identificar o estimar la fase de infección que presenta el paciente; los signos de IgM se presentan posteriormente a una infección y disminuyen muy rápido, es debido a esto que se los usa para la detección de la enfermedad en un estado agudo, por otra parte los títulos de IgG

se encuentran bajos durante las primeras semanas y consecutivamente semanas posteriores se incrementan significativamente, en caso de detectar: – IgM y +IgG es señal de haber estado en contacto con *T. gondii* o presentarse una reinfección, +IgM y –IgG o +IgM y +IgG es señal de que *T. gondii* se encuentra en la fase aguda, los resultados de –IgM y –IgG se presumen como si no existiera factor de riesgo, sin embargo –IgM y –IgG también puede presentarse en una fase activa de la parasitosis, arrojando falsos negativos.

1.5.6. Pruebas indirectas

1.5.6.1. Pruebas primarias

1.5.6.1.1. Metodología por microscopic agglutination test MAT

Según (Dubey y Thulliez 1989) y lo sostiene (Lopes et al. 2008) que la técnica MAT (microscopic agglutination test), se encarga de detectar anticuerpos IgG, en la cual se usa un kit comercial (Toxoscreen DA; bioMérieux) y dependiendo las instrucciones del fabricante será el procedimiento, con sueros agregados a una placa de microtitulación con un fondo en U y en una disolución a 1:20 y 1:40. En cada una de las placa de prueba se incluyen controles positivos y negativos los cuales están en el kit. En el contenido de los pocillos se debe homogeneizar con el vibrador, y cubrirlo con una lámina autoadhesiva y posteriormente incubarse durante 18 h a una temperatura ambiente (18–25 °C). En las reacciones positivas se exhibe aglutinación de los taquizoítos, los cuales deben cubrir $\geq 50\%$ del diámetro del pozo. Cuando la reacción es negativa, un botón compacto o un anillo cubrieron menos del 50% del diámetro del pozo. En los resultados que se obtienen por microscopic agglutination test, se expresan como un título de anticuerpos (es decir, el recíproco de la dilución más elevada en la que la aglutinación aún se presentaba visible después de 5 a 18 horas de incubación a temperatura ambiente). Se selecciona un título de corte de 20 (2 UI/mL en relación con un suero de referencia internacional de la OMS) para maximizar tanto la sensibilidad como la especificidad de la prueba.

1.5.6.2. Pruebas secundarias

1.5.6.2.1. Diagnostico por hemaglutinación indirecta (HAI)

Entre las múltiples pruebas serológicas usadas para el diagnóstico de *Toxoplasmosis*, el diagnóstico por hemaglutinación indirecta (HAI) ofrece resultados rápidos y una mayor facilidad de realización y también es más fácil la interpretación de resultado (Cerro et al. 2008) (Suárez A. et al. 2013).

Según (Griboado et al. 2017) la prueba se fundamenta en la capacidad que poseen los anticuerpos totales anti-toxoplasma para aglutinarse cuando existe liofilizado de glóbulos rojos de carnero sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del parásito (Toxo test HAIWiener Lab). La prueba se la realiza con el suero del paciente diluido seriadamente de 1/2 a 1/2048 y más adelante se enfrenta a una suspensión antigénica de toxoplasma. Se debe tomar como diluido de corte 1/64, dependiendo a la metodología del trabajo establecida por el laboratorio.

1.5.6.2.2. Diagnostico por inmunofluorescencia indirecta (IFI)

Se ha considerado a la prueba de inmunofluorescencia indirecta como la técnica Gold entre todas las pruebas que son encargadas de la detección de anticuerpos IgG anti-*T. gondii* en el suero de los pacientes analizados (Cortés and Mancera 2009, Gonzales L. et al. 2019).

Según Guevara López (2020:40) en el proceso se debe usar un cubreobjetos con bordes circulares en el cual previamente se fijaron los trofozoítos, los cuales sirven para la identificación de la IgG presentes en el suero. Las IgG se adhieren en las paredes de los trofozoítos detectando por medio de anti-IgG marcadas con el isotiocianato de fluoresceína posteriormente los resultados se leen en el microscopio de fluorescencia en el cual se observa fluorescencia en la periferia de los taquizoítos.

1.5.6.2.3. Metodología por indirect hemagglutination test IHAT

Según (Fernandes et al. 2019:775) “Todas las muestras de suero se analizaron primero en busca de inmunoglobulina (Ig)M y anticuerpos IgG contra *T. gondii* utilizando un IHAT comercial (Toxo-Hai FUMOUZE) de acuerdo con las instrucciones del fabricante”.

En opinión a (Fernandes et al. 2019) a las muestras de suero se las agrega a una placa de microtitulación con fondo en U con una solución salina tamponada con fosfato y una suspensión de glóbulos rojos ovinos sensibilizados con antígenos de *T. gondii*. Se prueban muestras de suero a 2 diluciones, 1:80 y 1:160. El contenido de los pocillos se homogeniza golpeando lateralmente los bordes de la placa en un periodo de 2 minutos. Luego, la placa se incuba durante dos horas en una temperatura ambiente, con una protección ante la deshidratación y la vibración.

Enfatiza (Fernandes et al. 2019) Que se incorporan controles positivos y negativos en cada una de las placas de ensayo, así como en reactivos y controles de suero. Se considera que la prueba es positiva cuando una capa de eritrocitos aglutinados cubre >50% del diámetro del pozo, y un resultado negativo se da cuando un botón compacto o un anillo cubría <50% del diámetro del pozo. En los resultados que se obtienen por IHAT se expresan como un título de anticuerpos (es decir, el recíproco de la dilución más alta en la que la aglutinación aún era visible después de 2 h de incubación a temperatura ambiente). Se elige un título de corte de 80 (8 UI/mL en relación con un suero de referencia internacional de la OMS) con la finalidad de maximizar tanto la sensibilidad como la especificidad de la prueba.

1.5.7. Pruebas directas

1.5.7.1. Diagnóstico de toxoplasmosis por técnica de ELISA para IgG

Según (Cortés and Mancera 2009 y lo sostiene Ferreira Ramos et al. 2021). consiste en una técnica de detección cualitativa y cuantitativa de anticuerpos IgG contra el *Toxoplasma*. Se deben añadir muestras diluidas a los pozos de una

microplaca recubierta de antígenos de toxoplasma y se incuban. En caso de que la muestra presente anticuerpos anti-T. gondii, se los debe combinar con los antígenos fijados al pozo. Posteriormente se lavan los pozos con la finalidad de eliminar las muestras residuales y se añaden anticuerpos anti-igG, marcados con una enzima (conjugado).

Después el conjugado se fija a las IgG Anti-T. gondii los cuales se unen a los antígenos del pozo durante la primera incubación, una vez realizado ese paso se procede a un nuevo lavado con el objetivo de eliminar el material que no se ha unido, se agrega una solución de sustrato enzimático el cual posee cromógeno. En el caso de que la muestra presente una coloración azul indica que contiene IgG anti-T. gondii. Cuando el color azul cambia a amarillo indica que se ha detenido a reacción con ácido sulfúrico. Dependiendo de la intensidad del color es lo que va a indicar la cantidad de IgG anti-T. gondii presente en la muestra (Cortés and Mancera 2009 y lo sostiene Ferreira Ramos et al. 2021)

1.5.7.2. Diagnóstico de toxoplasmosis por técnica de ELISA IgM de Vircell (Granada, España)

En opinión de (Torres et al. 2011) este método se basa en el principio de la captura. Las placas de poliestireno tienen la presencia de anticuerpo anti-IgM como recubierta, es por esto que las inmunoglobulinas no unidas son expulsadas en el lavado. La muestra de suero se debe diluir a 1/2 en un volumen de 100 µl de diluyente el cual está compuesto por una solución tampón de fosfato y el estabilizante de proteínas (Proclin®) y se lo incuba una hora a 37 °C. Posteriormente se procede a realizar cinco lavados con solución tampón de fosfato más Tween 20, se utilizan 100 µl de antígeno total de *Toxoplasma* conjugado con peroxidasa, que reacciona con las IgM capturadas y el que no se une, se elimina en los lavados.

Según (Torres et al. 2011) para el revelado se usa 100 µl de sustrato tetrametilbenzidina que brinda una coloración azul que posteriormente cambia a amarillo tras la adición de la sustancia de parada (ácido sulfúrico, 0,5 M). Se debe realizar la lectura en un espectrofotómetro a 450 nm y con un filtro de

referencia de 630 nm. Los resultados son expresados en índice dependiendo con las densidades ópticas (DO) de los sueros problema y sueros control de punto de corte: DO de la muestra/media de la DO del suero control de punto de corte

1.5.7.3. Diagnóstico de toxoplasmosis por técnica de ELISA IgM de Ani-Labsystems (Vantaa, Finlandia)

Al igual que el previamente expuesto, es un método de diagnóstico basado en el principio de captura. El estuche fue realizado con la finalidad de usarlo con muestras de sangre en papel filtro (Torres et al. 2011).

Para (Torres et al. 2011) en este procedimiento se usa una variante, en la cual se realiza la dilución de muestras de suero a 1/30 en un volumen de 150 µl del diluyente que contiene una solución de anticuerpo anti-IgM humano y posteriormente se lo incuba 30 minutos en un agitador horizontal para placas a 830 rpm. También es importante realizar cuatro lavados con 400 µl de solución de lavado, en la cual se añaden 150 µl de antígeno total de la cepa Rh de Toxoplasma conjugado con peroxidasa y se incuba una hora a 37 °C en un agitador horizontal a 800 rpm. Se lo lava cuatro veces con 400 µl de solución de lavado y se añaden 150 µl de substrato tetrametilbenzidina, se incuba por 20 minutos en oscuridad sin ninguna agitación y se adicionan 100 µl de la sustancia de parada (ácido sulfúrico, 0,45 M).

En opinión de (Torres et al. 2011) para la realización de la lectura se usa un espectrofotómetro a 450 nm y con filtro de referencia de 630 nm. Se conocen los resultados en las inmunounidades enzimáticas con la fórmula basada en los valores de absorbancia (Abs): $(\text{Abs muestra} - \text{Abs control negativo}) / (\text{Abs calibrador} - \text{Abs control negativo}) \times \text{RVC}$ (valor relativo del calibrador)

1.5.8. Estudio de caso clínico por metodología de diagnóstico IHAT y MAT

Entre agosto de 2016 y febrero de 2017 los centros médicos veterinarios enviaron sangre a un laboratorio veterinario privado para la identificación serológica de la infección por *T. gondii*. Todas las muestras se recogieron con fines de diagnóstico; no se requería aprobación ética según la legislación portuguesa para la protección de los animales (Ley 92/1995 y Decreto-Ley 113/2013) (Fernandes et al. 2019).

Las muestras de sangre se centrifugaron a 1500 × g durante 10 minutos, los sueros se separaron y se almacenaron a 4 °C hasta su posterior análisis (2-3 días). También se analizaron muestras de suero de control (n = 10; 5 positivas y 5 negativas) de los Estados Unidos. Los controles positivos procedían de gatos infectados experimentalmente. Los controles negativos incluyeron 2 gatos muestreados antes de la infección experimental; otros 2 gatos infectados con *Hammondia hammondi*, un parásito muy relacionado con *T. gondii*, pero sin reactividad serológica cruzada en el huésped definitivo, el gato; y un gato seronegativo adicional (Fernandes et al. 2019).

1.6. Hipótesis

Ho= No es indispensable aprender sobre las técnicas de diagnóstico de toxoplasmosis

Ha= Es indispensable aprender sobre las técnicas de diagnóstico de toxoplasmosis

1.7. Metodología de la investigación

Se utilizará el método Cualitativo y Exploratorio basado en datos de revistas científicas, páginas web, libros, información obtenida de bibliografías de Google académico y artículos científicos; sabiendo que esta técnica exploratoria de recopilación de datos es la más adecuada para la investigación, sobre "identificación de la toxoplasmosis mediante pruebas serológicas en felinos".

CAPITULO II

RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Desarrollo del caso

El presente trabajo de consulta bibliográfica denominado tesina se lo a desarrollado con la finalidad de recolectar información de las diferentes técnicas diagnósticas para la detección de *Toxoplasmosis*, debido a que conlleva una gran importancia no solo para el paciente teniendo en cuenta que afecta también a la salud pública, tomando medidas que precautelen la salud en especial de mujeres embarazadas.

2.2. Situaciones encontradas

Según Manuel Rosado García e Iris Caridad Medina Fundora (2014:287)

Para las autoridades sanitarias constituye un reto invertir en la pesquisa y en el diagnóstico oportuno de esta parasitosis, tanto a nivel de huésped susceptible como a nivel ambiental; una visión anticipada del problema disminuiría los costos económicos y sociales de la enfermedad y sus posibles secuelas. En varios países el diagnóstico eficiente de la *Toxoplasmosis* en muestras ambientales tiene como barrera los altos costos de la tecnología a emplear. Este panorama pudiera cambiar con la introducción de métodos que proporcionen factibilidad económica y a su vez garanticen un diagnóstico eficaz del agente.

2.3. Soluciones planteadas

Para (Arroyo et al. 2008) por la factibilidad económica, se han desarrollado varios métodos que consisten en la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) para la identificación de virus, bacterias, protozoos y hongos en diferentes tipos de muestra, lo cual permite una disminución de los costos. A pesar de estar en segundo lugar después de la serología en sensibilidad, el método basado en la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) demuestra una utilidad para hacer un diagnóstico rápido y desempeñar un papel complementario a la

serología. A pesar de ser una técnica molecular, tiene mucha incidencia en la detección de toxoplasmosis es por esto que es uno de los mejores caminos a la detección de toxoplasmosis, teniendo una comparación con la técnica de PCR pero con un costo menor.

2.4. Conclusiones

En los conocimientos que fueron planteados en el presente trabajo de consulta bibliográfica se ha dado a conocer que las diferentes técnicas de detección de Toxoplasmosis mediante pruebas serológicas:

- Las técnicas serológicas son indispensables para detección de antígenos de toxoplasmosis, evitando el avance de la enfermedad.
- Es muy beneficioso realizar técnicas de serología para evitar la proliferación de la toxoplasmosis.
- Las diferentes técnicas transmiten un grado de confiabilidad, permitiendo al médico decidir la más eficaz, o la que mejor se ajuste a su necesidad.
- Ejecutando técnicas precisas se puede identificar la toxoplasmosis en sus diferentes estadios.
- Permiten realizar un tratamiento eficaz y evita la transmisión del parasito al ser humano, precautelando la salud pública.
- Es necesario realizar exámenes serológicos de toxoplasmosis como prevención a las mascotas especialmente a los gatos que se tengan dentro del hogar, si se planifica un embarazo para evitar posibles consecuencias de la enfermedad.

2.5. Recomendaciones

La realización de pruebas serológicas cuando se evidencia un mínimo signo de toxoplasmosis es muy importante, sobre todo si el paciente está acostumbrado a la ingesta de roedores, los cuales le puedan transmitir este parasito, ocasionando daños a la salud humana. También es recomendado cocinar bien los alimentos de origen cárnico para evitar el ingreso del parasito al ser humano teniendo estas como medidas profilácticas.

BIBLIOGRAFÍA

Arroyo, MI; Morales, GI; Sosa, PA; Carmona-Fonseca, J; Maestre, A. 2008. Amplificación isotérmica de ácidos nucleicos tipo LAMP para la detección de Plasmodium: nueva técnica diagnóstica. MÉD UIS 21:158–175.

Biblioteca y centro de documentación e información "prof. dr. c. arsenio vasconellos. 2015. Parasitología Clínica – Parasitosis digestivas del perro y del gato (en línea, sitio web). Consultado 8 Apr. 2022. Available at <http://www.vet.una.py/biblioteca/index.php/parasitologia-clinica-parasitosis-digestivas-del-perro-y-del-gato>.

Castillo-Morales, VJ; Castillo-Morales, K; Guzmán-Marín, E del S; Jiménez-Coello, M; Segura-Correa, J; Aguilar-Caballero, AJ; Ortega-Pacheco, A. 2006. Prevalencia y factores de riesgo de toxoplasma gondii en gatos domésticos del trópico de México mediante pruebas serológicas y moleculares. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 17:14–19.

Cerro, L; Chávez, A; Casas, E; Suárez, F; Rubio, A. 2008. Frecuencia de Toxoplasma gondii en gatos de lima metropolitana y concordancia entre las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y hemaglutinación indirecta. Rev Inv Vet Perú 20:285–290.

Cortés, LJ; Mancera, L. 2009. Concordancia entre ELISA e IFI para la determinación de anticuerpos tipo IgG contra Toxoplasma gondii. Infectio 13(2):76–82. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0123-9392\(09\)70728-3](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(09)70728-3).

Dubey, J. 2006. Comparative infectivity of oocysts and bradyzoites of Toxoplasma gondii for intermediate (mice) and definitive (cats) hosts. Vet Parasitol 140:69–75.

_____. 2010. Toxoplasmosis of animals and humans. Maryland: CRC Press :1–319.

Dubey, JP; Thulliez, P. 1989. Serologic diagnosis of toxoplasmosis in cats fed *Toxoplasma gondii* tissue cysts. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 194(9):1297–9.

Fariñas Guerrero, F; Astorga Márquez, RJ. 2019. Zoonosis transmitidas por animales de compañía: Una guía de consulta para el profesional sanitario (Spanish Edition). Amazing Books. s.l., Amazing Books, vol.1er edición. 1–388 p.

Fernandes, S; Brilhante-Simões, P; Coutinho, T; Cardoso, L; Dubey, JP; Lopes, AP. 2019. Comparison of indirect and modified agglutination tests for detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in domestic cats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 31(5):774–777. DOI: <https://doi.org/10.1177/1040638719868753>.

Ferreira Ramos, RC; Siqueira Palmer, JP; Verdan Dib, L; Fernandes Lobão, L; Lima Pinheiro, J; Ramos dos Santos, C; Antunes Uchôa, CM. 2021. Seropositividad y factores de riesgo asociados a la infección por *Toxoplasma gondii* en pacientes atendidos en el Laboratorio Municipal de Oriximiná, estado de Pará, Brasil. *Universidade Federal Fluminense* :1–11.

Gonzales L., M; Luyo A., C; Pinedo V., R; Chávez V., A; Casas A., E. 2019. Concordancia entre las técnicas de hemaglutinación indirecta e inmunoabsorción ligado a enzimas en el diagnóstico de toxoplasmosis porcina. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 30(1):357–363. DOI: <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i1.15668>.

Grandía G, R; Entrena G, Á; Cruz H, J. 2013. Toxoplasmosis en *Felis catus*: Etiología, epidemiología y enfermedad. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru* 24:131–149.

Grandía G., R; Entrena G., Á; Cruz H., J. 2013. Toxoplasmosis en *Felis catus*: etiología, epidemiología y Enfermedad (online). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 24(2):131–149. Consultado 9 Apr. 2022. Available at

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172013000200001&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

Gribaudo, L; Saretti, L; Gallego; Fernando; Miguez, V. 2017. COMPARACION ENTRE METODOLOGIAS PARA LA DETECCION DE IgG ANTI TOXOPLASMA GONDII EN SUERO. Laboratorio LABICO :1–16.

Guevara López, BAM. 2020. Seroprevalencia de toxoplasma gondii en colonias ferales de gatos de la Universidad de Guayaquil. Guayaquil, s.e. 1–72 p.

Gutiérrez Galindo, J; Ortuño Romero, A; Castellà Espuny, J; Almería de Merced, S. 2008. Parasitología clínica: parasitosis digestivas del perro y del gato. 1st ed. Multimédica ediciones veterinarias (ed.). s.l., Multimédica ediciones veterinarias. 1–144 p.

Gutiérrez Galindo, J; Ortuño Romero, A; Castellà Espuny, J; Almería de Merced, S. 2008. Parasitología clínica: parasitosis digestivas del perro y del gato. Multimédica ediciones. s.l., s.e., vol.1.

Gutierrez, J; Ortuño, A; Castella, J; Almeria, S. 2008. Parasitología Clínica. Parasitosis Digestivas del Perro y del Gato. 1ª Edición. s.l., Editorial Multimedia Ediciones Veterinarias . 1–144 p.

Hernández-Cortazar, IB; Acosta-Viana, KY; Guzmán-Marin, E; Ortega-Pacheco, A; Torres-Acosta, JF de J; Jimenez-Coello, M. 2016. Presence of *Toxoplasma gondii* in Pork Intended for Human Consumption in Tropical Southern Mexico. Foodborne Pathogens and Disease 13(12):695–699. DOI: <https://doi.org/10.1089/fpd.2016.2165>.

Jones, JL; Parise, ME; Fiore, AE. 2014. Neglected Parasitic Infections in the United States: Toxoplasmosis. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 90(5):794–799. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0722>.

Lopes, AP; Cardoso, L; Rodrigues, M. 2008. Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats from northeastern Portugal. Veterinary

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.05.007>.

Manuel Rosado García, F; Iris Caridad Medina Fundora, II. 2014. Importancia y factibilidad del diagnóstico ambiental de *Toxoplasma gondii* en Cuba Importance and feasibility of the environmental diagnosis of *Toxoplasma gondii* in Cuba (online). *Revista Cubana de Salud Pública* 40(2):286–289. Consultado 22 Mar. 2022. Available at <http://scielo.sld.cu>.

Murray, PR; Rosenthal, KS; Pfaller, MA. 2021. *Microbiología médica*. Elsevier .

Oliveira, DAD de; Roman, JL; Zabott, MV; Pinto, SB; BittencourT, LHF de B; Oyafuso, MK. 2018. SOROPREVALÊNCIA DE *Toxoplasma gondii* EM GATOS DOMICILIADOS EM PALOTINA, PARANÁ, BRASIL. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR* 20(3). DOI: <https://doi.org/10.25110/arqvet.v20i3.2017.6395>.

Ortega-Pacheco, A; Acosta Viana, KY; Guzmán-Marín, E; Segura-Correa, JC; Álvarez-Fleites, M; Jiménez-Coello, M. 2013. Prevalence and Risk Factors of *Toxoplasma gondii* in Fattening Pigs Farm from Yucatan, Mexico. *BioMed Research International* 2013:1–6. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/231497>.

Pereira, Á; Pérez, M. 2002. Toxoplasmosis. *Ambito farmaceutico* 21:123–129.

Pfaller, MA; Murray, PR; Rosenthal, KS. 2006. *Microbiología Médica*. Quinta. S.A. ELSEVIER ESPAÑA (ed.). Madrid, Espasa Calpe, S.A., vol.1.

Remington, JS; Thulliez, P; Montoya, JG. 2004. Recent Developments for Diagnosis of Toxoplasmosis. *Journal of Clinical Microbiology* 42(3):941–945. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.42.3.941-945.2004>.

Suárez A., F; Andrade Jr, H; Galisteo, A; Miguel, O. 2013. CONCORDANCIA DE LAS PRUEBAS DE ELISA Y HEMAGLUTINACIÓN INDIRECTA EN EL DIAGNÓSTICO DE LA TOXOPLASMOSIS PORCINA. *Revista de*

Investigaciones Veterinarias del Perú 13(1). DOI:
<https://doi.org/10.15381/rivep.v13i1.1712>.

Torres, E; Osorio, E; Núñez, L; Chacón, L; Castaño, ME; Rivera, R; Ramírez, ML; Enrique Gómez-Marín, J. 2011. Validation of anti-Toxoplasma IgM ELISA tests in newborn screening programs. *Asociación colombiana de infectología* 15(2):84–91.

Wang, Q; Jiang, W; Chen, Y-J; Liu, C-Y; Shi, J; Li, X. 2012. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies, circulating antigens and DNA in stray cats in Shanghai, China. *Parasites & Vectors* 5(1):190. DOI:
<https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-190>.

Webster, JP. 2010. Dubey, J.P. Toxoplasmosis of Animals and Humans. *Parasites & Vectors* 3(1):112. DOI: <https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-112>.

ANEXOS

Cuadro 1. Pruebas serológicas para la detección de anticuerpos frente a T. gondii.

Prueba	Detección de anticuerpos	Observaciones (punto de corte)
ELISA IgG	2 semanas	IgG. El incremento de títulos 4 veces en 2-3 semanas indica infección activa (1:64).
ELISA IgM	1 - 2 semanas	IgM. > 1:256 infección aguda, también si IgM y no IgG.
MAT (antígeno fijado en formalina: FF)	2 semanas	IgG, 1:25. El incremento de títulos 4 veces en 2 - 3 semanas indica infección activa. Permanecen elevados.
MAT (antígeno fijado con acetona: AC)	2 semanas	IgG altos en fases agudas. Infección activa si AC alta y baja FF, (1:100)
Hemoaglutinación indirecta (IHT) Aglutinación en látex (LAT) Inmunofluorescencia indirecta (IFI)-IgG	2 semanas	IgG. IHT es poco sensible, el incremento de títulos 4 veces en 2- 3 semanas indica infección activa.
IFI-IgM	1-2 semanas	IgM. Niveles positivos con IgG baja o negativa, infección activa. (1:64)
Prueba de Sabin-Felman	1-2 semanas	Detecta IgG e IgM. El incremento de títulos 4 veces en 2-3 semanas indica infección activa (1:16)

Fuente: Gutiérrez Galindo et al. 2008

En la tabla 1 se muestra las distintas técnicas para detección contra T. gondii.

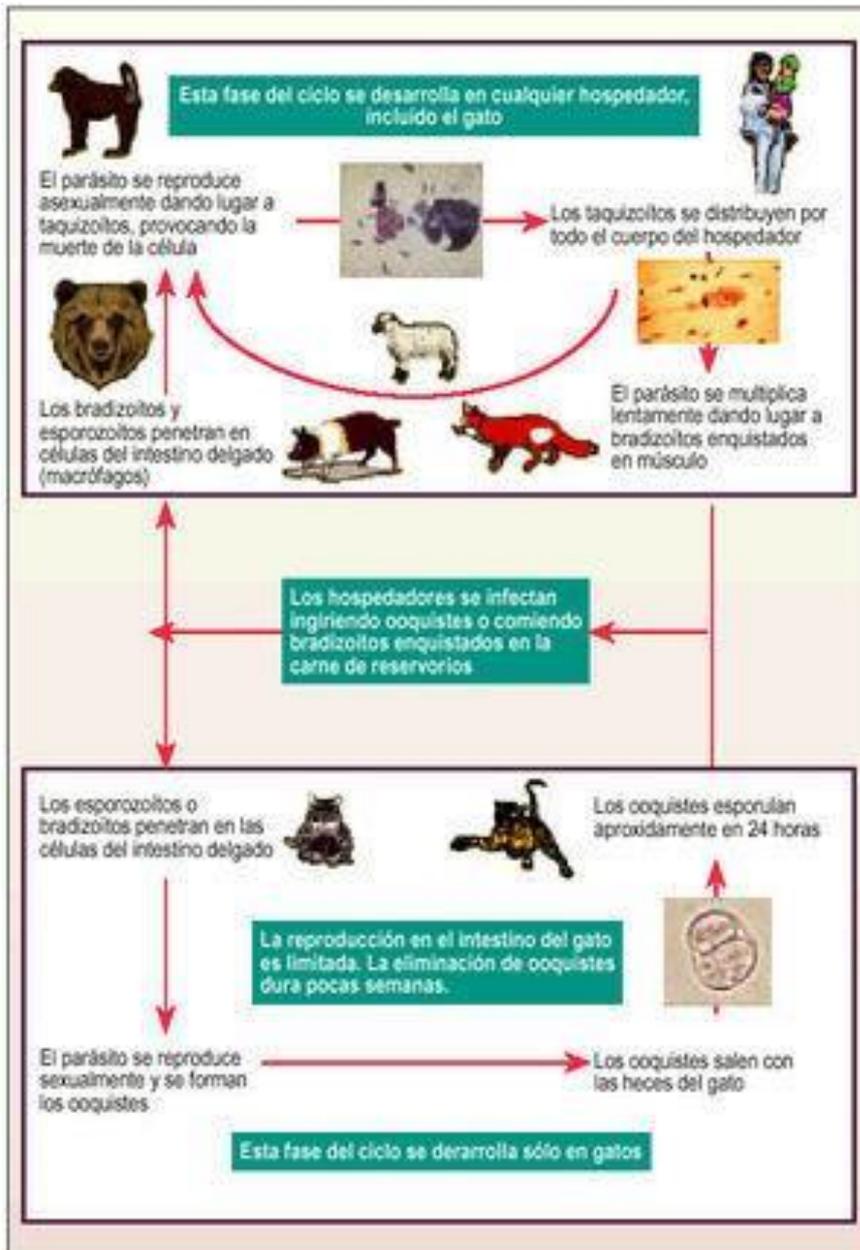


Ilustración 1 Ciclo de vida del toxoplasma

Fuente: Pereira y Pérez (2002)