



UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO” DE MANABÍ

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TEMA:

ÍNDICE DE TOXOPLASMA EN UNA MUJER GESTANTE.

AUTOR:

MARCOS WILFRIDO MENÉNDEZ CHICA.

TUTOR:

DRA. RUTH MOREIRA.

MANTA – ECUADOR

Agosto 2017

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Título:

“ÍNDICE DE TOXOPLASMA EN UNA MUJER GESTANTE”

Autor: Marcos Wilfrido Menéndez Chica.

Asesor: Dra. Ruth Moreira Vínces.

Lcdo. Pablo Barreiro Mg.

Miembro de tribunal

Dra. Patricia Gómez Mg.

Miembro de tribunal

Dr. Yuri Medrano Mg.

Miembro del tribunal

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD Y RESPONSABILIDAD

Yo, Marcos Wilfrido Menéndez Chica portador de la cédula de identidad N° 131304508-8, declaro que los resultados obtenidos en la investigación que presento como informe final, previo a la obtención del título de “Licenciado en laboratorio clínico” son absolutamente originales, auténticos y personales.

En tal virtud, declaro que el contenido, las conclusiones y los efectos legales y académicos que se desprenden del trabajo propuesto de investigación y luego de la redacción de este documento son y serán de mi sola, exclusiva responsabilidad legal y académica.

.....

Marcos Wilfrido Menéndez Chica.

CERTIFICACIÓN

Dra. Ruth Moreira Vincés, Docente asesor de la UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI, certifica que:

El estudio de caso realizado por Marcos Wilfrido Menéndez Chica, bajo el título “**ÍNDICE DE TOXOPLASMA EN UNA MUJER GESTANTE**” reúne los requisitos de calidad, originalidad y presentación exigibles a una investigación científica y que han sido incorporadas al documento final, las sugerencias realizadas, en consecuencia, está en condiciones de ser sometida a la valoración del Tribunal encargada de juzgarla.

.....

Dra. Ruth Moreira Vincés

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi familia:

A mis padres que me han guiado a lo largo de mi vida,

A mis hermanos que han sido mi compañía, soporte y por los cuales daría mi vida,

Dedico este trabajo a mis amigos, demás familiares y a mi querido cantón Jama en el que me encuentro emprendiendo.

Dedico este trabajo a Dios al cual me entrego día a día y pongo bajo su protección la vida de quienes amo y estimo.

Marcos Menéndez.

AGRADECIMIENTO

Agradezco profundamente a Dios y a mi familia, por guiarme en el sendero correcto de la vida, cada día en el transcurso de mi camino e iluminándome en todo lo que realizo en mi convivir diario.

A mi Tutor Dra. Ruth Moreira Vines por la paciencia y por guiarme en cada paso de este trabajo de investigación.

A la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí que me brindó la oportunidad de culminar mi carrera profesional, a los docentes que impartieron sus conocimientos y experiencias en el transcurso de mi vida estudiantil ayudándome de una u otra forma para hacer posible la realización de este trabajo.

Al Centro de Salud “Jama” 24 horas que me apoyó para realizar las prácticas e investigaciones cada día, en el tiempo que duró el trabajo de investigación.

A mis amigos y amigas y a todas las personas que me incentivaron y me motivaron para seguir adelante con los objetivos de este propósito.

Marcos Menéndez.

RESUMEN

Este estudio de caso trata sobre la calidad de la prueba de índice de toxoplasma (IgG e IgM anti-T gondii) como factor importante de diagnóstico en una paciente en estado de gestación. Se pretende garantizar el proceso de obtención de la muestra, así como verificar el del equipo lector de microplacas de tipo ELISA y Cassette Cromatográfico para determinación de toxoplasma. Se valorará la prueba de lector de microplacas de tipo ELISA y Cassette Cromatográfico para determinación de toxoplasma mediante análisis de inter-comparación.

La paciente de 29 años, de instrucción educativa secundaria, soltera, procedente de El cantón Jama, la cual se considera de raza mestiza, ejecutiva del hogar, 2 embarazos + embarazo actual, 1 hijo vivo, cero cesáreas y 1 aborto; cuya última labor de parto fue hace 2 años.

En el centro de salud se realizan controles prenatales existió un caso en que la paciente presento malestares acompañados de fiebre y amenaza de aborto lo cual en dependencia de sus antecedentes y sus síntomas podría suponer un cuadro de toxoplasmosis, siendo necesario realizar los controles tan pronto como sea posible en la gestación mediante el torch . La cual en caso de ser positiva debe repetirse todos los meses o cada tres meses (Idealmente durante el primer trimestre o previo al embarazo).

Una adecuada educación sanitaria de las comunidades en general, así como la adopción de medidas tendientes a mejorar las condiciones de higiene y saneamiento básico de la población son factores relevantes en el control de esta infección, el Centro de Salud “Jama” no cuenta con un proceso ordenado, sistemático y orientado a la prevención, por lo que se considera como debilidad; es por esto que la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí ha tomado esto como estudio de caso, que conlleva a desarrollar propuestas que mejoren al bienestar del paciente.

Palabras clave: infección, toxoplasmosis, gestación,

ABSTRACT

This case study deals with the quality of the toxoplasma index test (IgG e IgM anti-T gondii) as an important diagnostic factor in a gestational patient. It is intended to guarantee the process of obtaining the sample, as well as to verify the equipment of the reader of microplates of type ELISA and Cassette Chromatographic for determination of toxoplasma. The test of ELISA and Chromatographic Cassette for toxoplasma determination will be evaluated by means of inter-comparison analysis.

The patient, 29 years old, secondary educational instruction, single, coming from the community of the Jama, which is considered mestizo, household executive, 2 pregnancies + current pregnancy, 1 live child, zero cesarean section and 1 abortion; Whose last labor was two years ago.

It has been detected that many patients arrive at the "Jama" Health Center 24 hours for their prenatal controls with some discomforts and low grade fever which could lead to a picture of toxoplasmosis; So it is necessary to perform the controls as soon as possible during gestation (ideally during the first trimester or before pregnancy) and in the sero-negative women every month or every quarter after the first test.

Appropriate sanitary education of the communities in general, as well as the adoption of measures to improve hygiene conditions and basic sanitation of the population are relevant factors in the control of this infection, the "Jama" Health Center does not have a orderly, systematic and prevention-oriented process, so it is considered as weakness; This is why the Laica Eloy Alfaro de Manabí University has taken this as a Case Study.

Key words: infection, toxoplasmosis, gestation

ÍNDICE

INDICE GENERAL	pag.
TRIBUNAL DE GRADUACIÓN	I
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD Y RESPONSABILIDAD.....	II
CERTIFICACIÓN	III
DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTO	V
RESÚMEN	VI
ABSTRACT.....	VII
ÍNDICE	VIII

CAPÍTULO I

. Justificación	1
-----------------------	---

CAPÍTULO II

Informe del caso.....	5
. Definición del caso	5
. Presentación del caso	5
. Ámbito de estudio.....	6
Actores implicados	6
Identificación del problema	6
Metodología.....	7
Lista de preguntas	7

2.2.2. Fuentes de información.....	7
2.2.3. Técnicas para la recolección de información.....	7
2.2.4. Técnica de laboratorio clínico.....	8
2.2.4.1 Procedimiento analítico.....	12
2.2.4.2 Encuesta dirigida a los pacientes	15
2.2.4.3 Entrevista a médicos especializados.....	15
2.2.4.4 Observación de campo.....	16
2.3. Diagnóstico	17

CAPÍTULO III

Propuesta de intervención.....	15
Denominación de la propuesta.....	15
Objetivos de la propuesta.....	15
Fundamentación de la propuesta.....	16
. El control de calidad de la prueba de índice de Toxoplasma.....	20
Garantía y aseguramiento de la calidad.....	20
Procesos de laboratorio clínico.....	20
Planteamiento de la propuesta	1621
Actividades y tareas	22
Referencias bibliográficas.....	23

CAPÍTULO I

JUSTIFICACIÓN

La toxoplasmosis es una enfermedad zoonótica, (Amendoeira MRR, 1999) generalmente benigna en personas inmunocompetentes causando por *Toxoplasma gondii* (*T gondii*) el cual es un parásito de los felinos. La infección humana es frecuente, pero pocas veces produce síntomas. Cuando ocurre en la mujer embarazada existe el riesgo de transmisión al feto con diferentes consecuencias. Con el aumento de la población de inmunodeprimidos las formas graves son más frecuentes. (Murray KS., 2006)

Presenta riesgo de transmisión vertical al feto en una primera infección durante la gestación, la cual puede producir morbilidad significativa en el feto y recién nacido con posibles secuelas a largo plazo en niños y adultos (Kuchar A, 1996)

Dichas secuelas pueden ser desde la típica tetrada de Sabin (coriorretinitis, hidrocefalia, calcificaciones y retardo psicomotor) a un cuadro visceral (hepatoesplenomegalia, ictericia), sepsis o totalmente inespecífico (Wilson M., 2002).

Se estima que al menos una tercera parte de la población adulta ha estado en contacto con el parásito, lo que convierte en unas infecciones parasitarias más prevalentes en el mundo. La distribución de la infección tiene variaciones que dependen de las condiciones ambientales, hábitos culturales y especies animales con las que se convive (Díaz I., 2010).

Cada año, en Ecuador aproximadamente 300.000 mujeres se embarazan, pero no todas ellas recibirán una atención de calidad como les corresponde de acuerdo a sus derechos ciudadanos (MSP, 2008).

Un control prenatal óptimo según las normas del Ministerio de Salud Pública del Ecuador, comprende un mínimo de cinco chequeos por personal profesional de salud calificado (médico u obstetra) durante el periodo de embarazo de bajo riesgo (MSP, 2008)

Para el diagnóstico de toxoplasmosis en pacientes inmunocompetentes comúnmente se realizan los test serológicos de detección de inmunoglobulina G (IgG) y M (IgM). (Wilson M, 1997)

Una gran variedad de estas técnicas está siendo usada para este propósito, pero las mismas presentan diferente sensibilidad y especificidad. En la mayoría de los casos un título positivo para IgG es suficiente para establecer que el paciente ha sido infectado con *T. gondii*. Por el contrario, debido a que los anticuerpos IgM pueden persistir por más de un año después de la infección aguda, su valor más grande es que un resultado negativo indica que no se trata de una infección adquirida recientemente a no ser que el suero sea estudiado tempranamente y antes de que la respuesta haya sido desarrollada o sea indetectables (Bobic B, 1991)

Debido a la variación individual, el nivel de IgG específica es una muestra no permite una determinación precisa del tiempo de infección con toxoplasma gondii. El valor predictivo de la positividad de toxoplasma-IgM varía fuertemente de un ensayo a otro, según la opinión actual, es insuficiente para el diagnóstico (Wilson M., 2002)

Se han utilizado dos determinantes de la calidad de las IgG específicas en el serodiagnóstico del toxoplasma: la avidez de las IgG (afinidad funcional) (Hedman K, 1989) y la "especificidad de la etapa" de IgGb, que representaron la reactividad diferencial con dos preparaciones de antígeno distintas en el ensayo de aglutinación. Para las primeras IgG (Thullinz P, 1989). Entre los ensayos de avidez de toxoplasma-IgG existentes de diferentes configuraciones, se han descrito resultados muy buenos (Jenum PA, 1997) pero también subóptimos (Ashburn D, 1998). El ensayo de aglutinación para IgG, utilizado en sólo unos pocos laboratorios, ha demostrado promesa como un método de confirmación (Gomez JE, 1995)

Así pues, nos encontramos con una colección de técnicas para el diagnóstico de la infección aguda por *Toxoplasma*, pero parece que ninguna de ellas es suficientemente sensible y específica como para permitir caracterizar en una única muestra el estado de infección aguda en la mujer gestante. En este sentido es muy ilustrativo el trabajo de Roberts et al. en 2001. Se trata de un estudio multicéntrico de ámbito europeo para la evaluación de diferentes estrategias en el diagnóstico serológico de la infección primaria

por *T. gondii*. Participaron once centros que realizaban diferentes técnicas de IgM, IgA, IgE y avidez de IgG ((Roberts A, 2001)

Tras el análisis de cada una de las técnicas y de su uso combinado, estos autores llegan a la conclusión de que ningún ensayo ni ninguna combinación de ellos es capaz de distinguir las infecciones agudas de las infecciones ocurridas entre los 3 y los 12 meses anteriores. En este mismo estudio, los mejores resultados se obtienen con la combinación de la determinación de IgM junto al estudio de avidez de la IgG(Roberts A, 2001)

En este sentido, con las técnicas actualmente disponibles, cuyas prestaciones no permiten establecer el diagnóstico de infección aguda basándose en los resultados individuales de ninguna de ellas, es necesario que cada centro defina su estrategia diagnóstica por combinación de las técnicas que habitualmente utilice según lo planteado por (Wilson M., 2002).

Se define como cierta la infección en la cual se ha podido demostrar:

- Seroconversión en dos muestras recogidas después de la concepción.
- Cultivo positivo en sangre materna.
- Demostración de infección congénita en el niño (PCR en líquido amniótico).

Se define como probable la infección cuando:

- Existe seroconversión entre dos muestras, la primera de las cuales se ha recogido antes de la gestación (en los dos meses previos).
- Aumento significativo de los títulos de IgG en presencia de IgM o IgA.
- Títulos altos de IgG, presencia de IgM o IgA y adenopatías durante el embarazo.
- Títulos altos de IgG y presencia de IgM o IgA en la segunda mitad del embarazo.

Se define como posible la infección si se determinan:

- Títulos estables de IgG sin IgM en la segunda mitad del embarazo.
- Títulos altos de IgG en presencia de IgM o IgA en la primera mitad del embarazo.

Se considera rara la infección cuando:

- Títulos estables y bajos de IgG, con o sin IgM.
- Títulos estables de IgG sin IgM al comienzo del embarazo.

Se define como no-infección primaria materna durante el embarazo a la paciente:

- Seronegativa durante el embarazo.
- Seropositiva antes del embarazo.
- IgM o IgA positivas sin aparición de IgG.

Para la obtención de la información se elaborarán y aplicarán técnicas de estudio para identificar las características socio-epidemiológicas del paciente en estudio. Paralelo a ello, se realizarán de manera aleatoria y periódica, procedimientos de análisis de índice de toxoplasma, utilizando el método de análisis de IgM e IgG. Todos los procedimientos de análisis de IgM e IgG, utilizando el método lector de microplacas de tipo ELISA y Cassette Cromatográfico los cuales se describen en este documento con la finalidad de que este estudio de caso sea replicable.

Posteriormente, se procederá a comparar los resultados de índice de toxoplasma, con los síntomas de toxoplasmosis en mujeres gestantes. Como propuesta de intervención, se plantea el desarrollo de una actividad de concientización al paciente sobre la relación de esos síntomas y sus factores de riesgo, e informar sobre los mecanismos de prevención y cuidados que deben tenerse en cuenta una vez realizado el diagnóstico de toxoplasmosis.

Por último, el presente estudio pretende determinar mediante resultados obtenidos en el laboratorio la importancia existente de los controles prenatales, como lo establece la constitución del Ecuador en su ART. 43 inciso 3 “El Estado garantizará a las mujeres embarazadas y en periodo de lactancia los derechos a la protección prioritaria y cuidado de su salud integral y de su vida durante el embarazo, parto y posparto”. De este modo, se aportará con nuevos conocimientos y parámetros médicos, con los cuales se puedan apoyar las entidades de salud con el propósito de valorar de mejor manera a los pacientes, y lograr reducir la prevalencia de la enfermedad otorgándoles herramientas para el manejo integral de su gestación y prevención de la enfermedad.

CAPÍTULO II

Informe del caso

Presentación del caso

El presente caso analiza y describe la situación de salud de la paciente femenina de 29 años de edad, embarazada en el primer trimestre de su estado gestacional, que acude a los servicios de Laboratorio Clínico del Centro de Salud “Jama” 24 horas, por indicación de su médico en la atención primaria de salud, ya que presentaba algunos malestares, fiebre de bajo grado y de amenaza de aborto además de sus controles prenatales en busca de posible toxoplasmosis aguda. La paciente es encuestada para obtener datos clínicos y epidemiológicos donde señaló que procedía de una zona rural, pero que no convivía con gatos; además, no había sido receptora de sangre, no se había practicado trasplante de órgano alguno y no solía comer carne cruda o poco cocida. Se le realizan determinaciones de IgG e IgM y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en líquido amniótico para toxoplasma, la cual resultó positiva. Se ofrece asesoramiento genético a la pareja y se comienza tratamiento específico.

Definición del caso

El diagnóstico de la toxoplasmosis humana se realiza mediante métodos biológicos, serológicos, histológicos o moleculares, o con la combinación de estos (Hill D, 2002). Las técnicas que se utilizan son para demostrar anticuerpos específicos contra *T. gondii*, IgM es el primer anticuerpo en aparecer. IgG es la segunda en aparecer; la presencia de anticuerpos IgG implica que en algún momento de la vida el paciente ha estado en contacto con el parásito y solo es posible asegurar que existe una infección reciente si entre dos muestras separadas 3-4 semanas existe una seroconversión del título de IgG. (Candolfi E, 2000)

Es importante mencionar que la determinación de *Toxoplasma* mediante técnicas de laboratorio clínico, son iniciales y prioritarios para el diagnóstico de la Toxoplasmosis en la mujer embarazada, y por lo tanto la prueba y el método utilizado constituye de mucha importancia para la valoración de este problema de salud (Murray KS., 2006).

Ámbito de estudio

El presente estudio se lo realizó en el área de laboratorio clínico del Centro de Salud “Jama” 24 horas del cantón Jama, lugar con las adecuaciones y equipamiento básico de laboratorio clínico, en donde se realizarán las determinaciones de toxoplasma a la paciente en estudio.

Actores implicados

Los actores involucrados en el presente estudio son los siguientes:, como paciente diagnosticada toxoplasmosis aguda, Dr. que atendió al momento de la consulta, el investigador del presente caso. Esta determinación la realiza el laboratorista clínico del Centro de Salud “Jama” 24 horas.

Identificación del problema

En general, la búsqueda serológica de anticuerpos IgG e IgM se realiza por ensayos como: inmunofluorescencia indirecta (IFI), prueba inmunoenzimática (ELISA) y hemaglutinación indirecta (HAI). La presencia de IgG es suficiente para establecer que un individuo fue infectado (Amendoeira MRR, 1999) por lo tanto, la seguridad en la detección de seroconversión en embarazadas es de gran importancia, primero porque un falso positivo puede ocasionar un aborto innecesario, y segundo porque la terapéutica inmediata evitaría cuadros graves para el feto.

Es preciso tener seguridad en la identificación de los marcadores serológicos como la rápida elevación de los títulos de IgM, IgA e IgE, pues son estos los indicadores de la toxoplasmosis adquirida. En el presente caso cuando la paciente se presentó en nuestro centro para realizarse las investigaciones correspondientes, sólo sufría amenaza de aborto, respecto a lo cual otros autores reportan que más de 90% de las embarazadas que se infectan con *Toxoplasma* desarrollan la enfermedad de manera asintomática y el aborto se manifiesta como fenómeno único de la infección. (Foulon W, 2000)

Por ello, el manejo que el personal del laboratorio clínico debe tener desde determinar con qué instrumento y con qué método de análisis medir es una decisión de suma responsabilidad, además de tener un buen control de calibración de instrumentos y

equipos con programas de calidad internos y externos; de ese modo, proveer al médico estudios con resultados exactos, precisos y sobre todo, de utilidad clínica, que permitan diagnosticar e intervenir adecuada y oportunamente a la paciente en estado de gestación.

Por lo expuesto, dada la relevancia que tiene la determinación de toxoplasma para el diagnóstico de la paciente en estado de gestación, se identifica como problema la incertidumbre en cuanto a confianza, control de calidad y precisión en la determinación de toxoplasma mediante el método escogido, el cual se determina de manera periódica y sistemática.

METODOLOGÍA

En este estudio, se utiliza la técnica de Ensayo Inmunoenzimática en fase sólida o ELISA que es un método basado en el principio de captura donde las placas de poliestireno están recubiertas por un anticuerpo anti-IgM humano. Las inmunoglobulinas no unidas son eliminadas en el proceso de lavado (Eaton RB, 1996). Este método proporcionará datos importantes para esta investigación.

Lista de preguntas

- ¿Cuál es la técnica de análisis de laboratorio clínico más efectiva para la determinación de toxoplasma?
- ¿Cuál es el índice de error al realizar la prueba de determinación de toxoplasma?
- ¿Cuál el método de control de calidad para la prueba de determinación de toxoplasma?

Fuentes de información

Para elaborar el presente estudio de caso fue necesario acudir a fuentes de información confiables, tales como:

- Textos especializados en el área de laboratorio clínico
- Publicaciones de revistas de especialidades médicas
- Archivos y registros de laboratorio clínico del Centro de Salud “Jama” 24 horas
- Historias clínicas de pacientes con diagnóstico de toxoplasmosis
- Ficha médica de la paciente Diana Katuska Bailón Cevallos

Técnicas para la recolección de información

Para la realización de este trabajo se recopiló toda la información necesaria para la elaboración del marco teórico a través de técnicas de investigación y observación documental y se utilizó la instrumentación necesaria como: libros, diarios y revistas entre otros. A continuación, se detallan las técnicas utilizadas:

Técnica de laboratorio clínico

Son muy numerosas. A continuación, mencionaremos las que tradicionalmente han sido más empleadas y describiremos brevemente el fundamento de algunas de ellas:

MARCADORES DE ACTIVIDAD DEL PARASITO

Visualización del parásito. Detección directa. Antígenos. DNA.

- * Inoculación animal.
- *Tinción
- * Cultivo.
- * Detección de antígenos.
- * PC

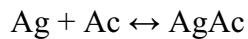
MARCADORES SEROLOGICOS

- * Sabin Feldman.
- * Inmunofluorescencia indirecta.
- * Fijación de Complemento.
- * Hemaglutinación indirecta.
- * Aglutinación directa.
- * Látex.
- * ISAGA (Inmunoadsorción hemaglutinación)
- * ELISA IgG e IgM. Avidéz de anticuerpos

ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay)

El principio general de esta técnica se basa en la unión del antígeno a un anticuerpo marcado con una enzima, interacción que ocurre dentro de la placa de polivinilo. La transformación del sustrato por la enzima es proporcional a la concentración de

anticuerpo o antígeno desconocido presente en la solución problema. De esta manera, los anticuerpos específicos pueden ser estimados cuantitativamente y en poco tiempo.



Cuanto mayor sea la afinidad del Ac por el Ag, mayor sensibilidad tendrá el ensayo. Este ensayo se inicia con la adsorción de las proteínas (antígeno) a una superficie inerte, generalmente una placa de polivinilo de 96 pocillos. Luego se agrega una solución de una proteína no específica, generalmente leche descremada, gelatina o seroalbúmina bovina, para bloquear la superficie evitando que otras proteínas se unan a ella.

En un tercer paso se añade el suero problema que contiene los anticuerpos que reconocen al antígeno de manera específica (en el caso que la muestra sea positiva). Seguido a ello se agrega un anticuerpo secundario que reconocerá al anticuerpo primario unido al antígeno. Este anticuerpo secundario está conjugado a una enzima que cataliza una reacción colorimétrica. Finalmente se añade el sustrato de la enzima y se registra la densidad óptica.

Ventajas:

- Método altamente sensible y específico
- Cuantitativo
- Permite diferenciar IgM, IgG, y la medida del índice de avidéz de los anticuerpos
- Sencillo, rápido, automatizable

Aglutinación en látex

El antígeno parasitario se halla adsorbido sobre partículas de látex, que se aglutinan en presencia de anticuerpos específicos.

Ventajas:

1. Es un método sencillo, rápido y barato (no requiere instrumental)
2. Utiliza poca cantidad de muestra, sin tratamiento especial
3. Muy utilizado en medicina para el diagnóstico masivo

Limitaciones:

1. Sensibilidad media (comparado con ELISA)
2. Es un método semi-cuantitativo
3. Lectura puede ser subjetiva (importante la interpretación de resultados por la misma persona)

En muchos casos es útil conocer si el paciente posee anticuerpos de tipo IgM o IgG mediante una técnica de aglutinación porque eso puede facilitar el seguimiento del paciente o determinar un tratamiento. Para ello, se ha desarrollado la técnica de aglutinación en ausencia y en presencia de 2-ME. Cuando se realiza la titulación del suero del paciente por aglutinación en ausencia de 2-ME y se informa un título, en realidad se está informando una actividad aglutinante que es la suma de la actividad aglutinante de la IgM y de la IgG.

Si se realiza la técnica en presencia de 2- mercaptoetanol, este produce una reducción suave / parcial de las IgM. Como la IgM monomérica resultante no es aglutinante, el título que se obtiene al realizar la técnica de aglutinación en presencia de 2-ME corresponderá exclusivamente a la actividad aglutinante de la IgG. De este modo, la realización de la aglutinación en presencia y ausencia de 2-ME permitirá determinar la presencia de IgG e IgM contra el Ag sensibilizante.

En el caso de toxoplasmosis es importante determinar la presencia de IgM porque es indicio de infección activa. La caída en el título del suero por aglutinación en ausencia vs. Presencia de 2-ME es indicio de la presencia de IgM específica para el parásito.

Procedimiento analítico

Para la toma de muestra se utilizó guantes quirúrgicos estériles y descartables, se desinfectó la zona con un algodón humedecido en alcohol antiséptico, aplicando un torniquete unos 5cm por encima del sitio escogido, efectuando un lazo, fácil de desatar con una mano y asequible al operador, se indicó al paciente que cierre el puño para que las venas resalten y de esta manera poder establecer la profundidad de las mismas y seleccionar la vena adecuada para la punción, que por lo general se realiza en las venas superficiales del brazo como en la mediana basilica, mediana cefálica. Para la punción se penetra la aguja con el bisel hacia arriba siguiendo la dirección de la vena, y al momento que comienza a fluir la sangre se recolectó 3cc aproximadamente en un tubo al vacío sin anticoagulante para la determinación de toxoplasma gondii IgG, IgM.

Se retiró el torniquete y pidió al paciente que relaje el puño y enseguida se colocó un algodón en la zona de punción, se retiró la aguja y se colocó una cinta adhesiva estéril en el sitio de la punción. Luego de la extracción, la sangre del tubo sin anticoagulante fue centrifugada a 3000 revoluciones por minuto (r.p.m.) por un lapso de 6 minutos y se separó el sobrenadante del paquete globular, el cual fue utilizado para la dosificación de . Para la determinación de toxoplasma se utilizó el equipo llamado lector de microplacas ELISA RT2100C, utilizando reactivos de la casa comercial Human ya listos para su uso, mismos que se mantienen a una temperatura de 2 a 8 °C. Para la determinación.

Principio del método:

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

Muestra

- Suero.

Equipo

- Lector de microplacas Elisa RT2100C.

Materiales

- Guantes descartables.
- Tubos de ensayo.
- Pipetas automáticas.
- Puntas para pipetas.
- Gradillas.
- Charolas con 96 microposillos.

Reactivos

- Anticuerpo anti-IgM (μ específico).
- Tampón fosfatos con estabilizante de proteínas, con Proclin y coloreado de azul. Listo para su uso.
- Control positivo con Proclin. Listo para su uso.
- Antígeno de *T. gondii* marcado con peroxidasa, liofilizado.
- Solución de sustrato: tetrametilbenzidina (TMB). Listo para su uso.
- Solución de parada: ácido sulfúrico 0,5 M.
- Solución de lavado (concentrado 20x): tampón fosfatos con TweenR -20 y con Proclin.

- Solución tamponada para la reconstitución del conjugado liofilizado. Contiene Proclín.

Procedimiento

-Ajustar una estufa/baño de agua a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$.

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

3.-Agitar todos los componentes.

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

5.-Añadir $100\ \mu\text{l}$ de diluyente de muestras 2 a todos los pocillos que se vayan a emplear, excepto a los de los controles. Añadir $5\ \mu\text{l}$ de las muestras, $100\ \mu\text{l}$ del control positivo 3, $100\ \mu\text{l}$ del suero cut off 4 (en duplicado) y $100\ \mu\text{l}$ del control negativo 5 en los pocillos correspondientes.

6.-Tapar mediante lámina adhesiva e incubar en estufa/baño durante 60 minutos a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$. 7.-Preparar la solución de conjugado según se indica en “Preparación de los reactivos”.

Encuesta dirigida a los pacientes

La paciente ingresa al centro de salud en el primer trimestre de su estado gestacional presentando un cuadro de amenaza de aborto que ha mantenido durante una semana, la paciente, de 29 años, de instrucción educativa secundaria, soltera, procedente del cantón Jama de C.I. 130550546-1, 2 embarazos + embarazo actual, 1 hijo vivo, cero cesáreas y 1 aborto; cuya última labor de parto fue hace 2 años.

Entrevista a médicos especializados

El doctor menciona que al llegar a nuestro centro, en correspondencia con el protocolo de trabajo, la paciente es encuestada para obtener datos clínicos y epidemiológicos. De esta manera hallamos que no presentaba otros síntomas o signos relativos a esta enfermedad. En cuanto a la posible vía de infección, la paciente señaló que procedía de una zona rural, pero que no convivía con gatos; además, no había sido receptora de sangre, no se había practicado trasplante de órgano alguno y no solía comer carne cruda o poco cocida. Se le realizó una primera toma de muestra. Se le extrajeron 2 mL de sangre para realizar los exámenes serológicos, que correspondieron a un ELISA para detectar anticuerpos totales (IgA e IgM) y una IFI para detectar IgG. Se tomaron además 2 mL con anticoagulante ácido cítrico-dextrosa para, en caso de ser necesario, realizar la PCR con cebadores específicos a un segmento del gen SAG2 de *T. gondii*.

La muestra analizada resultó positiva a ELISA y negativa a la inmunofluorescencia, por lo que se consideró que la paciente debía estar en la fase aguda de la infección y se decidió realizar la PCR, la cual aportó la confirmación esperada. Una vez obtenidos estos resultados, se citó a la paciente para realizar una segunda toma de muestra e indicar tratamiento. Cuando acude a nuestra cita refiere que había perdido el embarazo; no obstante accedió a la toma de muestra.

En esta ocasión la inmunofluorescencia para detectar IgG se tornó positiva con un título de 1/128, el ELISA anti-totales se mantuvo positivo y mediante la PCR no se detectó ADN del parásito en sangre.

CAPÍTULO III

Propuesta de intervención

Denominación de la propuesta

La calidad de la prueba de toxoplasma Gondii como factor importante en la recolección de datos de estudio de casos en los que se relacionan los resultados de esta prueba con los controles de la enfermedad en pacientes con este contagio.

Objetivos de la propuesta

- Garantizar el proceso de obtención de la muestra
- Verificar el funcionamiento (precisión, exactitud y confianza) del equipo de lector de microplacas ELISA.
- Valorar la precisión y exactitud de la prueba de T.Gondii mediante análisis de inter-comparación.

El control de calidad del toxoplasma gondii

CONTROL DE CALIDAD INTERNO:

Cada lote se somete a control de calidad interno antes de su liberación asegurando el cumplimiento del protocolo de validación por el usuario mediante especificaciones más estrictas. Los resultados de control final de cada lote están disponibles. La correlación del material de control se asegura mediante ensayos paralelos frente a paneles de sueros de referencia internamente validados.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN POR EL USUARIO

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

CONTROL POSITIVO $>0,9$

CONTROL NEGATIVO $<0,5$

CONTROL CUT OFF $>0.55, <0,15$

Procesos de laboratorio clínico (pre analíticos, analíticos y post analíticos)

Los procesos pre analíticos (Bloch.M., 2007) son importantes porque ayudan a llenar la ficha del paciente previo a cualquier conclusión producto de exámenes específicos. En esta fase se genera el RUT o identificación única del paciente, o si es por pedido de algún solicitante se genera el RCM. Las pruebas iniciales de laboratorio clínico son las siguientes: de sangre, heces y orina.

La fase analítica se considera en la que se generan exámenes específicos sobre alguna enfermedad o pedido especial del médico de cabeza del paciente y en ella lo que se hace es seguir llenando la ficha médica generada en la fase pre analítica con la finalidad de contar con un historial clínico.

En la fase post analítica se debe de considerar temas importantes como: almacenamiento de la muestra primaria y otras muestras del laboratorio de acuerdo con la política aprobada, eliminación segura de muestras que ya no se necesitan para exámenes. La dirección del Laboratorio debe ser la responsable del formato de los informes. El formato y forma de comunicación desde el laboratorio se debería diseñar previa discusión con los usuarios del servicio de laboratorio. El laboratorio se compromete a entregar los resultados de manera oportuna y mantener estos en total confidencialidad.

Planteamiento de la propuesta

La propuesta considera un planteamiento dirigido a garantizar los resultados, es decir establecer precisión, exactitud y confianza a la prueba de toxoplasma Gondii; para ello, serán necesarias las siguientes herramientas y actividades en pro de la consecución de esta meta:

- Generación de material de control
- Cronograma de calibración de equipos
- Cronograma de control de calidad
- Cronograma de mantenimiento y limpieza de instalaciones
- Cronograma de evaluación de la calidad
- Archivos de procesos pre analíticos, analíticos y post analíticos
- Auditorías internas periódicas

- Tabulación de datos
- Análisis de datos
- Retroalimentación interdisciplinaria

Actividades y tareas

Objetivo Específico	Actividad Vinculada	Tareas a desarrollar
<p>Determinar el grado de incertidumbre en la determinación de <i>Toxoplasma Gondii</i> basado en la aplicación de controles de calidad interno y externo.</p>	<p>Valoración de la calidad en la fase pre-analítica de la prueba de <i>toxoplasma Gondii</i>.</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Valoración del registro de datos del paciente. 2. Valoración de la recolección de muestras. 3. Garantía del traslado y almacenaje de la muestra.
<p>Verificar el funcionamiento (precisión, exactitud y confianza) del equipo de ELISA.</p>	<p>Valoración de la calidad en la fase analítica de la prueba de hemoglobina <i>toxoplasma Gondii</i>.</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Mantenimiento permanente de instalaciones y equipos. 2. Capacitación de personal. 3. Foros de discusión. 4. Estadística de datos.
<p>Valorar la precisión y exactitud de la prueba de hemoglobina <i>toxoplasma Gondii</i> mediante análisis de inter-comparación.</p>	<p>Valoración de la calidad en la fase post-analítica de la prueba de <i>toxoplasma Gondii</i>.</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Valoración de reporte y valores. 2. Confidencialidad. 3. Seguimiento. 4. 5. Control del servicio.

Referencias bibliográficas

- Amendoeira MRR, C. T. (1999). *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1990 (Apicomplexa: Sarcocystidae) e a Toxoplasmose. *Revista Souza Marques.* , 1: 15-29.
- Ashburn D, J. A.-Y. (1998). Do IgA, IgE and IgG avidity tests have any value in the diagnosis of toxoplasma infection in pregnancy? *Journal of Clinical Pathology* , 51: 312-315.
- Bloch.M. (2007). Manual procedimientos tecnicos de laboratorio clinico de primer nivel de atencio.
http://asp.saludgob.ev/regulacionpdf/manual_procedimientos_lab_clinico.pdf.
- Bobic B, S. D.-D. (1991). High level of IgM antibodies specific for *Toxoplasma gondii* in pregnancy 12 years after primary toxoplasma infections. *Gynecol, Obste. Invest.* , 31: 182-184.
- Candolfi E, P. H. (2000). Biological post-natal diagnosis of congenital toxoplasmosis. En: Ambroise-Thomas P, Petersen E. *Springer-Verlag France* , 179-88.
- Del Bono V, C. A. (1989). Significance of specific immunoglobulin M in the chronological diagnosis of 38 cases of toxoplasmica lymphadenopathy. *Journal of Clinical and Microbiologic* , 27: 2133-2135.
- Díaz I., Z. B. (2010). Toxoplasmosis y Embarazo. *Revista Gineco - Obstétrica de Venezuela* .
- Eaton RB, P. E. (1996). Multicenter evaluation of a fluorometric enzyme immunocapture assay to detect *Toxoplasma*-specific immunoglobulin M in dried blood filter paper specimens from mewborn. *Journal of Clinical and Microbiologic* , 34: 3147-50.
- Foulon W, N. A.-Y. (2000). Prevention of congenital toxoplasmosis. Review. *Journal Perinat Medical* , 28 (5): 337-345.
- Gomez JE, C. J. (1995). toxoplasma congenita en colombia:.. *colombia medica* .
- Hedman K, L. M. (1989). Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. *Journal of Infectius Diseases* , 159:736-740 .
- Hill D, D. J. (2002). *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Journal of Clinical and Microbiologic Infect* , 8: 634-40.
- Jenum PA, S.-P. B. (1997). Improved diagnosis of primary *Toxoplasma gondii* infection in early pregnancy by determination of antitoxoplasma immunoglobulin G avidity. *Journal of Clinical Microbiology* , 35: 1972-1977.
- Kuchar A, H. M. (1996). Congenital toxoplasmosis retinochroiditis after primary infection de of the mother in pregnancy. *Ophthamol.* , 93:190-193.

- Liesenfeld O, P. C.-R. (1997). False-positive results in immunoglobulin M (IgM) Toxoplasma antibody tests and importance of confirmatory testing: The Platelia toxo IgM test. *Journal of Clinic Microbiology* , 35: 174-178.
- MSP, M. d. (2008). *Mejoramiento Continuo de la Calidad (MCC) de la Atención Materno - Neonatal*. Ecuador.
- Murray KS., P. R. (2006). *MA. Microbiologia medica*. ed. Elsevier.
- OBP. (2005). Obtenido de <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso-iec:17025:ed-2:v1:es>
- Roberts A, H. L. (2001). multicenter evaluation of strategies for serodiagnosis of primary infection with toxoplasma gondii.
- Romero T, B. M. (1995). estudio comparativo entre los metodos de hemaglutinacion e inmunoanálisis enzimático en el diagnóstico de la toxoplasmosis.
- Santacruz M, C. L. (2004). manual de toxoplasmosis instituto nacional de salud .
- Thullinz P, R. f. (1989). A new agglutination reaction for the diagnosis of the developmental stage of acquired toxoplasmosis.
- Wallon M, G. O. (2002). *Toxoplasma infections in early pregnancy: Consequences and management. J Gyne Obst Biologie Reproduct.*
- Wilson M, R. J. (1997). Evaluation of six commercial kits for detection of human immunoglobulin M antibodies to toxoplasma gondii. The FDA toxoplasma ad hoc Working group. *journal of clinical microbiology* .
- Wilson M., S. P. (2002). rose NR hamilton RG Detrick B (eds). *Manuel of clinical laboratory immunology* .

ANEXOS

Anexo N°. 1

Encuesta a paciente



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ

Facultad de Ciencias Médicas

Carrera de Laboratorio Clínico

1.- ¿Cuántos años tiene?

14-19 años 20-25 años 26-31 años
32-36 años >36 años

2.- Nivel de educación de la paciente:

Primaria Secundaria
Superior Ninguno

3.- Lugar de procedencia:

Zona Urbana Zona Rural

4.- ¿Cuántas semanas de embarazo tiene?

1-3 4-8 9-11
>12

5.- ¿Cuántos embarazos ha tenido?

Nulíparas Multíparas (2) Abortos

6.-Antecedentes y enfermedades graves. Como:

Diabetes

Obesidad

Ninguna

7.- Nivel de glucosa en sangre capilar:

8.- Presión Arterial:.....

9.- Valor de examen de Toxoplasma Gondii:

Anexo N°. 2

Ficha de observación

 MODELO DE LA FICHA DE OBSERVACIÓN UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ CARRERA: LABORATORIO CLÍNICO		
Objetivo: <ul style="list-style-type: none"> • Garantizar el proceso de obtención de la muestra • Verificar el funcionamiento (precisión, exactitud y confianza) del equipo de ELISA. • Valorar la precisión y exactitud de la prueba de Toxoplasma Gondii mediante análisis de inter-comparación 		
Fecha:		
Carrera:	Laboratorio Clínico	
Situación Observada:	Exámenes e historiales clínicos del Centro de Salud “Jama” 24 horas	
Tiempo de Observación:	12 horas	
Observador:	Marcos Menéndez Chica	
Preguntas de cómo actúa el Fenómeno Investigado	Si	No
Las pacientes tienen nivel de conocimiento de la importancia del control de la enfermedad de diabetes a través de análisis de factores biológicos.		
Las fichas médicas se encuentran llenadas de manera correcta		
La información de las fichas médicas se las relaciona con la diabetes		
Las instalaciones de laboratorio cuentan con equipos e infraestructura necesarias		
Las pacientes asisten regularmente al control de torch.		
Las pacientes en su mayoría son de zona rural, lejano al centro de salud		

Anexo N°. 3



**CENTRO DE
SALUD JAMA
"24 HORAS"**

PACIENTE: Bailón Cevallos Diana Katuska

Fecha de recepción: 02/05/2017

AREA: / CE.

Fecha de entrega: 07/05/2017

Doctor(a): Humberto Dueñas

Edad: 29 ANOS

CODIGO 19

Sexo: F

HORA DE ENTREGA DE RESULTADOS:

DETERMINACION DE Ac. anti-TOXOPLASMA IgG

TECNICA: Immunofluorescencia ELISA

PRUEBA RESULTADO VALORES NORMALES

TOXO IgG: 5.2 IU/ml Hasta 5.0

DETERMINACION DE Ac. anti-TOXOPLASMA IgM

TECNICA: Immunofluorescencia ELISA.

PRUEBA RESULTADO VALORES NORMALES

TOXO IgM: 1.3 IU/ml Negativo: <0,9 IU/ml
Indeterminado: 0,9 - 1,1 IU/ml
Positivo: > 1,1 IU/ml

Anexo N°. 4

Fachada del Centro de Salud



Anexo N°. 5

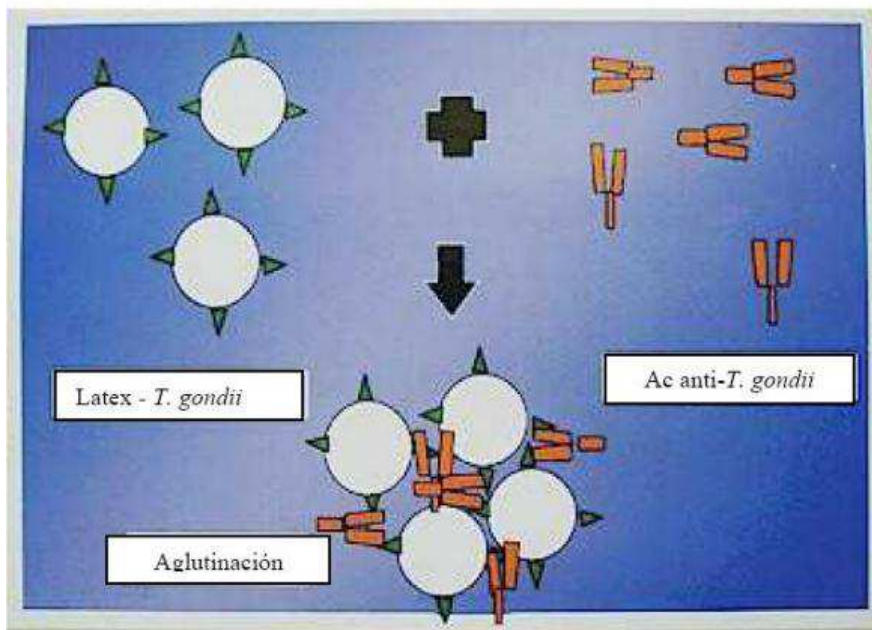


Figura 1. Esquema de ELISA.

Anexo N°. 5

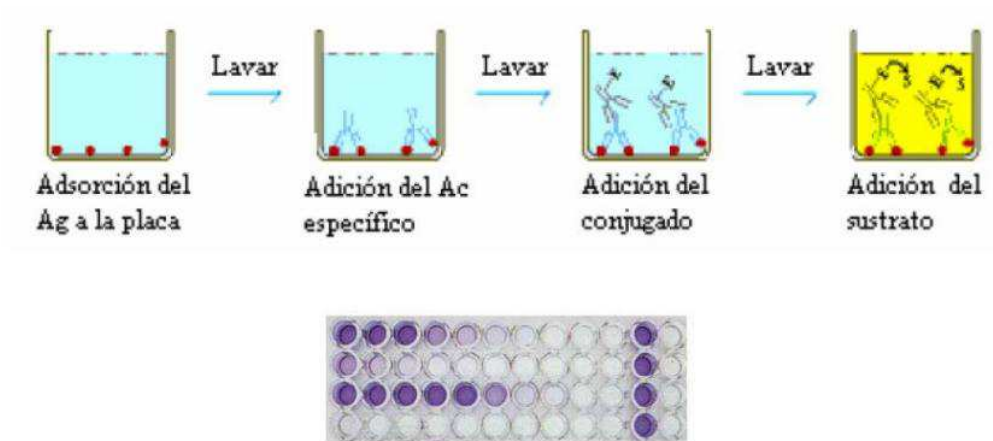


Figura 2. Esquema de Detección de IgG e IgM+IgG: reacciones de aglutinación con y sin 2-mercaptoetanol