

El proyecto de investigación se titula “PREVALENCIA DE *Toxoplasma gondii* EN FELINOS DOMÉSTICOS (*Felis catus*) EN LAS CLÍNICAS VETERINARIAS DE LA CIUDAD DE AMBATO”.

*Toxoplasma gondii* se diagnosticó detectando los anticuerpos específicos mediante la medición de inmunoglobulinas G y M .El porcentaje de casos positivos para la inmunoglobulina G nos indicó el estado serológico del parásito es decir que hubo exposición al agente patógeno, desarrollando una respuesta inmunitaria de memoria en el organismo; de igual manera la inmunoglobulina M puede indicar la existencia de una infección aguda, reciente o reactivada por el protozoo.

Se realizó el respectivo examen de laboratorio de serología mediante electroquímio-luminiscencia con su análisis e interpretación mediante el inmunoensayo para Toxo IgG – Toxo IgM (inmunoglobulinas) en suero, con utilización del modulador analítico que posteriormente proporciona de manera automática los resultados por medio del software.

El número total de felinos domésticos en los que se realizó el respectivo análisis serológico fue de 30 gatos analizados de los cuales 8 son positivos para la Inmunoglobulina G con un porcentaje del 26,7% y 22 casos negativos con el 73,3% de la población total. Para los valores de la inmunoglobulina IgM se reportan 0 casos positivos. Con respecto a la prevalencia se determinó el cálculo de 26,6% de la totalidad de la población, en machos con 20% y hembras de 6,7%, los cuales están dentro de los parámetros calculados en el intervalo de confianza.

Palabras clave: *Toxoplasma gondii*, infección, electroquímio-luminiscencia, inmunoglobulinas.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

(Jarninen, 1999), define que la toxoplasmosis es una enfermedad infecciosa ocasionada por un protozoo parásito llamado *Toxoplasma gondii*; siendo el hospedador definitivo el gato; dentro del cual se realiza la fase sexual del ciclo de vida del parásito, eliminando así los ooquistes mediante la heces los cuales son los infectantes al ser humano.

(Pantoja y Pérez, 2001), consideran como una zoonosis que se transmite de los animales al hombre por diferentes vías de contagio como agua y alimento contaminado, carne cruda o mal cocida, heces felinas y transplacentariamente además depende de la región, hábitos higiénicos y condiciones sanitarias. Ocasiona infecciones leves, asintomáticas y mortales que afectan al feto, recién nacidos, ancianos y personas con déficit de inmunidad (Kirk, 1997).

Los gatos eliminan ooquistes viables en la heces de 3 a 10 días, tiempo suficiente para la infección por ingestión. Entre tanto, cuando ocurre la ingestión de taquizoítos, la excreción se inicia en un período mayor o igual a 15 días, y en el caso de bradizoítos, ocurre en un periodo a 18 días (Ovalle, García y Thibauth, 2000).

La toxoplasmosis materna no presenta evidencia clínica de la enfermedad, por lo cual las personas no están conscientes de haber padecido la infección; corroborando mediante un análisis de sangre que demuestra la positividad para anticuerpos específicos de tipo IgG ó IgM (Rojas, 2003).

(Dubey, 1996), menciona que los signos neurológicos son variables, los más frecuentes denotan afección del sistema nervioso central o localización de la lesión en el cerebro, cerebelo, tronco cerebral, médula espinal o músculos; suelen comenzar con convulsiones y ataxia. También encontramos hipotermia, ceguera total o parcialmente. Alteraciones en la conducta, estupor, incoordinación, lagrimeo atípico y tortícolis. Incluyen también depresión, hiperexcitabilidad, temblor, paresis, parálisis (Nelson y Cuoto, 1995).

## 1.2 ANÁLISIS CRÍTICO DEL PROBLEMA

El gato desarrolla un papel importante como hospedador definitivo de *Toxoplasma gondii*. Los hospedadores intermediarios incluyen animales herbívoros, carnívoros y omnívoros. En el medio natural, la infección se presenta en aves silvestres y roedores, en entorno doméstico en el ganado ovino, caprino y porcino ya que pueden ser infectados por transmisión congénita y por ingestión de ooquistes. El número de gatos con infección activa disminuye con la edad, teniendo mayor importancia epidemiológica los gatos vagabundos (Luzón, Mirro, Quintanilla y Gozabo, 1997).

La toxoplasmosis animal y humana tiene una gran repercusión económica y sanitaria, debido a los abortos originados. Es una enfermedad común en el hombre que abarca desde una infección asintomática hasta un cuadro grave que puede llegar a ser mortal; la mayoría de los casos no son diagnosticados (Morales 2007). El rango del período de incubación, según brotes estudiados, se supone entre 4 y 21 días, con mayor sintomatología en la segunda semana (Ho-Yen, 1992).

El curso clínico de la infección en gatos suele ser benigno y autolimitado, superada la fase aguda y al cabo de un año, los pacientes permanecen portadores de anticuerpos durante el resto de sus vidas, persistiendo la infección de una exposición anterior en forma de quistes localizados en múltiples órganos y tejidos (Lynfield y Eaton, 1995).

La primoinfección contraída durante la gestación en mujeres es asintomática y, en ausencia de un control prenatal la consecuencia grave es el contagio transplacentario, originando serios cuadros congénitos al feto (Hendrix,1999).

En el ser humano la infección es muy común, al tiempo que las manifestaciones mórbidas atribuibles al toxoplasma son infrecuentes y pococaracterísticas. En el inmunocompetente es un proceso autolimitado, de breve duración y persiste de por vida en estado de infección latente habitualmente subclínico. Al claudicar los mecanismos inmunitarios la infección latente puede reactivarse y dar paso a graves cuadros mórbidos ( Forestier,1991).

La infección en seres humanos ocurre sobre todo a través de la ingestión de carne cruda o mal cocida que contiene quistes, a través de la ingestión de agua o alimentos contaminados con ooquistes o de manera congénita a través de la transmisión transplacentaria ( Muñiz, Mondragón,2009).

La ingestión o la manipulación de carnes con quistes constituyen la fuente de infección de carnívoros y omnívoros. El hombre se infecta por la ingestión o manipulación de material contaminado con quistes u ooquistes, y la principal puerta de entrada es la oral. Estos dos grandes indicadores se encuentran íntimamente relacionados; tanto en sus causas como, en sus consecuencias (Gomezz,2002).

### 1.3 JUSTIFICACIÓN

El ciclo de vida del parásito se desarrolla en dos tipos de huéspedes: el huésped definitivo que comprenda todos los felinos, incluido el gato doméstico, y el huésped intermediario, que son todos los animales de sangre caliente (incluido el humano) Dependiendo del tipo de huésped se puede llevar a cabo la replicación sexual o asexual (Suárez, 2003).

Millones de ooquistes son producidos y liberados por los felinos a través de las heces, contaminando suelo, hortalizas y fuentes de agua. El ciclo de replicación asexual se desarrolla en los huéspedes intermediarios, los cuales pueden infectarse mediante el consumo de ooquistes esporulados o de quistes tisulares presentes en los tejidos de otros huéspedes intermediarios (Muñiz et al, 2009).

Una de las más representativas enfermedades zoonóticas que mantiene una amplia distribución mundial es la toxoplasmosis causada por un protista conocido como *Toxoplasma gondii*, cuyo descubrimiento se remonta a la primera década del sigloXX. Numerosas son las investigaciones desarrolladas en relación con el parásito protozoario y las afectaciones que provoca en los organismos que parasita (Schwartzman, 2001).

La toxoplasmosis es una enfermedad distribuida mundialmente y que no distingue género, raza y distribución geográfica. He aquí la importancia del estudio el cual nos permite visualizar cuan expuestos estamos al agente etiológico y sus repercusiones tanto en salud humana y animal. Afecta al 30% de la población a nivel mundial y es ocasionada por el parásito protozoario intracelular obligado *Toxoplasma gondii*, invade a cualquier célula del organismo por un proceso de invasión activa que involucra eventos de motilidad y secreción molecular.

El éxito como organismo invasor reside en su alta capacidad de migración transepitelial alcanzando órganos privilegiados como cerebro, ojo y placenta en mujeres embarazadas; además la presencia de quistes en la carne o la contaminación del agua por efectos secundarios son vectores presentes para la transmisión del patógeno, poniendo en peligro la inocuidad y potabilidad. A la fecha no existe vacuna ni tratamiento que lo elimine cuando se encuentra en su estadio intracelular.

#### 1.4 OBJETIVOS

##### 1.4.1 General

Determinar la prevalencia de *Toxoplasma gondii* en felinos domésticos (*Felis catus*) en las clínicas veterinarias de la ciudad de Ambato.

##### 1.4.2 Específicos

Determinar el porcentaje de seropositivos a *Toxoplasma gondii* en felinos domésticos a través de la medición de inmunoglobulina G y M.

Verificar la relación existente por edad y sexo en presencia de *Toxoplasma gondii* en felinos domésticos.

## ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

(Fuentes, 1999), menciona en su trabajo de investigación con el tema desarrollo de técnicas de ADN para el diagnóstico y caracterización de *Toxoplasma gondii*; aplicación a estudios epidemiológicos que la seroprevalencia de la toxoplasmosis en gestantes hallada en Madrid fue del 25,4%, mostrando un descenso importante en la última década; el estudio de muestras de sangre y orina de las gestantes por PCR, no resultó de utilidad en la detección de la primoinfección, debido a la parasitemia transitoria; ya que se necesita el estudio en conjunto de diferentes marcadores serológicos. La técnica de PCR se mostró como un método rápido y sensible en el diagnóstico de toxoplasmosis congénita, tanto en el diagnóstico prenatal en líquido amniótico como en el postnatal en diferentes muestras; sin embargo debe completarse con el seguimiento clínico y serológico del recién nacido. Concluyendo que es el primer estudio realizado en España sobre la caracterización de cepas de *Toxoplasma* donde se identificaron tres genotipos predominantes, siendo el genotipo II más prevalente en animales domésticos; mientras que en las cepas procedentes de humanos, se demostró la presencia de los tres genotipos en similar proporción.

(Cerro,2007), concluye en su tesis de frecuencia de *Toxoplasma gondii* en gatos en Lima Metropolitana y concordancia entre las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y hemaglutinación indirecta que no se observaron diferencias estadísticas significativas entre los reactores a toxoplasma para las variables sexo y grupo etario, por otra parte, en lo referente a las técnicas de HAI (hemoaglutinación indirecta) e IFI (inmuno-florescencia indirecta) hubo diferencia significativa ya que dichas pruebas son independientes en su uso.

(Jácome, 2007), en su estudio de Prevalencia de infección por *Toxoplasma gondii* en mujeres embarazadas, en Valledupar, Cesar da a conocer la siguiente información en el cual la prevalencia de la toxoplasmosis, es un serio problema de salud pública, ya que esta infección no es propia del hombre sino que se conoce como una de las zoonosis más difundidas en todo el mundo. Las mujeres en embarazo presentan riesgo de transmisión para el hijo en cualquier momento de gestación a través de los modos de transmisión conocidos, comer carne cruda o mal cocida, convivencia con gatos, malos hábitos higiénicos, consumo de frutas y verduras contaminadas con materia fecal felina. Se deben evaluar con mayor precisión los factores de riesgo que están incidiendo en la adquisición de esta parasitosis.

(Cuaranta, 2007), menciona que el *Toxoplasma gondii* infecta a una gran proporción de poblaciones humanas del mundo, sin embargo es una causa infrecuente de enfermedad. Los fetos, los recién nacidos con infección congénita y las personas con deterioro inmunológico son individuos con alto riesgo de enfermedad grave o potencialmente fatal debido a este parásito. En inmunodeficientes la toxoplasmosis se presenta con mayor frecuencia en individuos con defectos de la inmunidad mediada por células T o SIDA. En los individuos inmunocompetentes la infección primaria o crónica por *Toxoplasma gondii* es mayoritariamente asintomática; después de la infección aguda un pequeño porcentaje sufre de corioretinitis o linfadenitis.

(Cuaranta, 2007), en la mayoría de los casos la evolución clínica de la toxoplasmosis es benigna y autolimitada, y los síntomas se resuelven en algunos meses. Una de cada tres corioretinitis sería causada por el *Toxoplasma gondii* como secuela tardía de la infección adquirida intraútero, siendo bilaterales y afectando preferentemente a personas jóvenes, antes de los 40 años de edad. En cuanto a la toxoplasmosis congénita la transmisión vertical está ligada a la primoinfección materna; de los niños infectados la mayoría son aparentemente sanos al nacer pero al cabo de meses o años se expresa la acción lesional del agente en forma de corioretinitis.





(Muñiz, 2009), concluye acerca del *Toxoplasma gondii* como un patógeno altamente invasivo capaz de infectar y proliferar en cualquier célula nucleada generando en consecuencia un quiste tisular, en el cual permanece de forma latente durante largo tiempo e inclusive durante toda la vida del individuo. La diseminación tisular del parásito, es un proceso que le permite alcanzar sitios inmunológicamente privilegiados como placenta y cerebro, en donde desencadena una serie de patologías que ponen en riesgo la vida del individuo. El mecanismo por el cual el parásito se disemina a través del organismo no es claro. Dada la capacidad móvil y de virulencia del parásito es posible que éste posea mecanismos o herramientas útiles para migrar tanto por la vía celular así como por la vía transcelular, diseminándose dentro de células permisivas propias del organismo infectado, como los leucocitos. Es posible también que el agente pueda distribuirse en el organismo como taquizoíto extracelular. A la fecha no hay reportes que indiquen la forma de diseminación del parásito en el individuo infectado. Su conocimiento permitirá el diseño de estrategias farmacológicas anti-toxoplásmicas.

## MARCO CONCEPTUAL O CATEGORÍAS FUNDAMENTALES.

### *Toxoplasma gondii* en felinos

#### Etiología.

*Toxoplasma gondii* es un protozoo perteneciente al orden *Coccidia* y al Phylum Apicomplexa, parásito intracelular obligado que afecta animales de sangre caliente, donde la infección crónica es frecuente y la infección reciente raramente

se diagnostica. Se presenta en tres formas: el ooquiste (contiene esporozoítos que vive y resiste a la intemperie), el taquizoíto (prolifera de manera intracelular y colonizará nuevas células), el bradizoíto (vive en quistes tisulares, son pequeños de multiplicación lenta, son fuente de reactivaciones y de la transmisión por consumo de carnes) (Gomez, 2000 y Tizard, 1991).

#### 2.2.1.2. Epidemiología

(López, 2005), menciona que la enfermedad puede presentarse como: aguda sintomática, aguda asintomática, crónica y congénita. El huésped definitivo son los felinos y el huésped intermediario es el ser humano dentro de la cadena biológica del parásito; en el gato incluye un ciclo enteroepitelial con una división sexuada y otra asexuada intracelular. La fase esquizogónica y gametogónica se desarrollan en el intestino delgado, concentrándose en la extremidad de las vellosidades del íleo.

El período prepatente en los gatos, comprende entre la ingesta y la formación de ooquistes. Si comienza con la ingestión de un quiste tisular, el período es de 3 a 10 días; si son taquizoítos de 19 a 48 días y si ingirió ooquistes de 21 a 48 días. Los gametocitos aparecen en el intestino delgado de 3 a 15 días después de la infección (Díaz, Parra, Araujo, 2001).

La infección en el hombre y animales, ocurre por ingestión de quistes tisulares en carnes crudas o mal cocidas (en los gatos, por consumo de ratones y ratas que albergan quistes), o por ooquistes en heces, a través del suelo y agua contaminada. La infección se produce en temprana edad. La respuesta clínica del animal está determinada por el estado inmune, tiempo de infección, la predisposición genética individual y la parte del cerebro afectada (Tizard, 1991).

## Patogenia

*Toxoplasma gondii* tiene afinidad selectiva por el tejido muscular y cerebral. Hay que diferenciar en los tejidos la presencia de quistes, granulomas y necrosis tisular; aparenta ser inofensivo en su forma de quistes y pseudos-quistes, los cuales mediante la ruptura liberan 3.000 esporozoítos aproximadamente llegando a invadirlos tejidos y generar focos de infección activa. Los quistes pueden estar en estado silente durante años (Botero, 2003).

Los ooquistes y quistes tisulares ingeridos sufren la acción de los jugos digestivos liberando taquizoítos, se diseminan por vía sanguínea y linfática. Los taquizoítos son de acción citopática y causan daño tisular (Triolo, 2006).

En animales inmunodeprimidos la ruptura de quistes reactiva la enfermedad, incluyendo encefalitis o toxoplasmosis diseminada (Gómez, 2000). *Toxoplasma gondii* causa abortos y mortandad perinatal, puede cruzar la placenta e infectar el feto (Acha, 1989). Se localiza también en fibras miocárdicas en forma de quistes tisulares, cuando éstos se rompen origina una miocarditis focalizada y hemorragia (Morales, 2007).

Las alteraciones en el SNC tienen diferente gravedad según la localización y la extensión del área infectada, las células gliales, especialmente los astrocitos, son selectivamente afectados. Los quistes parasitarios están inmersos en el tejido nervioso o en cuadros no purulentos en las meninges, y con exudado seroso hasta el hemorrágico. Predomina la necrosis focalizada o diseminada (Kirk, 1997).

Las lesiones del pulmón manchado con áreas de creciente densidad y edema, están presentes en gatos con infección aguda, conjuntamente con hepatomegalia con focos oscuros, endocarditis y miocarditis. Las lesiones oculares, son la retinitis y la uveítis anterior granulomatosa (Tizard, 1991).



## Ciclo evolutivo

El ciclo evolutivo se divide en dos etapas:

### - Enteroepitelial

Inicia con la ingestión de quistes, éste se disuelve por las enzimas proteolíticas en el estómago e intestino delgado, liberando bradizoitos, éstos penetran las células epiteliales y se inicia la forma asexual (Dubey, 1988).

La fase sexual, ocurre distal al núcleo de la célula epitelial del intestino delgado, de 3 a 15 días post infección. El gameto femenino es esférico, con un núcleo centrado; el gameto masculino puede ser ovoide o elíptico (Jensen, 1990). El ooquiste, deriva del cigoto que proviene de la reproducción sexual de los gametos de *Toxoplasma gondii*. Estos ooquistes son excretados por medio de las heces sin esporular (Dubey, 1988).

### - Extraintestinal

Tiene lugar en tejidos no entéricos de los gatos y otros hospedadores (mamíferos y aves). El ooquiste esporula en el medio ambiente, con la adecuada temperatura y humedad (Leblebicioglu, 2006).

Los bradizoitos o los esporozoitos penetran las células del epitelio intestinal y se multiplican. Se puede distribuir por los nódulos linfáticos mesentéricos, hacia otros órganos distantes. El crecimiento intracelular de los taquizoitos puede producir necrosis en los órganos donde se encuentren; a la tercera semana de infección desaparecen de los tejidos viscerales y se pueden localizar quistes en tejidos nerviosos y musculares (Acha, 1994).

## Signos clínicos

La toxoplasmosis clínica en gatos reportada presenta fiebre persistente, ictericia terminal, leucopenia, desórdenes oculares, pulmonares, hepáticos, neurológicos, gastrointestinales y musculares. Los gatos jóvenes son más susceptibles a la forma aguda de la enfermedad, y observan períodos extendidos de elevadas temperaturas refractarias a la medicación, acompañadas de letargia, anorexia y disnea. Los síntomas pueden semejar, un distress respiratorio (sin tos) por la progresiva bronconeumonía, una severa enteritis, u ocasionalmente, una miocarditis, pancreatitis, hepatitis o linfadenitis abdominal (Leblebicioglu, 2006).

También puede alterar el comportamiento y la función neurotransmisora, sin embargo, los síntomas nerviosos en el gato no son comunes, incluso en aquellos individuos con la infección cerebral, y se resumen en ataxia, pérdida de la visión, incoordinación, temblores, agitación de cabeza y desplazamientos en círculo. Los gatos mayores de edad son propensos a formas crónicas (Galván, 2001). Los cambios de comportamiento conducen a los roedores a la disminución de su aversión por el olor a los gatos y aumentan la probabilidad de que sean cazados y comidos (Velasco, Salvatierra, Valdespino, Sedano, Galindo, Magos, Llausas, Tapia, Gutiérrez, Sepúlveda, 1992)

## Diagnóstico

El diagnóstico definitivo en los animales vivos se logra por biopsia, aislamiento del organismo, o con títulos crecientes o altos de anticuerpos específicos. El diagnóstico clínico de rutina se apoya en los síntomas compatibles confirmados con las pruebas serológicas. Los gatos adultos raramente presentan síntomas clínicos de toxoplasmosis durante la primoinfección y la fase de eliminación de ooquistes (Barragán, 2002).



Las pruebas coprológicas, son de poca importancia debido a la corta patencia (15 días). En gatos sanos, durante el examen de heces los ooquistes pasan fácilmente desapercibidos por su pequeño tamaño. Una pequeña proporción de gatos seropositivos podría estar eliminando ooquistes; por otro lado un gato seronegativo podría estar sano, o recientemente infectado y también eliminar ooquistes (Blood, 1992).

En gatos sospechosos, se aconsejan las pruebas serológicas de IFAT, de microaglutinación directa (MAT) o ELISA para el rastreo de anticuerpos, IgG, IgA o IgM. Las IgG se elevan a las 2 a 4 semanas de la infección y persisten al menos por un año. Un solo título positivo de IgG no permite distinguir la infección activa de la crónica. Las IgM, se elevan de 1 a 2 semanas post-infección y persisten de 12 a 16 semanas. Los títulos de IgM o mayores sugieren una infección reciente (Hutchison 1969).

Los títulos de los anticuerpos caen a nivel mínimo cuando la infección se hace crónica (6-10 meses post-infección). La seroprevalencia aumenta con la edad, es mayor en machos, gatos domésticos de pelo corto, en comparación con las hembras y otras razas. También depende de las variaciones locales endémicas, prácticas de alimentación, habilidad de los ooquistes por sobrevivir en diferentes climas (Triolo, 2006).

El diagnóstico de la toxoplasmosis clínica se basa en la detección de taquizoítos en el examen citológico de aspirados traqueales, fluidos por lavado bronco alveolar y de la efusión pleural. Asimismo, en los casos de toxoplasmosis digestiva es necesaria la búsqueda de taquizoítos en el fluido abdominal (Mondragón, 1996).

Los estudios complementarios por imágenes son importantes para el diagnóstico y el grado de evolución de las patologías que afectan el SNC; la radiología, en gatos con pulmones comprometidos contribuye a confirmar el diagnóstico revelando numerosas

áreas irregulares de densidad heterogénea. Al igual la resonancia magnética en gatos con convulsiones por la presencia de granulomas cerebrales (Alexander, Mital, Ward, Bradley, 2005).

## 2.2.2 Salud pública y animal

### 2.2.2.1 Zoonosis y Profilaxis ambiental.

La prevención debería centralizarse en la higiene de los cajones de las deposiciones (debe cambiarse todos los días e higienizar con agua hirviendo), limpieza diaria fuera de las cocinas o comedores, uso de guantes durante la tarea y el inmediato lavado de manos.

El contacto directo con los gatos raramente puede resultar en la transmisión de la infección, porque la mayoría de los gatos no dejan materia fecal en el pelo por las costumbres de acicalamiento (Flores, 1991).

Debe impedirse que los gatos cacen y coman carne cruda o mal cocida, defequen en los jardines ya que los ooquistes sobreviven durante meses a años bajo condiciones apropiadas (Blood, 1992).

Adicionalmente, otros hospedadores intermediarios pueden transmitir la enfermedad por ingestión de su carne. La eliminación de ooquistes al medio ambiente ocurre una vez en la vida del animal y por varias semanas. El tiempo de incubación de los ooquistes lleva de 1 a 5 días. Las principales vías de contagio para el hombre son las carnes mal cocidas, las verduras mal lavadas y el agua contaminada (Martin, 2003).

### 2.2.3 Inmunoglobulinas

Las inmunoglobulinas o anticuerpos son proteínas producidas por el sistema inmunológico para atacar a los antígenos, el organismo genera diferentes inmunoglobulinas para combatir cada antígeno; son glicoproteínas del tipo gamma globulina. Pueden encontrarse de forma soluble en la sangre u otros fluidos corporales de los vertebrados, disponiendo de una forma idéntica que actúa como receptor de los linfocitos B y son empleados por el sistema inmunitario para identificar y neutralizar elementos extraños (Litman, et al, 1993).

#### 2.2.3.1 Anticuerpos IgG

La presencia de anticuerpos IgG implica que ha habido contacto entre el paciente y el parásito en algún momento de la vida. Aparece una a tres semanas después de adquirida la infección y alcanza su máximo nivel 3 a 6 meses después para luego descender y quedar a bajos niveles por el resto de la vida (Cuppari, 2008).

#### 2.2.3.2 Anticuerpos IgM

Su detección fue considerada como el marcador de la fase aguda de la enfermedad. La IgM permanece detectable entre 6 a 18 meses e incluso, dependiendo de variaciones individuales, hasta 1 a 2 años después de la primo infección (Cuppari, 2008).

## 2.3 HIPÓTESIS

H<sub>0</sub>

*Toxoplasma gondii* tiene un bajo índice de prevalencia en felinos domésticos de las clínicas veterinarias de la ciudad de Ambato.

H<sub>1</sub>

*Toxoplasma gondii* tiene un alto índice de prevalencia en felinos domésticos de las clínicas veterinarias de la ciudad de Ambato.

## 2.4 VARIABLES DE LA HIPÓTESIS

- Variable Independiente: Inmunoglobulina G y M.
- Variable dependiente: Electro quimioluminiscencia
- Unidades de observación: Gatos domésticos.

## METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

### 3.1 MODALIDAD DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.1.1 Enfoque, modalidad y tipo de investigación

El enfoque de la presente investigación fue cuali-cuantitativa ya que se manejó variables cualitativas y cuantitativas.

De campo

Este trabajo fue en la de modalidad de campo, ya que se determinó la incidencia de *Toxoplasma gondii*.

Por cuanto esta investigación se realizó en el lugar de los hechos, es decir en las clínicas veterinarias.

Bibliográfica

Ya que permitió recoger la información básica científica actualizada del problema de estudio para así analizarla y contrastarla con los resultados obtenidos.

#### FACTORES ESTUDIADOS.

- Toxoplasma gondii*
- Electro quimioluminiscencia para IgG, IgM.

#### 3.5 POBLACIÓN Y MUESTRA.

La investigación no fue de carácter experimental, fue descriptiva, en este propósito se aplicó el siguiente procedimiento.

El proceso de investigación partió de 16 establecimientos que es el total en estudio, los cuales están registrados según el CATASTRO PROVINCIAL DE ALMACENES DE EXPENDIO DE INSUMOS AGROPECUARIOS 2015 – AGROCALIDAD. Para lo cual se realizó la visita personal correspondiente y el contacto previo con los responsables de las clínicas, localidad centro de Ambato, más una citación verbal a los propietarios de los felinos.

Vale recalcar que no todos las clínicas brindaron colaboración, además se manifestó un escaso interés por la propuesta del tema de investigación planteado por parte de propietarios y del veterinario.

De las cuales 3 clínicas no colaboran, 1 clínica fuera de servicio, 2 en venta de insumos, 4 clínicas fuera del sector. Para dicho trabajo se contó con la colaboración de 6 clínicas veterinarias situadas en la zona céntrica de Ambato con un total de 30 gatos domésticos y sus propietarios quienes colaboraron con la propuesta de investigación.

Se trabajó en dichas clínicas en base a los siguientes parámetros: atención al cliente, colaboración, fichas de registro, número de gatos domésticos, centro de la ciudad.

Se identificó y ubicó los establecimientos mediante la revisión del croquis del centro de Ambato, luego se contactó a los propietarios de los felinos atendidos en las clínicas veterinarias.

Se determinó el número de animales con los que se contó para la investigación

## TRATAMIENTO Y DISEÑO O ESQUEMA DE CAMPO

Fue un estudio descriptivo en donde no se aplicó tratamiento experimental. Los datos recolectados fueron procesados utilizando programas estadísticos computarizados (Excel), la información se presentó en cuadros y gráficos; además se aplicaron pruebas estadísticas con chi cuadrado.

### 3.7 DATOS TOMADOS

- Edad
- Sexo
- Resultado del análisis, positivos y negativos para inmunoglobulina IgG-IgM para *Toxoplasma gondii*.

### 3.8 MANEJO DE LA INVESTIGACIÓN.

En el presente se dio a conocer todos los materiales y métodos empleados en nuestra investigación de tesis, de igual manera se explicó en forma clara la recopilación de la información, y los procedimientos que se realizaron en esta investigación.

La parte investigativa de la tesis se realizó en la Provincia de Tungurahua, cantón Ambato, localidad centro de la ciudad; los animales que se utilizaron para la parte práctica, fueron obtenidos mediante la visita a las clínicas veterinarias del sector durante un mes y medio de lunes a viernes en horario de 09h00 a 12h00 y de 15h00 a 18h00 , con un total de 30 animales de la especie felina de los cuales

todos fueron mestizos y cuyas edades están comprendidas entre los 6 meses hasta 10 años de edad.



## MATERIALES

Los materiales nombrados a continuación fueron utilizados durante todo el desarrollo de la investigación incluyendo la parte práctica.

### De campo

- Jeringas
- Tijeras.
- Guantes de latex.
- Algodón.
- Alcohol.
- Uniforme y mandil.
- Máquina rasuradora.
- Jaulas para transporte de animales.
- Frazada o mantas.
- Tranquilizante (ACEDAN)
- Sulfato de atropina

### De laboratorio

- Tubos sin anticoagulante.
- Microcolette.
- Gradilla
- Termo refrigerante.
- Reactivos para la prueba de electro quimioluminiscencia

- Centrífuga

De escritorio

- Esferos.

- Hojas.

- Computadora.

- Impresora.

- Internet.

- Cámara fotográfica.

## MÉTODOS

Una vez contactados los propietarios de gatos se solicitó que acudan a las clínicas en donde se realizó la toma de datos del paciente, completada la ficha se procedió a realizar la toma de muestra sanguínea obtenida de la siguiente manera:

- Se envolvió al gato en una manta para facilitar su manejo colocándolo sobre la camilla en posición ventral, sujetando el cuello hacia el ayudante y presionando con los dedos índice y anular el canal yugular.

- En el caso de animales agresivos se consideró el uso de tranquilizantes.

- Se tomó en cuenta que el sitio de punción debe estar limpio y libre de patógenos, esto incluyó recortar el pelo (tricotomía), se realizó el embrocado con solución yodada por dos veces y después con alcohol.

En casos donde el corte no fue posible por algún motivo la limpieza fue más estricta.

La asepsia se realizó en sentido contrario al crecimiento del pelo del animal; de arriba hacia abajo desde el centro hacia la periferia.

Las muestras de sangre se obtuvo mediante la punción directa de la vena yugular usando jeringas de 3ml y recolectadas en tubos de tapa roja sin anticoagulante haciéndola deslizar por las paredes para evitar la hemólisis de la muestra; la cantidad de 2ml para felinos adultos y 1ml para jóvenes.

Después de la punción el sitio se dejó seco, limpio y libre de sangre ya que cualquier humedad o materia orgánica favorece las infecciones.

Por último se etiquetó cada muestra y se almacenó en el cooler.

## ANÁLISIS

Prueba utilizada en la investigación electro-quimioluminiscencia

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

Este inmuno ensayo “ECLIA” (electrochemilunescenceimmunoassay) de electroquímio-luminiscencia está concebido para ser utilizado en los inmunoanalizadores Elecsys y cobas e.

Principio del test para Toxo IgG (técnica sándwich con duración total de 18 minutos.)

□ 1° incubación: 10 µl de muestra, un antígeno recombinado específico del *T. gondii* biotinilado y un antígeno recombinado específico del *T. gondii* marcado con quelato de rutenio forman un complejo sándwich.

□ 2° incubación: después de incorporar las micro partículas recubiertas de estreptavidina, el complejo formado se fija a la fase sólida por interacción entre la biotina y la estreptavidina.

□ Los resultados se obtuvieron mediante una curva de calibración generada por el sistema a partir de una calibración a 2 puntos y una curva máster incluida en el código de barras del reactivo.