



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
NICARAGUA,  
MANAGUA  
UNAN - MANAGUA



**RECINTO UNIVERSITARIO “RUBÉN DARÍO”  
INSTITUTO POLITÉCNICO DE LA SALUD “LUIS FELIPE MONCADA”  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO**

**MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIATURA EN BIOANÁLISIS  
CLÍNICO**

**COMPARACIÓN DE MÉTODOS DIAGNÓSTICOS PARA TOXOPLASMOSIS EN  
MUESTRAS PROCESADAS EN EL CENTRO EPIDEMIOLÓGICO INTER SILAIS  
GRANADA EN EL PERÍODO SEPTIEMBRE-OCTUBRE DEL 2022.**

**AUTORES:**

Br. María Fernanda Vega Mejía  
Br. Gerald Daniel López Gaitán  
Br. Francis Daniela Gutiérrez González

**TUTOR:**

Lic. Francisco Enrique Romero Oviedo  
Máster en Microbiología Médica Clínica, Departamento de Bioanálisis Clínico  
POLISAL / UNAN-MANAGUA.

**ASESOR METODOLÓGICO:**

Lic. María Mercedes Flores Duarte  
Responsable de Laboratorio  
Directora del Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada (CEIS)

**Managua, Nicaragua febrero del 2023.**

## Resumen

El presente estudio tuvo como objetivo la comparación de métodos diagnósticos para toxoplasmosis en muestras procesadas en el Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada en el período septiembre-octubre del 2022. Para alcanzar el objetivo se llevó a cabo un estudio descriptivo comparativo de dos técnicas diagnósticas para la detección de anticuerpos IgG/IgM anti-*Toxoplasma gondii*, en 106 muestras de pacientes que fueron procesadas en el centro antes mencionado.

Mediante el método ELISA se determinó la frecuencia en IgG e IgM en las muestras de los pacientes las cuales se clasificaron de acuerdo a edad y sexo destacando así el sexo femenino con un 98% y solo el 2% de sexo masculino, la edad que predominó más con la infección fue de 18 a 27 años con un 41%, Con los resultados obtenidos se evaluó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) de la prueba inmunocromatográfica frente a la técnica ELISA. Para IgG se determinó una sensibilidad de 97%, especificidad 100%, valor predictivo positivo 100% y valor predictivo negativo de 99%. Para IgM se determinó una sensibilidad de 99%, especificidad de 100%, valor predictivo positivo 100% y valor predictivo negativo de 94%. El valor del índice kappa fue de 0,965 (IC95% 0,866-0,976), el cual refleja una concordancia casi absoluta entre las dos técnicas. El porcentaje de concordancia de los resultados de IgG e IgM de las dos técnicas fue de 96% y 97%, respectivamente, y el porcentaje de concordancia total obtenido fue de 96,5%, lo que indica que entre las dos técnicas comparadas existe un excelente índice de concordancia ( $\kappa= 0,916$ ), que es un valor de concordancia muy bueno, ya que corrige la concordancia debida solamente a la intervención del azar e incluye el cálculo de la concordancia esperada, que incorpora los valores marginales de cada prueba.

## **Dedicatoria**

A **Dios** por habernos resguardado y brindarnos sabiduría durante los cinco años de carrera universitaria, acompañándonos en cada paso y obstáculos que se nos presentó a lo largo de nuestro camino y perseverancia para concluir este trabajo.

A nuestros **padres** por el esfuerzo y apoyo incondicional, dedicación y fe depositada en nosotros, por sus consejos y palabras de aliento en los momentos de incertidumbre. Siendo nuestra mayor razón en la formación como personas íntegras y profesionales.

A nuestros **maestros**, por brindarnos sus conocimientos y sobre todo su experiencia para ser unos excelentes profesionales.

A las **personas** que con su colaboración hicieron posible que este trabajo se llevara a cabo, y a las que nos brindaron palabras de aliento y nos motivaron a seguir adelante.

*Br. María Fernanda...*

*Br. Gerald Daniel...*

*Br. Francis Daniela...*

## **Agradecimiento**

- Agradecemos infinitamente a Dios por darnos la vida, la oportunidad de realizar este trabajo monográfico, por la sabiduría, fuerzas y perseverancia que nos ha brindado.
- Agradecemos a nuestros padres y familiares por ser nuestro soporte día con día incondicionalmente y estar al lado de nosotros en momento de dificultad.
- Al tutor MSc. Francisco Enrique Romero Oviedo y asesora metodológica Lic. María Mercedes Flores Duarte que dedicaron tiempo y disposición para guiarnos en este camino al éxito.
- A los maestros que se tomaron el tiempo y dedicación de guiarnos en el presente trabajo.
- Al Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada, por darnos la oportunidad de muestrear la monografía y apoyo en la misma.
- A la Universidad UNAN-Managua y docentes por la enseñanza de todos sus conocimientos a lo largo de los cinco años de la carrera, formándonos como excelentes profesionales para el futuro del país
- Y a las personas que de una u otra manera nos brindaron su ayuda.

*“Las actitudes negativas nunca resultan en una vida positiva” Emma White*

## **CARTA AVAL DEL TUTOR**

El presente trabajo investigativo ha sido elaborado con el propósito de comparar dos métodos de diagnóstico para la detección de toxoplasmosis. Esta investigación hace énfasis en la importancia de la detección de anticuerpos IgG/IgM en muestras clínicas y la importancia de contar con una prueba de fácil manejo, ejecución rápida, poco equipamiento para su aplicación y parámetros estadísticos satisfactorios con respecto a la prueba de referencia utilizada. Como tutor considero que este trabajo monográfico titulado **“Comparación de métodos diagnósticos para toxoplasmosis en muestras procesadas en el centro epidemiológico inter SILAIS Granada en el período septiembre-octubre del 2022”**, presentada por los **Br. María Fernanda Vega Mejía, Br. Gerald Daniel López Gaitán y Br. Francis Daniela Gutiérrez González**, reúne los requerimientos establecidos para ser presentado ante el comité de evaluación de departamento de Bioanálisis clínico de Instituto Politécnico de la Salud, **POLISAL, UNAN-MANAGUA**.

---

**MSc. Francisco Enrique Romero Oviedo**  
**Docente dpto. Bioanálisis clínico**  
**POLISAL, UNAN-MANAGUA**

## **INDICE**

<b>Introducción .....</b>	<b>1</b>
<b>Planteamiento del problema .....</b>	<b>2</b>
<b>Justificación.....</b>	<b>4</b>
<b>Objetivos.....</b>	<b>5</b>
<b>Marco referencial.....</b>	<b>6</b>
<b>Diseño metodológico .....</b>	<b>33</b>
<b>Análisis Y Discusión .....</b>	<b>48</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>55</b>
<b>Recomendaciones.....</b>	<b>56</b>
<b>Referencias Y Bibliografía.....</b>	<b>57</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>65</b>

## Introducción

La toxoplasmosis “es una zoonosis parasitaria causada por un protozoo intracelular: *Toxoplasma gondii*, Nicolle y Manceaux, 1908. Este parásito de la familia *Sarcocystidae* fue descubierto por primera vez en Túnez es un roedor denominado *gondii*, de donde procede su nombre” (Pérez Á. P., 2002). Los síntomas, el curso y las consecuencias de la infección dependen de la virulencia, el tamaño del inóculo, la genética y el estado inmunológico del huésped. Es una enfermedad sistémica, autolimitada y de muy bajo riesgo para las personas inmunocompetentes.

El aporte del laboratorio serológico en esta enfermedad es fundamental tanto para la valoración inicial del paciente, como para el seguimiento. En nuestro país la Toxoplasmosis ha sido poco estudiada, debido a que el diagnóstico es complejo y no en todos los centros de salud y hospitales se realiza. El tamizaje de las toxoplasmosis puede realizarse por métodos biológicos, serológicos, histológicos y moleculares o por alguna combinación de los anteriores.

En este estudio se emplearon los métodos de Ensayo de inmunoabsorción ligado a una enzima (ELISA) Y la Prueba Inmuncromatográfica, por ser las más accesibles a nuestro medio. Estas metodologías presentan diferencias en sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo, por ello se consideró importante comparar los resultados entre ellas.

Por lo anteriormente expuesto, el presente estudio se realizó con el objetivo de comparar el método ELISA con el método de pruebas inmucromatográfica para el diagnóstico de la toxoplasmosis en muestras procesadas en el Centro epidemiológico Inter SILAIS Granada en el periodo septiembre-octubre del 2022.

## Planteamiento del problema

### Caracterización Del Problema:

La Toxoplasmosis es la zoonosis parasitaria más difundida en la naturaleza, su incidencia varía de un lugar a otro afectando del 4 al 98% de la población mundial, estas variaciones se atribuyen a factores geográficos, sociológicos, económicos y ambientales. *Toxoplasma gondii* es capaz de parasitar cualquier tipo de células de los vertebrados, excepto eritrocitos. En el ser humano la parasitación se produce la mayoría de veces de forma asintomática, por tanto, la Infección es la regla y la Enfermedad es la excepción. (Pérez, González, & Medrano, 2012)

### Delimitación Del Tema:

La Toxoplasmosis no es un tema muy estudiado y en la actualidad, el Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada (CEIS) no cuenta con un estudio previo referente a este tema, es por ello que realizamos el presente protocolo de investigación para comparar dos métodos de diagnóstico para toxoplasmosis, determinando la frecuencia de esta enfermedad en los pacientes así como clasificándolos de acuerdo a edad y sexo, evaluando la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos de las prueba inmucromatográfica; y por último poder establecer el grado de concordancia entre la técnica ELISA y la prueba Inmunocromatográfica.

### Formulación:

Todo esto motiva diversas interrogantes referentes a la detección y diagnóstico de la infección, apoyando de esta manera las intervenciones en materia de salud pública destinadas al descenso de la misma. Esto nos lleva a la siguiente interrogante:

¿Cuáles son los resultados de comparación de los métodos diagnósticos para toxoplasmosis en muestras procesadas en el Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada en el periodo septiembre-octubre del 2022?



Sistematización:

¿Cuál es la frecuencia de toxoplasmosis según el método ELISA de acuerdo a edad y sexo en las muestras procesadas en el Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada en el período septiembre-octubre del 2022?

¿Qué porcentaje de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de las pruebas inmunocromatográficas (Accu-Tell) en base al método estándar ELISA para toxoplasmosis tienen las muestras procesadas en el Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada?

¿Cómo es el grado de concordancia entre las pruebas Inmunocromatográficas y la técnica ELISA para toxoplasmosis en muestras procesadas en el Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada?

## Justificación

La toxoplasmosis afecta al hombre y a otros invertebrados de sangre caliente en todo el mundo, con la posible excepción de la Antártida; ahora bien, la frecuencia de esta infección varía considerablemente de un país a otro, por eso el valor de los estudios epidemiológicos depende de la especificidad y la sensibilidad de los métodos que se emplean y de la validez de la muestra examinada. (OMS, 2010)

Es importante realizar estudios epidemiológicos de esta enfermedad, la cual no ha sido muy estudiada en la población nicaragüense, siendo de ayuda la observación en la frecuencia de la población, sobre todo aquellos que pueden estar más vulnerables a dicha infección, para poder prevenir las afectaciones que pueden causar a aquellos pacientes que desarrollen la enfermedad y tener un diagnóstico tempranamente. Este estudio será de beneficio para aquellos Centros de Salud que no cuenten con el equipo y reactivos necesarios para la realización del método ELISA, en la cual se podrá dar un diagnóstico de una forma certera y veraz con la prueba Inmunocromatográfica.

Es importante este estudio sobre la comparación de métodos diagnósticos, ya que con los datos obtenidos se podrá dar recomendaciones para que la prueba inmunocromatográfica pueda incorporarse en centros de salud donde en su laboratorio no cuenten con el equipo lector de ELISA. Los datos obtenidos son de mucha importancia para la incorporación de nuevas metodologías diagnósticas para la toxoplasmosis.

## Objetivos

### Objetivo general:

- Comparar métodos diagnósticos para toxoplasmosis en muestras procesadas en el Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada en el período septiembre-octubre del 2022.

### Objetivos específicos:

- Determinar la frecuencia de toxoplasmosis mediante el método ELISA de acuerdo a edad y sexo en muestras procesadas en el Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada en el período septiembre- octubre del 2022.
- Evaluar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la prueba inmunocromatográfica (Accu-Tell) en base al método estándar ELISA (Vircell) en muestras procesadas en el Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada.
- Establecer el grado de concordancia entre la prueba Inmunocromatográfica y el método ELISA para toxoplasmosis por el método Kappa de Cohen en muestras procesadas en el Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada.

## Marco referencial

### Antecedentes

La Toxoplasmosis es una de las enfermedades parasitarias más prevalentes, estimándose presente en un 30-50% de la población mundial y superando incluso a la tuberculosis latente la cual infecta a un tercio de la población humana. (Jaroslav Flerg et al., 2014)

Para desarrollar esta investigación se realizó varias consultas bibliográficas, no se encontró estudios relacionados al tema “Comparación de métodos diagnóstico para Toxoplasmosis en muestras procesadas en el Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada en el Periodo septiembre-octubre del 2022”. Sin embargo, se realizaron ciertas investigaciones similares con otros métodos diagnósticos.

#### Internacionales

Se encontró un trabajo elaborado por (Hounto et al., 2014) en Benín titulado: **“Evaluación de una prueba de diagnóstico rápido en el diagnóstico de toxoplasmosis en mujeres embarazadas en Cortonou (Benín).”** El objetivo del estudio fue evaluar el rendimiento de los ImmunoComb Toxo IgG e ImmunoComb Toxo IgM (prueba de diagnóstico rápido) en el diagnóstico de laboratorio de toxoplasmosis en mujeres embarazadas en Cotonou. Se recolectó 266 muestras de mujeres embarazadas para la medición de anticuerpos IgG e IgM anti *T. gondii* con los ensayos ImmunoComb toxo y con el método ARCHITECT CIMA. Las seroprevalencias de IgG contra *T. gondii* por técnica CIMA y prueba rápida fueron respectivamente 48,9% y 48,5%. La prevalencia aumentó con la edad. Los rendimientos para IgG fueron: sensibilidad 97 %, especificidad 100 %, VPP 100 %, VPN = 97. 10%. Para IgM, Sensibilidad: 33,3 % Especificidad: 100 %, VPP 100 %, VPN = 99,2 %. La seroprevalencia obtenida muestra que aproximadamente la mitad de la población del estudio no es inmune contra *T. gondii*. De acuerdo

a estos resultados, y dadas las necesidades de diagnóstico de toxoplasmosis en campo caracterizadas por una importante disminución de mujeres inmunizadas, esta prueba puede ser recomendada en el diagnóstico de laboratorio de toxoplasmosis en niveles periféricos de la pirámide de salud.

Se encontró un trabajo elaborado por (Gribaudo et al., 2017) en Argentina titulado: **“Comparación entre Metodologías para la Detección de IgG Anti *Toxoplasma gondii* en Suero.”** Los objetivos de dicho trabajo, fueron comparar diferentes test serológicos para detección de anticuerpos IgG anti *Toxoplasma gondii* y establecer la concordancia entre ellos. Los métodos evaluados fueron HAI (hemaglutinación indirecta), QM (quimioluminiscencia), e IFI (inmunofluorescencia indirecta). Se evaluaron 100 muestras de suero de pacientes de adultos ambos sexos que ingresaron para realizarse el estudio de *Toxoplasma gondii* a las cuales se les dosó IgG e IgM. Se descartó del análisis una muestra con resultado positivo para IgM Anti-*Toxoplasma gondii*. De los 99 pacientes evaluados 19 fueron negativos por las tres técnicas, 10 fueron negativos por QM y positivos por HAI e IFI. Un paciente fue negativo por HAI y positivo por las otras 2 técnicas. Se determinó la concordancia con el coeficiente Kappa que se encontraron para los resultados globales (positivo Negativo) fueron para HAI vs QM: 0.802, HAI vs IFI: 0.774, QM vs IFI: 0.743, mostrando una excelente concordancia entre las técnicas HAI/QM, y buena concordancia entre HAI/IFI y QM/IFI. En cuanto a las equivalencias propuestas (estratificando resultados positivos) se obtuvieron los siguientes coeficientes: para HAI vs QM: 0.662, HAI vs IFI: 0.569, QM vs IFI: 0.637, mostrando buenas concordancias entre HAI/QM y QM/IFI. Acorde a la bibliografía, los resultados encontrados demuestran la importancia de utilizar siempre el mismo método diagnóstico. Para los casos en donde los pacientes no tengan acceso a la misma

metodología en el seguimiento clínico, se propone el uso de una tabla de relación entre resultados de distintas técnicas, a modo de facilitar la interpretación de los mismos.

Se encontró un trabajo elaborado por (Abdel Malek y Wassef 2018) en EL Cairo, Egipto titulado: **“Validez de una prueba Inmunocromatográfica en la detección de *Toxoplasma gondii* en pacientes con cáncer”**. Se diseñó este estudio para comparar el rendimiento de una nueva ICT (la prueba OnSite Toxo IgG/IgM Combo Rapid) y técnicas ELISA para la detección de anticuerpos anti- *T. gondii* como herramienta para la detección de toxoplasmosis entre pacientes con cáncer en El Cairo. Egipto. Entre 180 pacientes con cáncer, un total de 110 pacientes (61,1%) fueron positivos para anti- *T. gondii* anticuerpos por uno o ambos métodos. Se encontró concordancia entre ambos métodos en el 78,8% de las muestras. Al utilizar la técnica ELISA como prueba estándar de oro para la detección de anticuerpos anti- *T. gondii*, los resultados mostraron una especificidad del 87,5% y una sensibilidad del 74% de la técnica ICT. Además, nuestros resultados demostraron que ICT es más sensible para detectar niveles más bajos de anticuerpos que ELISA, lo que lo hace preferible como prueba de detección para pacientes inmunocomprometidos.

Se encontró un trabajo elaborado por (Rym et al., 2021) en España titulado: “Contribución del test *Toxoplasma* ICT IgG IgM en la determinación del estado inmunológico de las gestantes frente a la toxoplasmosis” el objetivo fue estudiar su contribución para establecer con precisión el estado inmunológico frente a *Toxoplasma* en mujeres embarazadas utilizando como técnica de referencia el Western blot (WB) Toxo II IgG. Treinta y nueve sueros fueron seleccionados para el estudio de entre 2.615 que ya fueron probados por IgG e IgM ELISA. En ausencia de IgM y presencia de títulos equívocos de IgG en ELISA, los resultados de *Toxoplasma* ICT IgG-IgM y WB Toxo II fueron concordantes en un 94,7 %. Todas las muestras positivas en WB también

fueron positivas en ICT, como resultado, la sensibilidad de las TIC para detectar niveles bajos de anticuerpos IgG fue del 100 %, mientras que la especificidad fue del 50 %. El VPP y el VPN fueron, respectivamente, 100 % y 34 %. En presencia de IgM y ausencia de IgG en ELISA, los resultados de *Toxoplasma* ICT IgG-IgM y WB Toxo II fueron 85 % concordantes. Todas las muestras positivas en el seguimiento WB Toxo II, Obteniendo como resultado, la sensibilidad de las TIC para detectar IgM anti - *Toxoplasma* específico fue del 100 %. De las 13 muestras negativas en WB Toxo II, tres fueron positivas por ICT que muestran una especificidad del 76,9%. El VPP y el VPN fueron respectivamente 100 % y 69,3 %. Los resultados confirman la alta sensibilidad de *Toxoplasma* ICT IgG-IgM en la detección tanto de IgG como de IgM anti - *Toxoplasma* específicos, y destacan la utilidad de esta prueba rápida como prueba serológica de *Toxoplasma* de primera o segunda línea en mujeres embarazadas.

## **Nacionales**

En la búsqueda de información bibliográfica, Nicaragua cuenta con estudios serológicos para la detección de dicha infección, en caso contrario a nuestro tema, no encontramos estudios previos que hablen sobre la comparación de métodos diagnósticos para toxoplasmosis. Ya que este tema es muy poco estudiado en nuestro país.

## **Historia**

La toxoplasmosis “es una zoonosis parasitaria causada por un protozoo intracelular: *Toxoplasma gondii*, dicho parásito fue descubierto por primera vez en Túnez es un roedor denominado gondii, por el cual procede su nombre” (Pérez Á. P., 2002)

*Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) fue descrito por primera vez por Nicolle y Manceaux, quienes en 1908 aislaron este protozoo de células mononucleares del bazo e hígado de un roedor africano (*Ctenodactylus gundi*). En un principio fue considerado como una especie de *Leishmania*,

pero un año después, tras mayores estudios, se concluyó que se trataba de una nueva especie y la denominaron *T. gondii* por su forma arqueada (del griego toxon = arcos) y por el nombre vulgar del roedor en el que fue hallado, el gondii. (Grandia, Angel, & Cruz, 2013)

### **Epidemiología de la infección por toxoplasmosis**

En Estados Unidos no se advierte diferencia relevante en la prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* entre varones y mujeres. Con base en el sitio geográfico y el grupo poblacional, del 3 al 67% de los adultos muestran signos serológicos de infección. (Drazen Gill et al., 2002)

La incidencia de toxoplasmosis congénita en Estados Unidos varía de uno en 1000 a uno en 8000 nacidos vivos. Es posible que la frecuencia de transmisión al feto dependa de la parasitaria de la madre, de la madurez de la placenta, y de la competencia de la respuesta inmunitaria de la gestante frente al parásito. Se ha demostrado que la transmisión congénita varía considerablemente y depende del momento de la gestación en que la madre contrajo la infección. Cerca del 85% de los pequeños con infección congénita tienen aspecto normal al nacer. Sin embargo, sin tratamiento incluso el 85% de ellos más tarde tendrán signos y síntomas de la enfermedad, en casi todos los casos, coriorretinitis o retraso del desarrollo (Drazen Gill et al, 2002)

### **El parásito**

*Toxoplasma gondii* es un protozoo parásito intracelular obligado, perteneciente al filo Apicomplexa. Su ciclo de vida comprende diferentes estadios. Las formas infectantes son los esporozoítos contenidos en el ooquiste esporulado, los bradizoítos contenidos en el quiste y los taquizoítos contenidos en el pseudoquiste con forma de banana de 7-8 micras de tamaño. (Correa, 2017) (Véase Anexo 5)

### **Morfología y ciclo vital de *toxoplasma gondii***



Su ciclo de vida comienza cuando el hospedador definitivo (felinos) ingiere el ooquiste esporulado presente en el agua, en la vegetación o ingiere los quistes o pseudoquistes presentes en carne cruda de hospedadores intermediarios (mamíferos y aves). En el intestino del felino el parásito continúa su ciclo y nuevos ooquistes son liberados con las heces. En el exterior los ooquistes esporulan al cabo de 1 a 5 días.

Los ooquistes esporulados, los quistes o pseudoquistes también pueden ser ingeridos por un hospedador intermediario, en este caso el parásito migra a través de la circulación sanguínea del intestino a otros órganos y tejidos del hospedador, quedando encerrado en una célula conocida como pseudoquiste, donde el parásito se multiplica y se libera infectando nuevas células, con el tiempo el pseudoquiste puede calcificarse y formar un quiste de hasta 100 micras de tamaño. (INSST, 2021) (véase Anexo 7)

### **Mecanismos de transmisión**

Existen dos métodos de transmisión clásicos del mismo: el consumo de ooquistes que provienen de las heces del gato y que contaminan alimentos, y el consumo de carnes crudas o mal cocidas que contienen bradizoitos, no obstante, la revisión de la literatura existente, ha demostrado otras fuentes y formas alternativas de transmisión.

### **Transmisión acuática de los ooquistes**

La transmisión acuática de los ooquistes era considerada poco frecuente, hasta que varios autores demostraron que esta vía podría ser responsable de muchos casos de toxoplasmosis. La importancia del agua como posible fuente de infección para animales y humanos, empieza a ser tomada en cuenta cuando en la Columbia Británica, Canadá entre finales de 1994 e inicios de 1995, se genera un incremento súbito en el diagnóstico serológico de toxoplasmosis aguda. (Bowie et al., 1997)

### **Transmisión vía transfusional y por trasplantes**

Los riesgos de contaminación con *Toxoplasma gondii* a través de las transfusiones, están incrementados por la incidencia de este parásito en donantes y la tolerancia de este a los procesos de preparación y almacenamiento de la sangre, por lo que resulta peligroso para los grupos de riesgo. Esta enfermedad no es de declaración obligatoria en Cuba. El interés de conocer el comportamiento epidemiológico de esta parasitosis nos condujo a estudiar 562 muestras de donantes de sangre de la provincia de Guantánamo, donde resultaron positivos para IgG anti *T. gondii* el 47,0 %, con más del 62 % de positividad en los municipios de Baracoa y Maisí, con mayor prevalencia en áreas rurales. Los valores de seropositividad observados en los grupos etarios estudiados y la relación entre sexo no fue significativa, aunque el contacto con el parásito en el grupo de edad entre 18 y 40 años fue superior. Estos datos seroepidemiológicos alertan sobre la necesidad de proponer acciones de control en el uso de hemoderivados en los grupos de riesgo. (Sánchez et al., 2012)

### **Transmisión por inhalación de ooquistes**

En 1977, un brote de toxoplasmosis aguda en un establo en Georgia, Atlanta, fue reportado por Teutsch, parece ser el primer caso de toxoplasmosis vinculado a la inhalación de ooquistes aerosolizados durante una cabalgata; aunque los intentos por aislar los ooquistes del suelo fueron infructuosos, si se logró aislar el parásito de tejidos de animales atrapados en el establo; a pesar de este hallazgo, no se encontraron niveles de anticuerpos anti *Toxoplasma* sin embargo, quedan algunas dudas sobre esta alternativa de transmisión, ya que las formas infectantes deberían ser los ooquistes, los cuales pudieron haber sido aerosolizados y posteriormente, ingeridos para la generación de la enfermedad; no obstante, para que este proceso ocurra, es necesario que haya desecación que permita la aerosolización, asociada a la exposición a la luz solar, dos factores que

pueden ser deletéreos para la viabilidad de los ooquistes; es necesario, por tanto, hacer estudios que demuestren la viabilidad de ellos en estas condiciones medioambientales extrema. (Pub.Med.gov, 2008)

### **Toxoplasmosis congénita**

La toxoplasmosis congénita es el resultado de la infección fetal transplacentaria por *Toxoplasma gondii* después de la infección materna primaria. La gravedad de la enfermedad depende de la edad gestacional en el momento de la transmisión. Las infecciones del primer trimestre son más graves, pero menos frecuentes, que las infecciones del tercer trimestre. La infección materna aguda se diagnostica por seroconversión o por la detección de anticuerpos IgM y una prueba de baja avididad de IgG. En estos casos, se debe iniciar espiramicina para prevenir la transmisión al feto. Para la identificación de la infección fetal, se debe realizar una prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del líquido amniótico después de las 18 semanas de gestación. (Asociación Española Pediatría, 2013)

### **Transmisión sexual**

La transmisión por vía sexual del parásito se ha documentado en varias publicaciones desde hace medio siglo en diversos tipos de mamíferos, pero las pruebas que ésta forma de transmisión sean efectivas no son concluyentes. Uno de los animales más estudiados, ha sido las ovejas, con resultados sobresalientes como su alta tasa de abortos asociado a *T. gondii* posiblemente, adquirido por vía sexual; se demostró experimentalmente que en ovejas seronegativas inseminadas con semen que contenía  $4 \times 10^7$  taquizoítos, se produjo seroconversión de todos los animales y por PCR se identificó el parásito en la mayoría de los animales inoculados. Se puede afirmar que, la transmisión por la vía sexual en los animales sujetos de experimentación es muy probable, pero ¿qué tan probable es en el hombre?, en la literatura actual no se ha documentado este parásito en

muestras seminales humanas, sin embargo, se ha relacionado a *T. gondii* con infertilidad por medio de la producción de anticuerpos antiesperma o como sugieren diversos estudios, en ratones, al producir hipogonadismo hipogonadotrópico y alteraciones en la morfología de los espermatozoides. En humanos, tan solo se han hecho estudios post mortem, donde por histopatología se ha encontrado el parásito en testículos, túbulos seminíferos, células de Sertoli y macrófagos testiculares, sin embargo, se debe tener en cuenta que estos sólo fueron encontrados en personas con SIDA. (Pérez et al., 2011)

### **Transmisión mecánica**

Varios autores han planteado la posibilidad que en el ciclo de vida del *Toxoplasma gondii*, animales aparte de los felinos participen en la transmisión del mismo como transportadores mecánicos. En base a estudios epidemiológicos y otros estudios teóricos se había propuesto la posibilidad de artrópodos como vectores mecánicos del parásito, hay evidencia de transmisión mecánica por cucarachas como *Periplaneta americana* la cual, transporta los ooquistes infectantes durante 10 días y se ha demostrado que hay transmisión a través de las heces de las misma, al ingerir heces de gatos infectados y posteriormente, tener contacto con alimentos.

### **Transmisión por alimentos**

Se ha considerado que esta es la principal forma en la cual los seres humanos adquieren la infección por *Toxoplasma gondii*, ya sea por el consumo de quistes tisulares en los tejidos de los animales para consumo humano o por la presencia de ooquistes en frutas y verduras. (Langlas et al., 2011)

### **Aspectos clínicos**

### **Patogenia**

El primer paso para la invasión celular de esporozoítos y bradizoítos es el reconocimiento de un punto de unión en las células epiteliales (enterocitos) de la mucosa intestinal, para su posterior invasión, incluso de células extraintestinales, llevándose a cabo un ciclo de reproducción incompleta. La infección aguda inicial lleva a la diferenciación rápida a taquizoítos, formas intensamente dinámicas e invasivas que cruzan eficientemente el epitelio. Cuando en el hospedero se desarrolla una respuesta inmune como resultado de la infección con *Toxoplasma*, el proceso evoluciona hacia la cronicidad y se forman los quistes tisulares con múltiples bradizoítos. Los parásitos liberados de ooquistes y los liberados de los quistes tisulares se multiplicarán y estos nuevos trofozoítos pasarán al torrente sanguíneo e incluso a la circulación linfática diseminándose por todo el organismo.

El taquizoíto es el encargado de destruir las células de manera directa y muestra predilección por las células parenquimatosas y las del sistema retículo endotelial. Los humanos son relativamente resistentes, pero de todos modos puede ocurrir infección leve en ganglios linfáticos. Cuando se rompe un quiste de los tejidos libera un gran número de bradizoítos y una reacción de hipersensibilidad local que causa inflamación, oclusión de los vasos sanguíneos y muerte celular. La infección congénita es causa de mortinato, coriorretinitis, calcificaciones intracerebrales, trastornos psicomotores, hidrocefalia y microcefalia (Becerril, 2008)

Las infecciones pueden manifestarse de varias maneras: toxoplasmosis aguda, toxoplasmosis del sistema nervioso central, toxoplasmosis congénita, toxoplasmosis ocular, enfermedad generalizada o que no afecte al sistema nervioso central en pacientes inmunodeficiente.

La toxoplasmosis es adquirida horizontalmente por la ingestión de agua y otros alimentos contaminados, carne cruda o mal cocinada de aves o mamíferos. En cambio, es una enfermedad

congénita si se debe a la transmisión vertical, de madre a hijo, durante el embarazo, el parto o la lactancia temprana. Es poco común que la toxoplasmosis adquirida provoque problemas clínicos a las personas que tienen una respuesta inmune adecuada, si bien puede ocasionar cambios de conducta y estados alterados de salud que son imperceptibles (subclínicos). No obstante, la toxoplasmosis es clínicamente relevante en individuos con inmunodepresión ocasionada por infecciones como el VIH o por tratamiento médico con inmunosupresores cuando se realiza un trasplante de órganos o como apoyo al tratamiento del cáncer. Los pacientes desarrollan problemas graves, como encefalitis, retinocoroiditis (inflamación de la retina), daño sistémico generalizado, hepato o espleno megalia (agrandamiento del hígado o el bazo) y alteraciones de glándulas, entre otros. La toxoplasmosis es causa de abortos, pues la mayoría de los embriones infectados muere. Un primer aborto provocado por *T. gondii* puede favorecer pérdidas gestacionales posteriores, aunque no se conocen las causas de estos abortos recurrentes. Si una mujer se infecta durante el segundo tercio del embarazo, su bebé tiene una probabilidad de 16% de nacer infectado y con problemas clínicos, principalmente del sistema nervioso central y del ojo. Los bebés cuyas mamás se infectan al final del embarazo normalmente nacen sin alteraciones clínicas, pero desarrollan secuelas, como convulsiones, ceguera o sordera parcial, tras algunas semanas, meses e incluso años después. (Correa, 2017)

### **Diagnóstico de la enfermedad toxoplasmosis**

Hasta la aparición de las técnicas de biología molecular, el diagnóstico etiológico de la toxoplasmosis se ha basado, casi exclusivamente, en la detección de anticuerpos específicos en suero, reservándose las técnicas de inoculación al ratón y el cultivo celular para las infecciones graves o potencialmente peligrosas, como la infección aguda en la embarazada, la toxoplasmosis cerebral y la infección congénita. (Derouin et al., 2008)

## Diagnóstico serológico

La serología es una disciplina basada en la detección de anticuerpos específicos contra un determinado microorganismo, en este caso *Toxoplasma gondii*. Debería llamarse con mayor propiedad Inmunodiagnóstico, ya que serología es un término antiguo que alude a la utilización de suero como material biológico en el cual se realiza el estudio. De todos modos, ambos términos se consideran sinónimos. El concepto básico que debe tenerse en cuenta es que lo que se busca no es el parásito y, por lo tanto, sus resultados nunca proporcionan certeza diagnóstica y deben medirse en términos de probabilidad. Para que las probabilidades de éxito en el diagnóstico serológico se acerquen a la certeza es imprescindible seleccionar adecuadamente el método a emplear, el momento de la toma de muestra y, asimismo, interpretar adecuadamente los resultados.

## Pruebas de diagnóstico convencional y no convencional

Las pruebas de diagnóstico serológico generalmente se clasifican en pruebas convencionales y no convencionales. Entre las convencionales se encuentran Inmunofluorescencia indirecta (IFI), hemaglutinación indirecta (HAI) y ensayo inmunoenzimático (ELISA). Las pruebas no convencionales son también conocidas como pruebas rápidas, de muy fácil ejecución e interpretación. Presenta ventaja de poder realizarse en el campo debido a que no requiere equipamiento especial. (OPS/OMS, 2005)

## Métodos serológicos

Los métodos actualmente validados son:

- ELISA
- Hemaglutinación indirecta (HAI)
- Inmunofluorescencia indirecta (IFI)

No existen actualmente otras pruebas validadas para diagnóstico de infección por toxoplasmosis. Otras técnicas como la aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con antígeno de *T. gondii* es desaconsejada por su baja confiabilidad (sensibilidad, especificidad y reproductividad). Por último, reacciones como la Inmunocromatografía, que pueden ser muy útiles por la posibilidad de utilizarlas como métodos de screening rápidos en terreno y que actualmente están disponibles en el mercado de nuestro país. (Lomonte, 2009)

### **Método de ELISA**

Los parámetros para determinar la confiabilidad de un método son: Sensibilidad (S), Especificidad (E) y Valor predictivo (VP). S: capacidad de un método de dar resultado positivo en presencia de infección E: capacidad de un método de dar resultado negativo en ausencia de infección VP: probabilidad que un individuo con resultado positivo esté realmente infectado (VP+) o de que un individuo con resultado negativo sea realmente no infectado (VP-) Las dos primeras son intrínsecas del método, en cambio el VP depende de la prevalencia de la infección. Así, en zona de alta endemicidad el VP+ de un resultado positivo es más alto que en una zona no endémica (y por lo tanto la probabilidad de resultado falso positivo es menor).

El ensayo por inmovilización ligada a enzimas, más conocido por su acrónimo en inglés “ELISA”, permite detectar la presencia de un anticuerpo o un antígeno en una muestra; fue descrito por primera vez en 1971 por Engvall y Perlmann. Hay técnicas serológicas en las que la cantidad de anticuerpos se cuantifica más rápidamente que en la neutralización vírica sin valorar la capacidad protectora de los mismos. Estas técnicas tienen en común que uno de los dos reactivos, el antígeno o, más frecuentemente el anticuerpo, están marcados con una molécula, que puede ser fluorescente, un isótopo reactivo, un metal pesado o una enzima. (Ocampo et al, 2016)



En todas las pruebas que emplean marcadores, primero hay que adsorber o unir los anticuerpos o los antígenos a una superficie de la que no deben desprenderse, llamada fase sólida, y el proceso de adsorción o fijación se llama “tapizado”. En el caso del ELISA, la fase sólida puede ser una placa de poliestireno, típicamente de 96 pocillos con el fondo plano. Tras haber tapizado y lavado, se añade por duplicado, es decir, en dos pocillos, la muestra problema, que será antígeno vírico, si la placa está tapizada con anticuerpos, o suero si lo está con antígeno vírico. Tras la incubación a la temperatura adecuada para favorecer la unión Ag-Ac, generalmente a 37°C, se lava con cuidado, pero a conciencia para eliminar los reactivos que no hayan quedado fijados a la fase sólida. Se continúan añadiendo reactivos, incubando y lavando tantas veces como requiera el protocolo de cada tipo concreto de ELISA. El penúltimo reactivo suele ser el “conjugado”, que son anticuerpos unidos a una enzima, es decir “marcados”, para tras la incubación y lavado correspondiente, añadir el sustrato de la enzima. (BIO-RAD, 2021)

La prueba ELISA se basa en varias teorías:

- El antígeno y anticuerpo pueden enlazarse a una superficie portadora insoluble y retener su reactividad inmunológica.
- Las enzimas tienen actividad específica alta y convierten una cantidad relativamente grande de sustrato en producto detectable, lo que permite detectar concentraciones muy bajas del ligando.
- La actividad enzimática o reactividad inmunológica de los conjugados se preserva y permanece estable durante el análisis y el almacenamiento.
- Las enzimas no están presentes en el líquido biológico que se va a analizar.

Los anticuerpos utilizados en el método ELISA son de origen monoclonal o policlonal que se suministran como antisuero no fraccionado o fracciones de inmunoglobulina purificada, pueden

ser solubles o estar inmóviles en un soporte sólido, son empleados como conjugados no marcados o enzimáticos y por último reaccionan con determinante antigénico específico de un antígeno o de un anticuerpo ligando-específico (anticuerpo primario) según el protocolo de análisis. (Nigam et al., 2007)

Los antígenos se purifican o se producen con tecnología recombinante, y al igual que los anticuerpos se utilizan como conjugados marcados o enzimáticos y son inmóviles o solubles, dependiendo del protocolo de análisis. Como se puede deducir los conjugados enzimáticos son antígenos o anticuerpos unidos en forma covalente a la enzima de elección. Así pues, el reactivo que se forma de la unión covalente entre enzima y antígeno o anticuerpo es el conjugado. Se conoce que es posible, también, marcar de forma no covalente anticuerpos o enzimas con biotina y agregar avidina. La avidina posee cuatro sitios de enlace para la biotina y no todos ellos participan en la interacción con el anticuerpo marcado con biotina. Los sitios de enlace libres funcionan como aceptores para la enzima marcada con biotina. Este procedimiento se acorta utilizando anticuerpo marcado con biotina y avidina marcada con enzima. (Guzmán, 2004)

### **Fases de un ensayo elisa**

Las 4 fases de un ensayo ELISA son las siguientes:

- a. Conjugación del anticuerpo o del antígeno con un enzima (peroxidasa, fosfatasa alcalina).  
El anticuerpo conjugado a la enzima se emplea en los ensayos directos e indirectos, sandwich, etc. El antígeno marcado se emplea en ensayos de competición de antígeno.
- b. Unión del antígeno (o del anticuerpo) a los pocillos. La unión de anticuerpos o antígenos se realiza con facilidad a la superficie de plásticos tratados que tienen gran afinidad por proteínas.

- c. Formación de una o más capas de inmunocomplejos. En el caso del antígeno unido a la placa se puede detectar mediante un anticuerpo anti-antígeno marcado (ELISA directo) o empleando un anticuerpo primario anti-antígeno y un secundario anti primario marcado (ELISA indirecto). Este segundo método permite la amplificación de la señal al poderse unir uno o más anticuerpos secundarios a cada anticuerpo primario. En el caso del anticuerpo unido a la placa se incuba con una mezcla de antígeno y antígeno marcado. Se ensayan diferentes relaciones de antígeno frío frente a una cantidad fija de antígeno marcado. Es el ensayo de competición del antígeno.
- d. Revelado de la reacción enzimática. Después de un lavado para eliminar todas las moléculas marcadas no fijadas en forma de inmunocomplejos se añade el sustrato enzimático en solución. Se deja reaccionar y se lee la densidad óptica (D.O.) mediante espectrofotometría. (ELC, 2019)

## **Tipos de ELISA**

Debido a su sencillez y rápido procedimiento, los inmunoensayos ELISA son uno de los más utilizados en investigación y diagnóstico para la identificación y/o cuantificación de analito de naturaleza proteica como péptida, proteínas, anticuerpos y hormonas.

En función de la manera en que se produzcan las interacciones antígeno-anticuerpo, los ensayos ELISA pueden clasificarse en cuatro principales categorías.

### **Elisa directo**

El ELISA directo es el ensayo ELISA más simple y rápido de todos, donde un anticuerpo primario marcado con una enzima se unirá directamente al antígeno de interés permitiendo la detección y/o cuantificación del mismo.

El procedimiento simplificado sería el siguiente:

- a. El antígeno se inmoviliza sobre una placa.
- b. Se añade un anticuerpo primario marcado con una enzima que se unirá al antígeno de interés.
- c. Se añade el sustrato que al reaccionar con la enzima proporcionará una señal visible que permitirá la detección y/o cuantificación del antígeno de interés.

### **ELISA indirecto**

Es un ensayo parecido al ELISA directo, pero en dos pasos, lo que permite amplificar la señal obtenida. En este caso se utilizan dos anticuerpos, uno primario y otro secundario, y es este último el que irá conjugado a una enzima.

El procedimiento simplificado sería el siguiente:

- a. El antígeno se inmoviliza sobre una placa.
- b. Se añade un anticuerpo primario sin marcar que se une al antígeno de interés.
- c. Se añade un anticuerpo secundario marcado con una enzima que se unirá al anticuerpo primario.
- d. Se añade el sustrato que al reaccionar con la enzima proporcionará una señal visible que permitirá la detección y/o cuantificación del antígeno de interés.

### **ELISA competitivo**

El ELISA competitivo es una variante más compleja de la técnica ELISA, también conocido como ELISA de inhibición debido al uso de un antígeno de referencia que competirá con el antígeno de la muestra por unirse al anticuerpo primario. Se utiliza generalmente para detectar y/o cuantificar antígenos presentes en muy bajas cantidades.

El procedimiento simplificado es el siguiente:

- a. El antígeno de referencia se inmoviliza sobre la placa.
- b. Por otro lado, un exceso de anticuerpo primario sin marcar se incuba con la muestra que contiene el antígeno de interés, dando lugar a la formación de complejos antígeno-anticuerpo.
- c. Se añade la mezcla antígeno-anticuerpo a la placa, donde el antígeno de referencia competirá con el antígeno de la muestra por unirse al anticuerpo.
- d. Se lava la placa eliminando los complejos antígeno-anticuerpo solubles.
- e. Se añade a la placa un anticuerpo secundario marcado con una enzima que se unirá al anticuerpo primario anclado al antígeno de referencia.
- f. Se añade el sustrato que al reaccionar con la enzima proporcionará una señal visible que será inversamente proporcional a la cantidad de antígeno de interés presente en la muestra (Abyntek, 2019)

### **ELISA tipo sándwich**

En el ELISA tipo sándwich el antígeno queda inmovilizado entre dos anticuerpos, uno de captura y otro de detección también conocidos como pares de anticuerpos, que se unirán a dos epítopos distintos de un mismo antígeno.

El procedimiento simplificado sería el siguiente:

1. El anticuerpo de captura se inmoviliza sobre la placa.
2. Se añade la muestra que contiene el antígeno de interés que se unirá al anticuerpo de captura.
3. Se añade el anticuerpo de detección que se unirá al antígeno unido a su vez al anticuerpo de captura.
4. En caso de que el anticuerpo de detección vaya conjugado a una enzima, procederemos directamente con el 5º paso. En caso contrario (que es lo más habitual en los ELISA tipo sándwich), será necesario añadir un anticuerpo secundario marcado con una enzima que se unirá al anticuerpo de detección.
5. Se añade el sustrato que al reaccionar con la enzima proporcionará una señal visible que permitirá la detección y/o cuantificación del antígeno de interés. (Abyntek, 2019)  
(véase en Anexo 8)

#### Fundamento VIRCELL IgG

Método de ELISA basado en la reacción de los anticuerpos de la muestra con el antígeno unido a la superficie de poliestireno. Las inmunoglobulinas no unidas por reacción son eliminadas por el proceso de lavado. En un paso posterior la globulina anti-humana reacciona con el complejo antígeno-anticuerpo, y la que no se une es eliminada por los lavados, la unida reacciona con el sustrato (TMB), para dar una reacción coloreada azul, que cambia a amarillo tras la adición de la solución de parada. (MICROBIOLOGISTS, VIRCELL, 2018)

## Fundamento VIRCELL IgM

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. (MV, 2018)

## Prueba inmunocromatográfica

Los sistemas inmunocromatográficos son sistemas rápidos, basados en la captura inmunológica de un colide coloreado durante su paso a través de una membrana sobre la cual ha sido inmovilizado un anticuerpo o un antígeno. (Escalante et al., 2001)

## Ventajas de una prueba inmunocromatográfica

Pueden realizarse a una temperatura no específica. Al estar basadas en una reacción enzimática, amplifican la señal con el desarrollo de un producto de color que es fácil de observar en el contexto de la matriz de color blanco.

- **Rápido:** basta añadir muestra al sistema y esperar entre 5 y 20 minutos
- **Sencillo:** las muestras se requieren en menor cantidad y no es necesario considerar factores de envío y conservación, ya que, por ejemplo, en caso de requerir heces para la prueba, sólo es necesario utilizar un hisopo para utilizarla. no requiere ningún instrumental de laboratorio complicado.
- **Fácil de interpretar:** aparece una línea indicando si el sistema es positivo o no.

- **Fiable:** lleva incorporada una línea de control cuya aparición verifica el correcto funcionamiento del ensayo.
- **De fácil ejecución:** el tamaño de estas pruebas es práctico y se requieren pocos materiales adicionales de bajo costo, que ya vienen incluidos en el kit. El material que se utiliza es desechable y no es reutilizable. Estas pruebas rápidas se pueden llevar a cabo por una persona que no esté capacitada para estar en un laboratorio. (O'Connor, 2015)

### **Desventajas de una prueba inmunocromatográfica**

Algunos autores describen, que la exactitud y especialmente la sensibilidad de estos sistemas son a veces insatisfactorias. Con este tipo de pruebas también se puede incurrir en errores y que pudieran tener una tasa más elevada de error que las pruebas que se realizan en los laboratorios. No son pruebas cuantitativas. (Mitamura et al, 2004)

### **Principio de una prueba inmunocromatográfica**

Las pruebas de flujo lateral (lateral flow) también llamadas pruebas de inmunocromatografía están formadas por una serie de membranas de material poroso que se encuentran superpuestas entre sí y adheridas a una tarjeta de soporte o *backing card*. La prueba comienza con la adición de la muestra en la almohadilla de muestra (*sample pad*) donde es tratada para que sea compatible con el resto del test. La muestra tratada migra desde la almohadilla de muestra, a la almohadilla del conjugado (*conjugate pad*) que contiene el conjugado inmovilizado. Generalmente, la conjugación se realiza con partículas de oro coloidal, aunque también puede realizarse con partículas de latex coloreadas, paramagnéticas o fluorescentes entre otras.

La muestra vuelve a movilizar el conjugado e interactúa con el analito cuando ambos migran a la siguiente sección de la tira, que es la zona de captura. En la zona de captura se han



inmovilizado otros componentes biológicos que se han depositado en líneas específicas de la membrana donde sirven para capturar el analito y el conjugado a medida que migran por la(s) línea(s) de test (*test line*). Lo podremos detectar de forma visual con la aparición de una banda coloreada. Así mismo, la zona control está formada por un tercer anticuerpo que reconoce al reactivo de detección. Cuando el resto de muestra alcanza esta zona, el anticuerpo se unirá al conjugado libre que no ha quedado retenido en la zona de captura. Esta línea es un control de que el ensayo ha funcionado bien, porque se colorea siempre, independientemente si la muestra es positiva o negativa. (Ramirez et al., 2011)

### **Componentes de una tira inmunocromatográfica**

#### ***Almohadilla de muestra***

La función de la almohadilla de muestra es admitir la muestra, tratarla de manera que sea compatible con el ensayo, y liberar el analito con alta eficiencia.

#### ***Almohadilla del conjugado***

El papel que juega la almohadilla de conjugado en un inmunoensayo de flujo lateral es contener el conjugado seco, mantenerlo estable a lo largo de su vida útil y liberarlo de manera eficiente y reproducible cuando el análisis se lleve a cabo. Su composición generalmente se basa en una fibra de poliéster o vidrio y a menudo se pre-tratan con diferentes proteínas, polímeros, y agentes tensoactivos para hacerlos hidrófilas con el fin de garantizar la estabilidad y la liberación óptima del conjugado cuando entran en contacto con la muestra.

#### ***Membrana***

La matriz de reacción es típicamente una membrana con una estructura hidrófila abierta, que tiene como función el transporte de los líquidos hacia la zona de reacción, sobre la que se ha

inmovilizado previamente los reactivos de captura biológicos específicos y el reactivo de control. La membrana es, probablemente, la parte más importante de la plataforma del ensayo. Su rendimiento se ve influido en gran medida por su morfología física y su composición química.

### ***Almohadilla absorbente***

La almohadilla absorbente se compone generalmente de celulosa y se coloca en el extremo de la tira, después de la zona de reacción. La función principal de la almohadilla absorbente es mantener el flujo de la muestra y de los reactivos a través de la membrana y evitar la aparición de los falsos positivos, impidiendo la liberación de estos de nuevo hacia la zona de detección.

### ***Soporte***

Con el fin de facilitar el manejo de la tira y proporcionar rigidez a la membrana utilizada en los inmunoensayos de flujo lateral (LFIAs), a todos los componentes anteriormente descritos (almohadilla de muestra, de conjugado, membrana y almohadilla absorbente) se montan generalmente en un material de soporte. Los materiales utilizados son típicamente poliestireno o diferentes variantes de plástico, que se encuentran recubiertos de adhesivo sensible a la presión para mantener a todos los componentes de la tira unidos en un formato definido. (Rodríguez, 2016)

### ***Carcasa***

La carcasa es típicamente el último componente incluido en un LFIA. Aunque no es imprescindible, es un componente muy funcional del ensayo, proporcionando un control para la aplicación de la muestra, de las velocidades de flujo, proporciona un flujo adecuado de los fluidos de un componente de la tira al siguiente y tiene un gran efecto sobre la reproducibilidad del ensayo. (Martín, 2016) (véase en anexo

## **Principio De Una Prueba Inmunocromatográfica ACUTELL**

El casete de prueba TOXO IgG/IgM Rápida (suero o plasma) ACCU-TELL® es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba consiste en: 1) un conjugado de color rojo que contiene antígenos de *T. gondii* conjugados con oro coloidal (conjugados de *T. gondii*) y conjugado de IgG-oro de conejo, 2) una tira de membrana nitrocelulosa que contiene dos bandas de prueba (banda T1 y T2) y una banda de control (Banda C). La banda T1 esta pre-revestida con IgM monoclonal antihumano para la detección de IgM anti-*T. gondii*, la banda T2 esta pre-revestida con reactivos para la detección de IgG anti-*T. gondii*, y la banda C esta pre-revestida con IgG anti-conejo de cabra. (ATCO, 2020)

Cuando se aplica un volumen adecuado de muestra de prueba en la almohadilla de muestra de la prueba, la muestra migra por acción capilar a través de la tira. Si IgM anti-*T. gondii*. Luego el inmunocomplejo se encuentra capturado en la membrana por el anticuerpo IgM antihumano pre-revestido, formando una banda de T1 de color rojo, lo que indica un resultado positivo de la prueba de *T. gondii* IgM.

Si IgG anti-*T. gondii* está presente en la muestra se unirá a los conjugados de *T. gondii*. Luego el inmunocomplejo se encuentra capturado por los reactivos pre-revestidos en la membrana, formando una banda T2 de color rojo, lo que indica un resultado positivo la prueba de IgG de *T. gondii*.

La ausencia de cualquier banda T (T1 y T2) sugiere un resultado negativo. La prueba contiene un control interno (banda C) que debe de exhibir una banda de color rojo del inmunocomplejo de conjugado de IgG anti-conejo de cabra /conjugados de IgG-oro de conejo, independientemente del desarrollo de color en cualquiera de las bandas T. de lo contrario, el resultado de la prueba no es válido y la muestra debe volver a analizarse con otro dispositivo. (Véase en Anexo 9)

## Indicadores estadísticos básicos para evaluar el desempeño de un procedimiento diagnóstico

**Prueba.** Método que permite obtener información sobre el nivel de salud o enfermedad, o condición, del paciente o usuario. Así, una prueba de embarazo pretende saber si la usuaria tiene la condición de encinta; una prueba de Jobe pretende reconocer una lesión del músculo supraespinoso. Queremos manifestar, aunque no nos haga caso casi nadie, que la sustitución de la palabra “prueba” por *test* nos parece una necesidad. También conviene recordar que la palabra *prueba*, con otra acepción, es la mejor traducción para *evidence*, cuando hablamos de “evidence-based practice”.

**Validez.** Una prueba es válida si cumple con unos criterios de calidad, en definitiva, si es capaz de detectar la condición o enfermedad o ausencia de la misma. Una de las maneras de conocer la validez de una prueba es el binomio sensibilidad-especificidad.

**Patrón de oro o estándar de referencia.** Es el mejor método conocido para ratificar la presencia o ausencia de la condición a estudio. Puede ser una prueba o una combinación de ellas, o incluso el seguimiento de los sujetos sometidos a evaluación. Este patrón de referencia debe ser independiente de la prueba evaluada y la precisión de la misma se define por la concordancia con aquel. Así, idealmente, una combinación de dolor al estiramiento de un tendón, dolor a la palpación, y dolor a la contracción resistida podría ser indicador de una tendinitis, confirmada en su momento por un hipotético patrón de oro como una ecografía o una artroscopia, por ejemplo. (FCM, 2019)

### Sensibilidad y especificidad

Yerushalmy, en 1947 introduce los términos de sensibilidad y especificidad como indicadores estadísticos que evalúen el grado de eficacia inherente a una prueba diagnóstica. Miden la discriminación diagnóstica de una prueba en relación a un criterio de referencia, que se considera la verdad, por lo cual permite comparar directamente la eficacia de una prueba con el de otras y esperar resultados similares cuando son aplicadas en diferentes países, regiones o ámbitos.

La sensibilidad (S) indica la capacidad de la prueba para detectar a un sujeto enfermo, expresando que tan sensible es la prueba ante la presencia de la enfermedad, para cuantificar la expresión en términos probabilísticos será: si la enfermedad está presente

**S= P (T+/ Enf)** la sensibilidad es la probabilidad de que la prueba identifique como enfermo a aquel que efectivamente lo está.

La especificidad (E) indica la capacidad que tiene la prueba de identificar como sanos (no enfermos) a los que efectivamente los son. La probabilidad condicional:

**E= P (T-/ No Enf)** la especificidad es la probabilidad de que la prueba identifique a los no enfermos que efectivamente no lo están.

**T+ Y T-** indican, respectivamente, un resultado positivo o negativo de la prueba.

Estas características pueden estimarse a partir de una tabla de 2x2 como se muestra a continuación.

Donde:

a = número de pacientes con la enfermedad diagnosticados como "positivos" por la prueba.

b = número de pacientes sin la enfermedad diagnosticados como "positivos" por la prueba.

c = número de pacientes con la enfermedad diagnosticados como "negativos" por la prueba.

d = número de pacientes sin la enfermedad diagnosticados como "negativos" por la prueba.

Puede apreciarse que cada celda de la tabla refleja una característica que también suele calificarse de la manera siguiente:

a = Verdaderos positivos (VP)

b = Falsos positivos (FP)

c = Falsos negativos (FN)

d = Verdaderos negativos (VN)

### Valores Predictivos

Los valores predictivos pretenden lo que en realidad hacemos, valorar si una prueba (de la que conocemos sensibilidad y especificidad) me permite conocer la probabilidad de que el usuario tenga o no una condición (enfermedad, alergia, intolerancia al ejercicio, etc.), dependiendo de si el resultado para la misma es positivo o negativo. El matiz, nada baladí, es que ahora partimos de una **probabilidad preexamen**. (FCM, 2019)

**El valor predictivo positivo** equivale a la probabilidad condicional de que los individuos con una prueba positiva, tengan realmente la enfermedad.

$$VP (+) = P (\text{Enf} / T+)$$

El valor predictivo negativo es la probabilidad condicional de que los individuos con una prueba negativa no tengan realmente la enfermedad.

$$VP (-) = P (\text{No Enf} / T-)$$
 (Torregroza, 2021)

## Diseño metodológico

### Tipo de investigación

Esta investigación tuvo un enfoque cuantitativo porque se utilizó la recolección, el análisis de datos y uso de la estadística descriptiva para determinar la frecuencia de la Toxoplasmosis, evaluación de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, así como la concordancia entre las dos pruebas. Los métodos cuantitativos de investigación son útiles cuando existe en el problema a estudiar un conjunto de datos representables mediante distintos modelos matemáticos. Los resultados obtenidos son de índole numérica, descriptiva y, en algunos casos, predictiva. (Etecé, 2013)

### Tipo de estudio

Según el tiempo de ocurrencia de los hechos y registros de la información el estudio fue **Prospectivo**, ya que se registró la información recolectada en la medida que fueron ocurriendo los hechos.

Según el análisis y el alcance de los resultados el estudio fue **Descriptivo** ya que se realizaron comparaciones entre los métodos diagnósticos para toxoplasmosis.

Según el periodo y secuencia del estudio es de corte **Transversal** ya que la investigación se realizó haciendo un corte en el tiempo, el cual comprende los meses de septiembre a octubre del 2022.

### Área de estudio

El estudio fue realizado en el departamento de Granada en muestras procesadas en el Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada en un periodo comprendido de septiembre- octubre del 2022.

### Universo

Para la realización del estudio se conformó de 118 muestras procesadas en el Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada. De las cuales 46 corresponden al mes de septiembre y 72 al mes de octubre del año 2022.

### **Muestra**

Se seleccionaron 106 muestras respectivamente, representando el 89.8% del universo.

### **Tipo de muestreo**

El tipo de muestreo para la comparación de métodos diagnósticos en el estudio fue no probabilístico por conveniencia.

### **Criterios de inclusión**

- Muestras remitidas al CEIS en el periodo establecido al estudio septiembre-octubre del 2022.
- Muestras que tenían debida rotulación y hoja de solicitud del examen según los criterios del CEIS.

### **Criterios de exclusión**

- Muestras mal rotuladas y sin su orden de examen.
- Resultados con concentraciones indeterminados por la técnica ELISA.
- Muestras que no ingresaron al CEIS en el periodo septiembre-octubre del año 2022.

### **Unidad de análisis**

Muestras de suero/plasmas procesadas en el Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada en el período de septiembre-octubre del año 2022.

### **Técnica e instrumentos de recolección de datos**

Para obtener la información de estudio se procedió a realizar las siguientes actividades:



1. Se elaboró una ficha de recolección de datos en base a los objetivos propuestos, esta misma se le realizó las posibles modificaciones convenientes según el desarrollo del estudio.
2. Se procesaron y analizaron las muestras para la recolección de información.

La **técnica** se entiende como el conjunto de reglas y procedimientos que le permiten al investigador establecer la relación con el objeto o sujeto de la investigación.

La técnica que se empleó para esta investigación, fue la ficha de recolección de datos debidamente elaborada en el año 2022 que fue llenada a medida que se procesaron las muestras. En donde los datos a llenar fue edad, sexo, concentraciones de anticuerpos para el método ELISA IgG e IgM y resultados de anticuerpos para la prueba rápida IgG e IgM. Posteriormente se elaboró una base datos que se utilizó para determinar la frecuencia de la infección y a su vez, hacer la comparación entre los dos métodos diagnósticos.

### **Procedimientos para la recolección de información**

Los datos recopilados sobre el análisis de resultados e interpretación de la prueba rápida y ELISA se llevaron a cabo a través de la ficha de recolección de datos; los cuales fueron operacionalizados y procesados a través de tablas, utilizando el programa IBM SPSS versión 29.0 y Epidat 3.1 para la elaboración de tablas y gráficos. La información fue digitada, en el programa Microsoft Office Word 2019 y para la presentación del trabajo se utilizó el programa Microsoft Power Point 2019.

### **Obtención y conservación de las muestras**

#### **Obtención de la muestra**

Las muestras que se procesaron en el Laboratorio Epidemiológico Inter SILAIS Granada se obtuvieron de pacientes que asistieron al área clínica, una vez obtenida las muestras se procedió a separar el suero/plasma de la sangre, pasando por un proceso de centrifugación de 3,500 r.p.m

por 5 minutos, una vez separado se alicuetearon las muestras en viales y luego se llevaron al área de Toxoplasmosis para ser procesadas por los investigadores del estudio.

### Conservación de las muestras

- Si las muestras no se procesan de inmediato refrigerar a 6 °C. La muestra es viable hasta 26 días.
- Es muy importante evitar la congelación y descongelación de las muestras ya que si se hace esto al manipularla se están resuspendiendo las enzimas, los anticuerpos y se contaminarían las muestras.

### Procedimiento

#### Toxoplasma ELISA IgG Captura (Vircell)

<b>Materiales</b>	<b>Reactivos</b>	<b>Equipo</b>
- Pipeta de precisión para dispensar 5 y 100 µl - Pipeta de precisión multicanal para dispensar de 100 µl - Lavador de placas de ELISA - Agua destilada - Placas para ELISA IgG	- Diluyente para suero - Control positivo, negativo y control CUT OFF. - Conjugado - Solución sustrato - Solución STOP - Solución de lavado	- Incubadora - Vortex - Espectrofotómetro de placas de ELISA con filtro de 450 nm y filtro de referencia de 620nm

#### Preparación de solución de lavado

1 litro de agua destilada + 50 ml de solución de lavado concentrado.

## Procedimiento

1. Colocar 100  $\mu\text{l}$  de diluyente a cada pocillo.
2. Mezclar la muestra en el vortex y añadir 5  $\mu\text{l}$  de está al pocillo de placa.
3. Añadir 5  $\mu\text{l}$  de control positivo, negativo y cut off a los pocillos destinados.
4. Cubrir con lámina adhesiva e incubar 45 minutos a 37 °C.
5. Realizar lavados 5 veces con 300  $\mu\text{l}$  de solución de lavado.
6. Añadir 100  $\mu\text{l}$  de conjugado.
7. Cubrir con lámina adhesiva e Incubar 30 minutos a 37° C.
8. Lavar 5 veces con 300  $\mu\text{l}$  de solución lavado.
9. Añadir 100  $\mu\text{l}$  de sustrato
10. Incubar a temperatura ambiente 20 minutos en la oscuridad
11. Añadir 50  $\mu\text{l}$  de solución STOP.
12. Lectura 450|620 nm antes de una hora acabado el ensayo.

## Protocolo de validación

<b>Control positivo</b>	>0.9
<b>Control negativo</b>	<0.5
<b>Cut off</b>	>0.55, <1.5

**Interpretación** (véase Anexo 29)

<b>Positivo</b>	>11
<b>Dudoso</b>	9-11
<b>Negativo</b>	<9

**Toxoplasma ELISA IgG Captura (Vircell)**

<b>Materiales</b>	<b>Reactivos</b>	<b>Equipo</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pipeta de precisión para dispensar 5 y 100 µl</li> <li>- Pipeta de precisión multicanal para dispensar de 100 µl</li> <li>- Lavador de placas de ELISA</li> <li>- Agua destilada</li> <li>- Placas para ELISA IgM</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Diluyente para suero o plasma</li> <li>- Control positivo, negativo y control CUT OFF.</li> <li>- Conjugado</li> <li>- Solución sustrato</li> <li>- Solución STOP</li> <li>- Solución de lavado</li> <li>- Solución tamponada para la reconstitución del conjugado.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Incubadora</li> <li>- Vortex</li> <li>- Espectrofotómetro de placas de ELISA con filtro de 450 nm y filtro de referencia de 620nm</li> </ul>

**Preparación de solución de lavado**

1 litro de agua destilada + 50 ml de lavado de solución de lavado concentrado.

**Preparación de conjugado para IgM**

Añadir 3 ml de solución de reconstitución a un vial de conjugado liofilizado. Y mezclar mediante vortex

### Procedimiento

1. Añadir 100 µl de diluyente a los pocillos, excepto a los controles.
2. Mezclar en el vortex la muestra y añadir 5 µl de esta al pocillo.
3. Añadir 100 µl de control negativo, positivo y cut off.
4. Incubar 60 minutos a 37° C.
5. Lavar 5 veces con 300 µl de solución de lavado.
6. Añadir 100 µl de conjugado
7. Incubar 60 minutos a 37° C.
8. Lavar 5 veces con 300 µl de solución de lavado
9. Añadir 100 de µl sustrato
10. Incubar 20 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad.
11. Añadir 50 µl de solución STOP.
12. Lectura de 450\620 nm.

### Protocolo de validación

<b>Control positivo</b>	>0.9
<b>Control negativo</b>	<0.5
<b>Cut off</b>	>0.55, <1.5

**Interpretación** (véase Anexo 30)

<b>Positivo</b>	>11
<b>Dudoso</b>	9-11
<b>Negativo</b>	<9

**Prueba Inmunocromatográfica Acu-Tell IgG / IgM**

<b>Materiales</b>
Casette de prueba
Goteros
Prospecto

**Procedimiento de prueba**

1. Colocar la bolsa a temperatura ambiente antes de abrirla. Retire el casette de prueba de la bolsa sellada y úsela en una hora.
2. Coloque el casette de prueba sobre una superficie limpia y nivelada. Sostenga el gotero verticalmente y transfiera 3 gotas de suero o plasma (aproximadamente 75 µl) al pocillo de la muestra del casette de prueba. Evite la formación de burbujas de aire en el espécimen.
3. Espere a que aparezcan las líneas de color. Compruebe el resultado dentro de 15 minutos.  
No interprete resultados después de 20 minutos.

## Interpretación de resultados

**POSITIVO:** \* **Aparecen dos o tres líneas.** Una línea de color siempre debe aparecer en el área de la línea de control (C) y otra o dos líneas de color aparentes deben estar en la(s) área(s) de la línea de prueba (IgM y/o IgG).

**IgM Positivo:** Junto con la línea en el área de control (C), aparece una línea en el área IgM.

Indica un resultado de prueba positivo para anticuerpos de Toxoplasma.

**IgG Positivo:** Junto con la línea en el área de control (C), aparece una línea en el área IgG.

Indica un resultado de prueba positivo para anticuerpos de Toxoplasma.

**\*NOTA:** La intensidad del color en las áreas de la línea de prueba (IgM e IgG) puede variar dependiendo de la concentración de anticuerpos de Toxoplasma presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en el área de la línea de prueba (IgM y/o IgG) debe considerarse positivo.

**NEGATIVO:** **Una línea de color aparece en el área de la línea de control (C).** No aparece ninguna línea en las áreas de la línea de prueba (IgM e IgG).

**INVÁLIDO:** **No aparece la línea de control.** Volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para la falla de la línea de control.

Revise el procedimiento y repita la prueba con una nueva prueba. Si el problema persiste, suspenda el uso del kit de prueba inmediatamente y contacte a su distribuidor local.

## Ética en la investigación

El presente estudio fue sometido primero a una aprobación por el departamento de Bioanálisis Clínico del POLISAL de la UNAN-MANAGUA, posteriormente al SILAIS Granada, garantizando ante todo la confidencialidad de los datos obtenidos. Se considera que es una

investigación sin riesgo alguno. Estos datos son de carácter estadísticos, por lo que solo se utilizó edad, sexo y resultados del paciente. No se realizó consentimiento informado a los pacientes ya que no se tuvo contacto directo con ellos, debido a que muchas de las muestras que se procesaron en el Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada (CEIS) fueron enviadas por centros de salud y puestos de salud, pero si se realizó un consentimiento institucional con el fin de proteger los datos a utilizar de los pacientes. La información es con fines académicos, por lo que hubo acceso restringido a la información de los pacientes a personas extrañas a la investigación y la entrega de resultados fue en el centro antes mencionado.



### Operacionalización De Las Variables

<b>Variables</b>	<b>Criterio</b>	<b>Valor</b>	<b>Indicador</b>	<b>Instrumento</b>
Frecuencia de toxoplasmosis mediante el método ELISA	Cantidad de casos positivos o negativos		Frecuencia	Ficha de recolección de información
ELISA	IgG	- Positivo: >11 UI/mL - Negativo: <9 UI/mL - Dudoso: -		Reporte de concentraciones obtenidas. Registro de resultados. Análisis de resultados de acuerdo al punto de corte/cut off.
	IgM	- Positivo: >11 UI/mL - Negativo: <9 UI/mL - Dudoso: -		
<b>Variables</b>	<b>Criterio</b>	<b>Valor</b>	<b>Indicador</b>	<b>Instrumento</b>

Edad	IgM - Positivo - Negativo - Dudoso	0-10 11-21 22-32 33-43 44-54 55-65 66-77 78-88 89-99	Edad del paciente en años cumplidos	Ficha de recolección de información
Sexo	Masculino Femenino			Ficha de recolección de información
Sensibilidad	Verdaderos positivos*100/ verdaderos positivos + falsos negativos		Porcentaje de Sensibilidad	Prueba de laboratorio
Especificidad	Verdadero negativo *100/verdader		Porcentaje de especificidad	Prueba de laboratorio

	os negativos + falsos positivos			
Valor predictivo positivo	verdaderos positivos*100/ verdaderos positivos + falsos positivos		Porcentaje de Valor predictivo positivo	Prueba de laboratorio
<b>Variables</b>	<b>Criterio</b>	<b>Valor</b>	<b>Indicador</b>	<b>Instrumento</b>
Valor predictivo negativo	verdaderos negativos*100/ verdaderos negativos + falsos negativos		Porcentaje predictivo negativo	Prueba de laboratorio
Concordancia			K=proporción de concordancia observada-proporción de concordancia esperada/1-proporción de	Análisis de los resultados en el informe general. Registro de reportes de resultados.

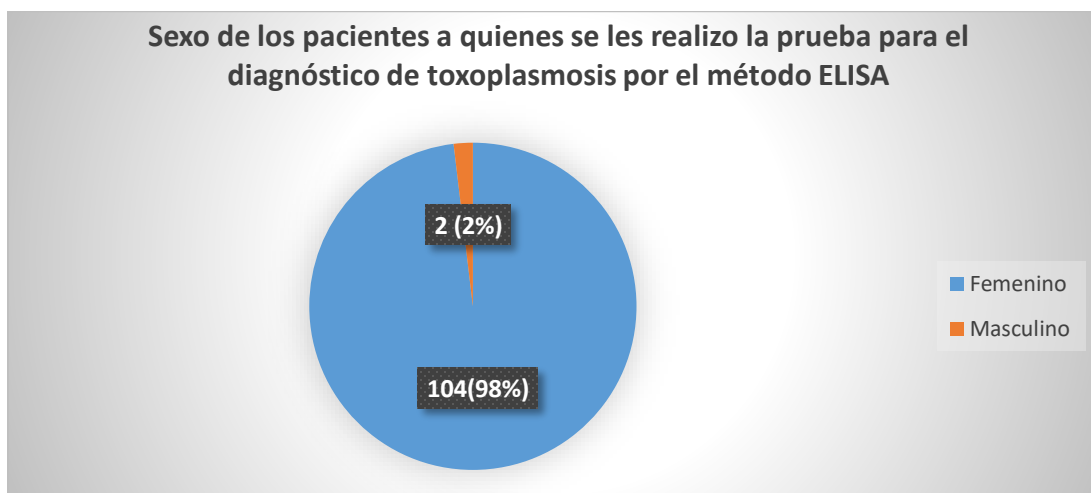
			concordancia esperada	
ELISA	IgG - Positivo - Negativo - Dudoso	- Positivo: >11 UI/mL - Negativo: <9 UI/mL - Indeterminado: 9-11 UI/mL		Reporte de concentraciones obtenidas. Registro de resultados. Análisis de resultados de acuerdo al punto de corte/cut off
ELISA	IgM - Positivo - Negativo - Dudoso	- Positivo: >11 UI/mL - Negativo: <9 UI/mL		Reporte de concentraciones obtenidas. Registro de

		- Indeterminado: 9-11 UI/mL		resultados. Análisis de resultados de acuerdo al punto de corte/cut off
--	--	-----------------------------------	--	--

## Análisis Y Discusión

Se realizó un estudio descriptivo para determinar la frecuencia de Toxoplasmosis, por lo que se analizaron 106 muestras en el Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada en el periodo Septiembre – Octubre del 2022. El diagnóstico de toxoplasmosis es importante para la toma de una decisión al momento de iniciar o no el tratamiento. Los resultados obtenidos por la prueba ELISA (Vircell) para determinar la frecuencia de dicha infección según sexo, fueron 104 pacientes femeninos (98%) y 2 pacientes masculinos (2%). Resultando para ELISA IgG un total 70 (66%) muestras de pacientes positivos y 36 (34%) muestras de pacientes negativos. para IgM 16 (15%) muestras positivas y 90 (85%) muestras negativas.

*Figura 1. Sexo de los pacientes a quienes se les realizo la prueba para el diagnóstico de toxoplasmosis, por el método ELISA.*

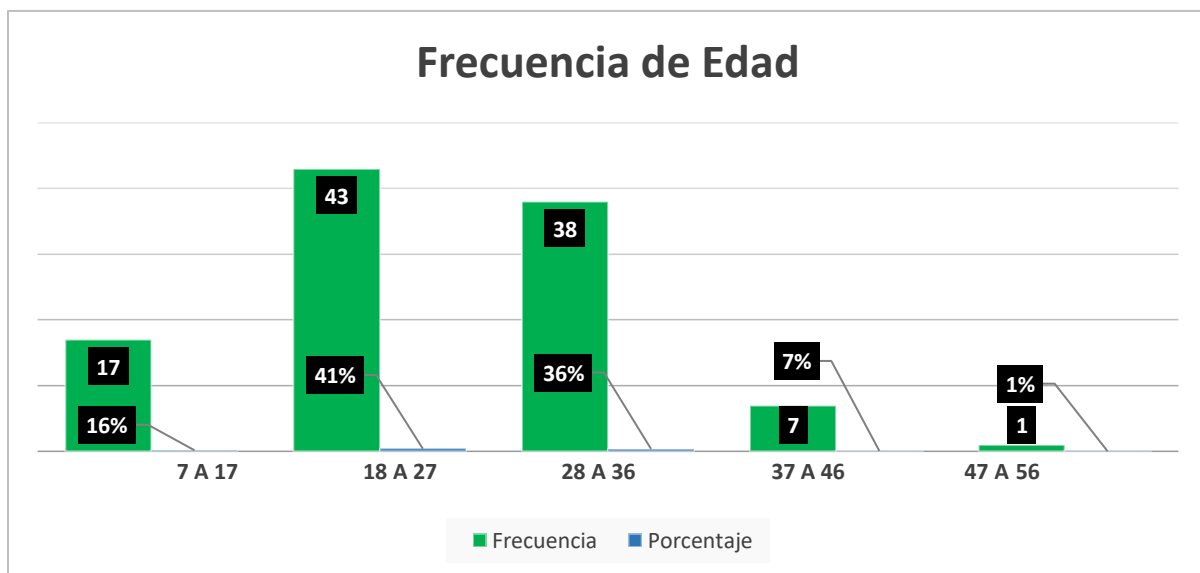


En la mayoría de los casos por infección de toxoplasmosis suelen ser asintomáticos y en aquellas personas que desarrollan síntomas, las consecuencias pueden llegar a ser muy graves. Representando un gran riesgo para la población en general, sobre todo en mujeres gestantes, niños y pacientes inmunodeprimidos. De las 70 muestras positivas para IgG el 98% corresponde al sexo femenino y el 2% al sexo masculino. En el caso de las 36 muestras negativas para IgG, el 98%

fueron pacientes del sexo femenino y el 2% del sexo masculino. Para IgM De las 16 muestras positivas 100% pertenecen al sexo femenino. La incidencia del sexo femenino es debido a que muchas mujeres embarazadas asisten a control prenatal en el laboratorio regional. Cabe recalcar, que las muestras importantes para el estudio son las positivas porque esto indica que el paciente cursa con una infección y este a su vez está desarrollando anticuerpos, lo más importante es que el método pueda detectarlo, para que aquellos pacientes que presenten dichos anticuerpos *anti-Toxoplasma gondii* puedan ser tratados medicamente de ser necesario.

En la figura 1 se muestra la distribución de las muestras de los pacientes en diferentes rangos de edad con el fin de determinar el grupo que predomino con toxoplasmosis. En el gráfico se evidencia que la edad de los pacientes a quienes se les realizó la prueba diagnóstica; corresponden al grupo etario de 56 años con 1%, de 37 a 46 años (7%), de 7 a 17 años con un (16%), le sigue de 28 a 36 años (36%), y por último de 18 a 27 años (41%) siendo este el que predomino con la infección.

Figura 1. Edad de pacientes a quienes se les realizo la prueba diagnóstica para toxoplasmosis por medio del método ELISA.



La tabla 1 muestra los resultados concordantes y discordantes, tanto positivos como negativos, obtenidos por las dos técnicas (ELISA y la prueba Inmunocromatográfica) para IgG. Se obtuvieron 69 sueros positivos y 37 sueros negativos para la prueba ACUTELL y 70 sueros positivos y 36 sueros negativos por la técnica ELISA. Además, una muestra que fue negativa para ACUTELL, fue positiva por la técnica de ELISA.

*Tabla 1. Resultados concordantes y discordantes obtenidos por las técnicas de ELISA y prueba ACUTELL para IgG.*

ELISA IgG	ACUTELL IgG		
	Negativa	Positiva	
Negativa	36	0	36
Positiva	1	69	70
	37	69	
		Total	106

La tabla 2 muestra los resultados concordantes y discordantes, tanto positivos como negativos, obtenidos por las dos técnicas (ELISA y la prueba ACUTELL) para IgM. Se obtuvieron 15 sueros positivos y 91 sueros negativos para la prueba ACUTELL y 16 sueros positivos y 90 sueros negativos por la técnica ELISA. Además, una muestra que fue negativa para ACUTELL, fue positiva por la técnica de ELISA.

*Tabla 2. Resultados concordantes y discordantes obtenidos por las técnicas de ELISA y la prueba ACUTELL para IgM.*

ELISA IgM	ACUTELL IgM		
	Negativa	Positiva	
Negativa	90	0	90
Positiva	1	15	16
	91	15	
		Total	106

En este estudio evaluamos la sensibilidad, especificidad, VPP y VPN para diagnosticar la toxoplasmosis de las pruebas inmunocromatográficas. Los resultados de dicho método fueron



comparados con los resultados del procedimiento de ELISA para toxoplasmosis. Se tomó como muestra 106 pacientes para IgG/IgM.

De las 70 muestras de pacientes IgG por ELISA positivos. 69 fueron positivos por ACUTELL, una muestra resultó ser falsa negativa (con una concentración de 15 UI/mL) y de las muestras de pacientes IgG negativo, 36 fueron por ELISA y 37 fueron negativos para ACUTELL, por lo tanto, se determinó que la prueba ACUTELL frente a ELISA tiene una sensibilidad del 97%, especificidad del 100%, siendo los valores predictivos positivo y negativo 100, 99% respectivamente. Donde hay un 100% de probabilidad de que un resultado positivo por prueba inmunocromatográfica sea positivo por ELISA, vale decir que el 100% de probabilidad de que los pacientes con resultado positivo por prueba inmunocromatográfica estén realmente afectados por la infección; y un 99% de probabilidad de que un resultado negativo por prueba inmunocromatográfica sea negativo por ELISA o dicho de otra manera un 99% de probabilidad de que sujetos con seronegatividad sean realmente seronegativos.

De las 16 muestras de pacientes IgM por ELISA positivos, 15 fueron positivos por ACUTELL, una resultó ser falsa negativa (con una concentración de 11 UI/mL), y de las 90 muestras de pacientes IgM por ELISA negativo, 91 fueron negativos por ACUTELL. Ninguno resulto ser falso positivo. Por lo tanto, se determinó que la prueba ACUTELL frente a ELISA tiene una sensibilidad del 99%, especificidad del 100%, siendo los valores predictivos positivo y negativo 100%, 94% respectivamente. Donde hay un 100% de probabilidad de que un resultado positivo por prueba inmunocromatográfica sea positivo por ELISA, vale decir que el 100% de probabilidad de que individuos con resultado positivo por prueba inmunocromatográfica estén realmente afectados por la infección; y un 100% de probabilidad de que un resultado negativo por prueba inmunocromatográfica sea negativo por ELISA o dicho de otra manera un 100% de

probabilidad de que sujetos con seronegatividad sean realmente seronegativos. Los presentes resultados y su aplicación práctica son significativos por que la prueba inmunocromatográfica es precisa para diagnosticar toxoplasmosis en suero/plasma, en comparación con la prueba ELISA que tienen una sensibilidad y especificidad, consideramos el estándar de oro.

El porcentaje de muestras discordantes en este estudio comparativo se pudo deber a reacciones cruzadas, tales como factor reumatoideo y anticuerpos antinucleares, entre otras. Por su sencillez y bajo costo y alta sensibilidad en la detección de IgG e IgM, la prueba inmunocromatográfica podría recomendarse para el uso en lugares donde no cuente con un equipo ELISA.

Sin embargo, los resultados positivos, deben ser confirmados por otras técnicas de referencia más específicas. La intensidad de la banda en la prueba inmunocromatográfica no tiene una correlación lineal con el título de anticuerpos de la muestra. Un resultado negativo para un sujeto individual no excluye la posibilidad de exposición o infección con *T. gondii*. Y Puede producirse un resultado negativo si la cantidad de anticuerpos contra *T. gondii* presentes en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo, o si los anticuerpos que se detectan no están presentes durante la etapa de la enfermedad en la que se recoge una muestra. Es importante tener presente que no es posible establecer una relación directa entre los títulos de anticuerpos IgG/IgM contra *T. gondii* presentes en una muestra y determinarlos por el método de inmunocromatografía, ya que esta última se limita a la detección cualitativa de los anticuerpos anti *T. gondii* en suero o plasma humano.

En este estudio se realizó un análisis de concordancia entre una prueba comercial ELISA tipo sándwich (Vircell), basado en la reacción de los anticuerpos de la muestra con el antígeno unido a la superficie de poliestireno Prueba Rápida (ACUTELL). Las inmunoglobulinas no unidas

por reacción con el antígeno son eliminadas en el proceso de lavado. En un paso posterior la globulina anti-humana reacciona con el complejo antígeno- anticuerpo, y la que no se une es eliminada por los lavados, la unida reacciona con el sustrato (TMB), para dar una reacción coloreada azul, que cambia a amarillo, tras la adición de una solución de parada. La prueba inmunocromatográfica ACUTELL, es un inmunoensayo de flujo lateral, que consiste en un conjugado de color rojo que contiene antígenos de IgG/IgM *T. gondii* conjugados con oro y una tira de membrana de nitrocelulosa. Este kit está destinado a ser utilizado como prueba de detección y como ayuda en el diagnóstico de infección con *T. gondii*. La prueba comienza con la adición de la muestra en la almohadilla de muestra (*sample pad*) donde es tratada para que sea compatible con el resto del test. La muestra tratada migra desde la almohadilla de muestra, a la almohadilla del conjugado inmovilizado. La muestra vuelve a movilizar el conjugado e interactúa con el analito cuando ambos migran a la siguiente sección de la tira, que es la zona de captura. En la zona de captura se han inmovilizado otros componentes biológicos que se han depositado en líneas específicas de la membrana donde sirven para capturar el analito y el conjugado a medida que migran por las líneas de test (*test line*). Lo podremos detectar de forma visual con la aparición de una banda coloreada. Así mismo, la zona control está formada por un tercer anticuerpo que reconoce al reactivo de detección. Cuando el resto de muestra alcanza esta zona, el anticuerpo se unirá al conjugado libre que no ha quedado retenido en la zona de captura. Esta línea es un control de que el ensayo ha funcionado bien, porque se colorea siempre, independientemente si la muestra es positiva o negativa.

El análisis de la concordancia de los resultados emitidos por ambos métodos para IgG mediante la índice kappa resultó en un valor de 0.97, lo que según la escala de valores para este

índice con un intervalo de confianza del 95% ( $p < 0,005$ ), significa que es una muy buena concordancia.

El análisis de la concordancia de los resultados emitidos por ambos métodos para IgM mediante la índice kappa resultó en un valor de 0.96, lo que según la escala de valores para este índice con un intervalo de confianza del 95% ( $p < 0,005$ ), significa que es una muy buena concordancia.

La tabla 3 muestra la concordancia total al comparar las dos técnicas de diagnóstico. El porcentaje de concordancia de los resultados positivos y negativos para IgG e IgM de las dos técnicas fue de 97% y 96%, respectivamente, y el porcentaje de concordancia total obtenido fue de 96,5%.

*Tabla 3. Porcentaje de concordancia total al comparar las dos técnicas*

<b>Concordancia entre los resultados de ELISA y la prueba ACUTELL</b>	
Concordancia entre los resultados de la IgG	96%
Concordancia entre los resultados de la IgM	97%
Concordancia total	96.5%

Como hallazgos relevantes para el presente estudio se encontró que el porcentaje de concordancia de los resultados positivos y negativos de las dos técnicas para IgG fue de 96% y para IgM fue de 97, respectivamente, y el porcentaje de concordancia total obtenido fue de 96,5%, lo que indica que entre las dos técnicas comparadas existe un excelente índice de concordancia ( $kappa=0.8-1.0$ ), que es un valor de concordancia muy bueno, ya que corrige la concordancia debida solamente a la intervención del azar e incluye el cálculo de la concordancia esperada, que incorpora los valores marginales de cada prueba.

## Conclusiones

El diagnóstico de infección por toxoplasmosis mediante el método ELISA reflejó el predominio del sexo femenino (98 %), y en un menor porcentaje el sexo masculino (2 %). Las edades más expuestas a la infección según el análisis fueron de 18 a 27 años de edad con un 41% y estas pertenecen a la etapa de la adolescencia y juventud.

Al realizar la comparación de la prueba Inmunocromatográfica (ACUTELL) frente a la prueba ELISA (VIRCELL), en el caso de la IgG se obtuvo una sensibilidad de 97 % para detectar a los pacientes enfermos, una especificidad de 100% para detectar a los pacientes sanos, siendo el valor predictivo positivo y valor predictivo negativo 100 y 99 % respectivamente. En el caso de la IgM se obtuvo un 99% de sensibilidad y una especificidad de 100%, en donde el valor predictivo positivo fue de 100%, y el valor predictivo negativo fue del 94% mostrando los valores altos de los indicadores diagnósticos.

Al comparar los dos métodos diagnóstico tanto del ELISA como la prueba Inmunocromatográfica, se comparó la concordancia, obteniendo una muy buena concordancia según el margen de referencia con el 97% para IgG y 96% para IgM. Mostrando una muy buena correlación entre positivos y negativos. La prueba rápida es un método efectivo y viable para la determinación de los dos anticuerpos, por otro lado, esta no refleja las concentraciones de anticuerpos presentes en las muestras de los pacientes, significa que la ELISA tendrá que jugar un papel como prueba confirmatoria en aquellos casos que presenten resultados positivos tanto con IgG como en IgM.

### **Recomendaciones**

En base a los resultados obtenidos y el análisis de esta investigación se recomienda implementar la prueba rápida para la detección de toxoplasmosis en los diferentes Centros o puestos de Salud que no dispongan con los recursos para realizar ELISA dando así un diagnóstico para dicha infección. En aquellas instalaciones como hospitales y puestos regionales utilizar la prueba ELISA como prueba complementaria para la confirmación y conocimiento de las concentraciones de los anticuerpos, en casos que dieran positivo en uno o ambos anticuerpos (IgG/IgM).

## Referencias Y Bibliografía

- A. Ogouyémi-Hounto, F. A.-C.-G. (17 de Marzo de 2014). *Evaluación de una prueba de diagnóstico de la toxoplasmosis en mujeres embarazadas en Cotonou (Bénin)*. Obtenido de Evaluación de una prueba de diagnóstico de la toxoplasmosis en mujeres embarazadas en Cotonou (Bénin): [https:// doi.org/10.1007/s13149-014-0355-8](https://doi.org/10.1007/s13149-014-0355-8)
- Abdel.Malek, R. W. (24 de Noviembre de 2018). *Validez de una prueba Inmunocromatográfica en la detección de Toxoplasma gondii en pacientes con cáncer*. Obtenido de Validez de una prueba Inmunocromatográfica en la detección de Toxoplasma gondii en pacientes con cáncer: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6423148/po=886364>
- Abyntek. (27 de junio de 2019). Tipos de ELISA. España, España.
- AccuBioTech CO., L. (09 de 2020). *ACCTU-TELL®* . Obtenido de Casete de prueba TOXO IgG/IgM rápida (Suero/Plasma).
- Asociación española pediátrica. (Agosto de 2013). *Guía de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica para el diagnóstico y tratamiento de la toxoplasmosis congénita*. doi:<https://www.analesdepediatria.org/es-guia-sociedad-espanola-infectologia-pediatria-articulo-S1695403312005413>
- Becerril, M. (2008). Toxoplasmosis. En *Parasitología médica 4ta edición* . México: McGraw Hill InterAmericana S.A.
- Ben-Abdallah Rym, B. H. (15 de Marzo de 2021). *Revista de análisis de laboratorio clínico* . Obtenido de Contribución del test Toxoplasma ICT IgG IgM en la determinación del estado inmunológico de las gestantes frente a toxoplasmosis: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcla.23749>

Bernal, & Torres. (2006). *Metodología de la Investigación*. México D.F: Person.

BIO-RAD. (s.f.). *Biotechnology explorer*. Recuperado el 16 de Noviembre de 2022, de ELISA

Inmuno explorer kit: <https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lse/literature/4110175.pdf>

Biosalud. (13 de Octubre de 2011). *Alternative ways of toxoplasma gondii transmission*.

Obtenido de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1657-95502011000200012#44](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95502011000200012#44)

Bowie, W., King, A., Werker, D., Renton, D., Bell, A., & Eng, S. (1997). The lancet. En *Brote de toxoplasmosis asociado al agua potable municipal* (págs. 173-177). El equipo de investigación de BC Toxoplasma.

doi:[https://translate.google.com/website?sl=en&tl=es&hl=es-419&prev=search&u=https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(96\)11105-3](https://translate.google.com/website?sl=en&tl=es&hl=es-419&prev=search&u=https://doi.org/10.1016/s0140-6736(96)11105-3)

Canales, F. ..., Alvarado, E., & Pineda, E. (1994). *Manual para el desarrollo del personal de salud*. Organización Panamericana de la Salud.

Cohen, L., Manion, L., & Morrison, L. (2003). *Research methods in education. 5ta ed.* Londres: Routledge Falmer.

Contreras, O. (2013). *técnicas e instrumentos de investigación para la recolección de datos*.

*Aplicados al proyecto de servicios comunitarios*. Obtenido de <http://mscomairametodologiadelainvestigacion.blogspot.com/2013/04/tecnicas-einstrumentos-de.html>



- Correa, D. (2017). Toxoplasmosis. *Ciencia*, 54. Obtenido de [https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/68\\_1/PDF/Toxoplasmosis.pdf](https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/68_1/PDF/Toxoplasmosis.pdf)
- Derouin, F., Leport, C., Pueyo, S., Morlat, P., Letrillart, B., Chene, G., . . . Salamón, R. (2008). *Valor predictivo de los títulos de estudios contra Toxoplasma gondii sobre la aparición de encefalitis toxoplásmica en pacientes tratados por el VIH.*
- Dras. Ocampo, E., Mena, A., & González, C. (2016). *Manual de prácticas de biología molecular II. Cuajimalpa.* Obtenido de <http://www.cua.uam.mx/pdfs/conoce/libroselec/18biologiamolecular2.pdf>
- Drazen Gill, G. K. (2002). Cecill. En *Tratado de Medicina Interna* (pág. 2164). MCGRAW-HILL / INTERAMERICANA DE ESPAÑA. Obtenido de *Tratado de Medicina Interna* .
- Elhence, p., Agarwal, P., Prasad, K., & Chaudary, R. (agosto de 2010). *Seroprevalencia de estudios contra Toxoplasma gondii en donantes de sangre del norte de la India: implicaciones para la toxoplasmosis transmisible por transfusión.* Obtenido de <https://translate.google.com/website?sl=en&tl=es&hl=es-419&prev=search&u=https://doi.org/10.1016/j.transci.2010.05.004>
- Equipos y Laboratorio de Colombia . (s.f.). *Equipos y Laboratorio de Colombia* . Obtenido de <https://www.equiposylaboratorio.com/portal/articulo-ampliado/tecnica-elisa-generalidades#:~:text=Fases%20de%20un%20ensayo%20ELISA%20Las%204%20fases,emplea%20en%20ensayos%20de%20competici%C3%B3n%20de%20ant%C3%ADgeno.%202.>

- Escalantes, H., & Davelois, K. (Perú). *la inmunocromatografía para el diagnóstico de la infección por taenia solium en mesocricetus auratus mediante la detección de coproantígenos\**. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/363/36318402.pdf>
- Etecé. (septiembre de 2013). *Encliclopedia concepto*. Obtenido de Enfoque cuantitativo: <https://concepto.de/metodo-cuantitativo/>
- Fundación para el conocimiento de Madrid. (10 de Junio de 2018). *Pruebas diagnósticas: sensibilidad y especificidad*. Obtenido de Madrid Blogs: <https://www.madrimasd.org/blogs/fisioterapia/2019/01/29/sensibilidad-y-especificidad/>
- Fundación para el conocimiento en Madrid . (10 de Junio de 2018). *Pruebas diagnósticos: valores predictivos* . Obtenido de Madrid, blogs: <https://www.madrimasd.org/blogs/fisioterapia/2019/01/31/valores-predictivos/>
- Gomez, A., Quaranta, A., & Pirota, F. (2013). Toxoplasmosis: sus formas clinicas . *Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina*, 15-17.
- Grandia, R., Angel, E., & Cruz, J. (2013). *Toxoplasmosis en felis catus; etiología, epidemiología y enfermedad*. Peru. Obtenido de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v24n2/a01v24n2.pdf>
- Guzmán-Vazquez. (2004). Las pruebas de Elisa. *Gaceta Médica de México*, México.
- Hernández Àvila, C. (24 de Abril de 2019). *Introducción a los tipos de muestreo*. Obtenido de <https://alerta.salud.gob.sv/introduccion-a-los-tipos-de-muestreo/>
- INSST. (12 de 08 de 2021). *Toxoplasma gondii*. Obtenido de <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/parasitos/toxoplasma-gondii>

- Jaroslav Flerg, J. P. (24 de Marzo de 2014). *Journal Plos.* (I. N. Delmiro Fernández-Reyes, Editor) Obtenido de Toxoplasmosis:  
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0090203>
- Langlas, M., Poulle, M., & Fromont, E. (12 de Octubre de 2011). *Dinámica de transmisión de Toxoplasma gondii a lo largo de un degradado urbano-rural.* Obtenido de  
<https://translate.google.com/website?sl=en&tl=es&hl=es-419&prev=search&u=https://doi.org/10.1016/j.tpb.2010.05.005>
- Lomonte, B. (2009). *Técnicas de laboratorio en inmunología clínica.* Costa Rica .
- Lorena Gribaudo, L. S. (26 de Abril de 2017). *Comparación entre las metodologías para la detección de IgG Anti Toxoplasma gondii en suero.* Obtenido de Comparación entre las metodologías para la detección de IgG Anti Toxoplasma gondii en suero: [https://cobico.com.ar/COM...PDF/COMPARACION ENTRE LAS METODOLOGIAS PARA LA DETECCION DE IGG ANTI TOXOPLASMA GONDII EN SUERO](https://cobico.com.ar/COM...PDF/COMPARACION_ENTRE_LAS_METODOLOGIAS_PARA_LA_DETECCION_DE_IGG_ANTI_TOXOPLASMA_GONDII_EN_SUERO)
- Martín, S. (2016). *Desarrollo y Aplicación de Métodos Quimiométricos para el Estudio de Muestras Mediante Espectroscopia de Ablación Laser (LIBS).* Madrid. Obtenido de <https://eprints.ucm.es/id/eprint/42642/1/T38776.pdf>
- MICROBIOLOGISTS, V. (28 de 06 de 2018). *TOXOPLASMA ELISA IgG.* Obtenido de Prueba inmunoenzimática indirecta para la detección y semicuantificación de anticuerpos IgG frente a *Toxoplasma gondii* en suero/plasma humano, 96 test:  
[https://www.vircell.com/media/INSERTS/TOXOPLASMA%20ELISA%20IgG\\_G1027\\_ES.pdf](https://www.vircell.com/media/INSERTS/TOXOPLASMA%20ELISA%20IgG_G1027_ES.pdf)

- MICROBIOLOGISTS, V. (28 de 06 de 2018). *TOXOPLASMA ELISA IgM*. Obtenido de Prueba inmunoenzimática de captura para determinar anticuerpos IgM frente a *Toxoplasma gondii* en suero/plasma humano. 96 tests:  
[https://www.vircell.com/media/INSERTS/TOXOPLASMA%20ELISA%20IgM%20CAPTURE\\_M1027\\_ES.pdf](https://www.vircell.com/media/INSERTS/TOXOPLASMA%20ELISA%20IgM%20CAPTURE_M1027_ES.pdf)
- Mitamura, K., Shimiz, H., Yamazaki, M., Ichikawa, M. N., Katada, J., Wada, A., . . . Sugaya, N. (2013). *Evaluación clínica de sistemas inmunocromatográficos de amplificación de plata de alta sensibilidad para el diagnóstico rápido de influenza*. Japon.  
doi:<https://translate.google.com/website?sl=en&tl=es&hl=es&prev=search&u=https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.08.018>
- Nigam, A., & Yagari, A. (2007). *Manual de laboratorio en bioquímica, inmunología y biotecnología*. Tata McGraw-Hill Pub.
- O'Connor, T. (2015). Tecnología de ensayo SNAP. En T. O'Connor, *Temas en medicina de animales de compañía* (págs. 132-138). USA.  
doi:<https://translate.google.com/website?sl=en&tl=es&hl=es&prev=search&u=https://doi.org/10.1053/j.tcam.2015.12.002>
- Ochoa, R. (2012). *Técnicas inmunoenzimáticas para ensayos clínicos de vacunas y estudios inmunoepidemiológicos*. La Habana: Finly. Obtenido de  
<https://www.paho.org/cub/dmdocuments/PubFINLAY-LIBROTecInmunoParaEClinVacunas2012.pdf>
- OPS/OMS. (s.f.). Consulta de expertos OPS/OMS sobre la leishmaniosis visceral en las americas . Río de Janeiro: PANAFTOSA.

- Pérez, Á. P. (Abril de 2002). *PARASITOLOGÍA*. Obtenido de Toxoplasmosis:  
<https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-toxoplasmosis-13028954>
- Pérez, E. J., Villada, J. S., Naranjo, O. D., & Castaño, S. V. (13 de Octubre de 2011). *Formas alternas de transmisión de Toxoplasma gondii*. Obtenido de  
<http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v10n2/v10n2a12.pdf>
- Pérez, E., González, V., & Medrano, P. (2012). *Determinación de la presencia de inmunoglobulinas Igg e Igm en infección por toxoplasma gondii en mujeres de 15 a 45 años que consultan la unidad de salud de concepción batres departamento de usulután, periodo de agosto a septiembre de 2012*. Salvador.
- Pub.Med.gov. (11 de Abril de 2008). *Infección por Toxoplasma gondii en humanos y animales en los Estados Unidos*. Obtenido de National library of medicine:  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.03.007>
- QuestionPro. (s.f.). *QuestionPro*. Obtenido de Muestreo por conveniencia :  
<https://www.questionpro.com/blog/es/muestreo-por-conveniencia/>
- Ramírez, A., & Fernández, I. (2011). *Manual de procedimientos de laboratorio Inmunología*. Guatemala. Obtenido de <https://microinmuno.files.wordpress.com/2012/07/manual-de-inmunologia.pdf>
- Rodríguez, M. (2016). *Desarrollo de inmunoensayos de flujo lateral cuantitativos aplicación a la determinación de vesículas extracelulares*. Obtenido de  
[https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/40618/TD\\_myriamoliveira.pdf?sequence=1](https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/40618/TD_myriamoliveira.pdf?sequence=1)

Sampiere, R. (2008). *Metodología de la investigación*. México: Mc Graw Hill Education.

Toledo, Y., Soto, M., Rodríguez, C., Rúa, R., Miranda, Y., & Santana, E. (junio de 2011).

*Comportamiento clínico-epidemiológico de la toxoplasmosis ocular*. Obtenido de

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-21762011000100002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21762011000100002)

Torregroza, E. (2021). *Pruebas diagnósticas: fundamentos de los estudios diagnósticos,*

*evaluación de la validez e interpretación clínica de sus resultados*. Bogotá, Colombia.

Obtenido de

<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:VvQkL93Bs20J:www.scielo.org>

[.co/pdf/rcci/v36n2/2619-6107-rcci-36-02-193.pdf&cd=26&hl=es-419&ct=clnk&gl=ni](http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:VvQkL93Bs20J:www.scielo.org.co/pdf/rcci/v36n2/2619-6107-rcci-36-02-193.pdf&cd=26&hl=es-419&ct=clnk&gl=ni)

# Anexos

anexo 1. Solicitud de aprobación de tema para estudio monográfico al POLISAL e SILAIS Granada



SUBDIRECCIÓN DOCENTE

**"2022: VAMOS POR MAS VICTORIAS EDUCATIVAS"**

Managua, 23 de agosto del 2022.

**Lic. Urania Mercado Mora.**  
**Directora**  
**SIL AIS-Granada**  
**Su Oficina**



Estimada Licenciada Mercado: Reciba abundantes bendiciones.

A través de la presente le remito adjunto, perfil de investigación; con el tema: "Comparación de métodos Diagnósticos para Toxoplasmosis en muestras procesadas en el centro Epidemiológico Intersilais Granada en el periodo septiembre -noviembre del 2022".


Autores:

- Bra. María Fernanda Vega Mejía
- Bra. Gerald Daniel López Gaitán
- Bra. Francis Daniela Gutiérrez González

Con el fin de que se les permita a los estudiantes de la carrera de Bioanálisis Clínico el permiso para ingresar al centro que corresponde para que puedan realizar su estudio.

Agradeciendo su amable atención a la presente, le saludo.

Fraternalmente,

  
**PhD. Zencyda Quiroz Flores**  
**Sub Dirección Docente**



77 19 7761 Tigo  
 Fernanda Vega

**CC: Dra. Rosa Reyes/ Responsable de Docencia**  
**Archivo**  
**ZQF/mar**

¡A LA LIBERTAD POR LA UNIVERSIDAD!

Rotonda Universitaria Rigoberto López Pérez, 150 Metros al Este, Código Postal: 663 - Managua, Nicaragua

Teléfonos 505 22770267 | 22770269





anexo 2. Entrega formal de cajas con las pruebas inmunocromatográfica con la que posteriormente se haría el estudio comparativo.

Granada, 30 de agosto del 2022

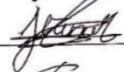
**Lic. María Mercedes Flores Duarte**  
**Directora del Centro Epidemiológico Inter Silais Granada**


Saludos cordiales, por medio de la presente hacemos de su conocimiento que el día de hoy 30 de agosto de 2022, los estudiantes realizan la entrega formal de ocho cajas de pruebas inmunocromatográficas TOXO IgG/IgM, ACCU-TELL, cada caja trae 20 unidades de casete. El laboratorio se hace responsable de su almacenamiento, cabe destacar que su uso y manipulación será estrictamente limitada a la directora del centro e investigadores que llevaran a cabo el estudio.

Sin más que agregar, gracias por su atención.

Atentamente

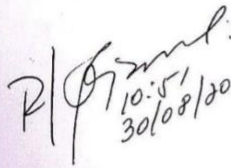
Br. María Fernanda Vega Mejía 

Br. Francis Daniela Gutiérrez González 

Br. Gerald Daniel López Gaitán 

Estudiantes de Bioanálisis Clínico de 5to año en curso del 2022



  
10:51  
30/08/2022

anexo 3. Consentimiento institucional dirigido al Centro Epidemiológico Inter SILAIS Granada ya que se trabajó directo con las muestras de los pacientes, no con los pacientes.

**Centro Epidemiológico Intersilais Granada**  
**CONSENTIMIENTO INSTITUCIONAL**

Por este medio hago constar que apoyamos el estudio investigativo titulado "COMPARACIÓN DE MÉTODOS DIAGNÓSTICOS PARA TOXOPLASMOSIS EN MUESTRAS PROCESADAS EN EL CENTRO EPIDEMIOLÓGICO INTERSILAIS GRANADA EN EL PERIODO SEPTIEMBRE-NOVIEMBRE DEL 2022". Autorizando el ingreso a los Br. María Fernanda Vega Mejía, Br. Gerald Daniel López Gaitán, Br. Francis Daniela Gutiérrez González, para la manipulación y procesamiento de las muestras de los pacientes durante el tiempo estipulado, que serán tres meses para su respectivo muestreo. Los estudiantes se harán responsable de la compra de las pruebas inmunocromatográficas de toxoplasmosis IgG e IgM, haciéndose cargo del control de las mismas, las cuales serán almacenadas en el laboratorio, la institución se hará cargo por los kits de ELISA. Se está de acuerdo de que, este estudio será publicado y puesto en el repositorio de la UNAN-MANAGUA, teniendo presente la confidencialidad de los pacientes, así como los resultados obtenidos, ya que, la información será utilizada para fines investigativos, teniendo presente el beneficio que puede traer esta investigación. Los investigadores se comprometen de manera libre y voluntaria a cumplir con los protocolos y normas de bioseguridad establecidas por la institución, manteniendo el perfil profesional y ético.

Se extiende la presente solicitud de parte de los interesados para los fines que se estime conveniente en la ciudad de Granada, a los Dieciséis días del mes de Agosto de dos mil veintidós.

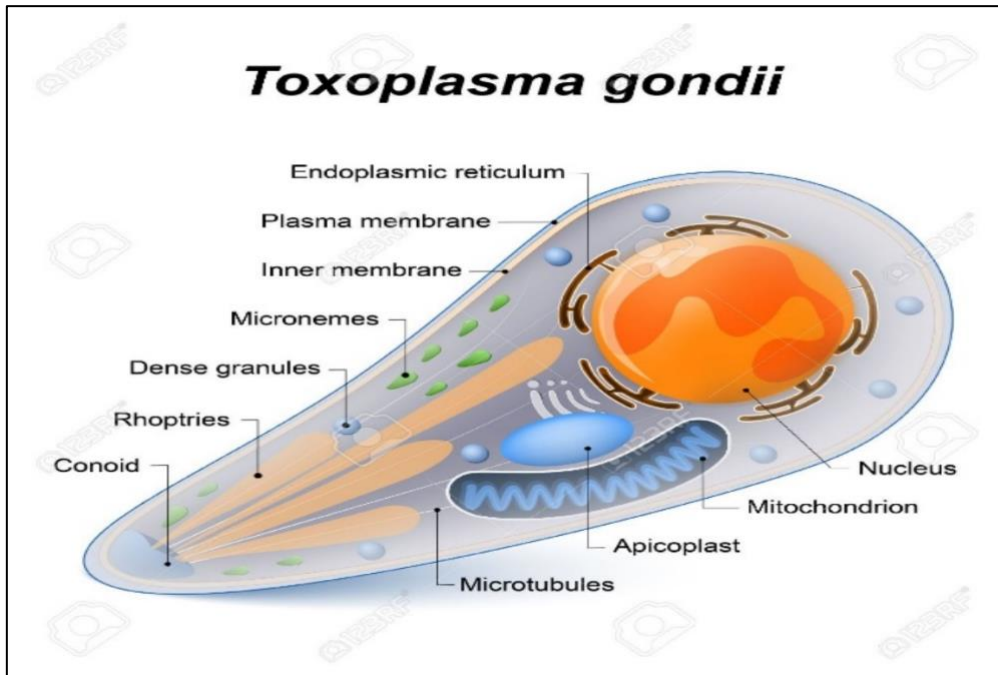
Cordialmente.

  
**Lic. María Mercedes Flores Duarte**  
**Directora del Centro Epidemiológico Intersilais Granada**

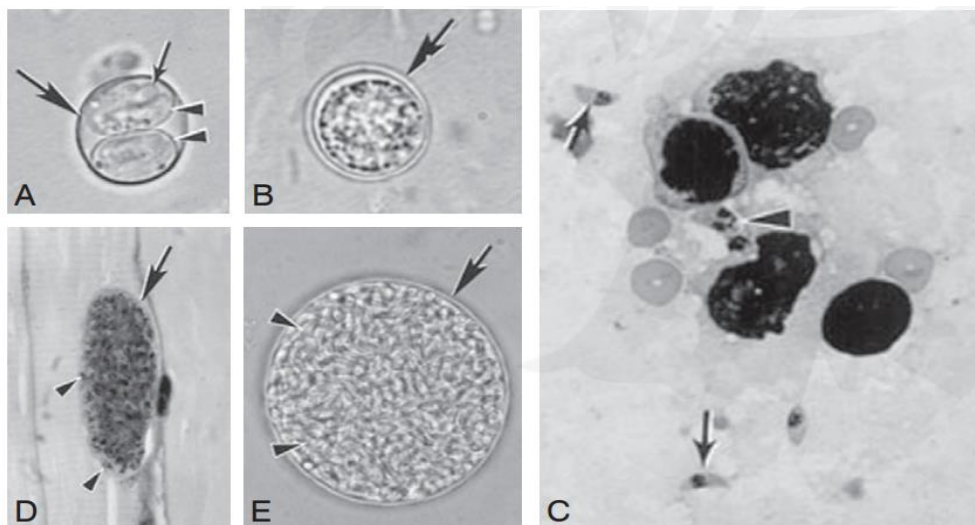




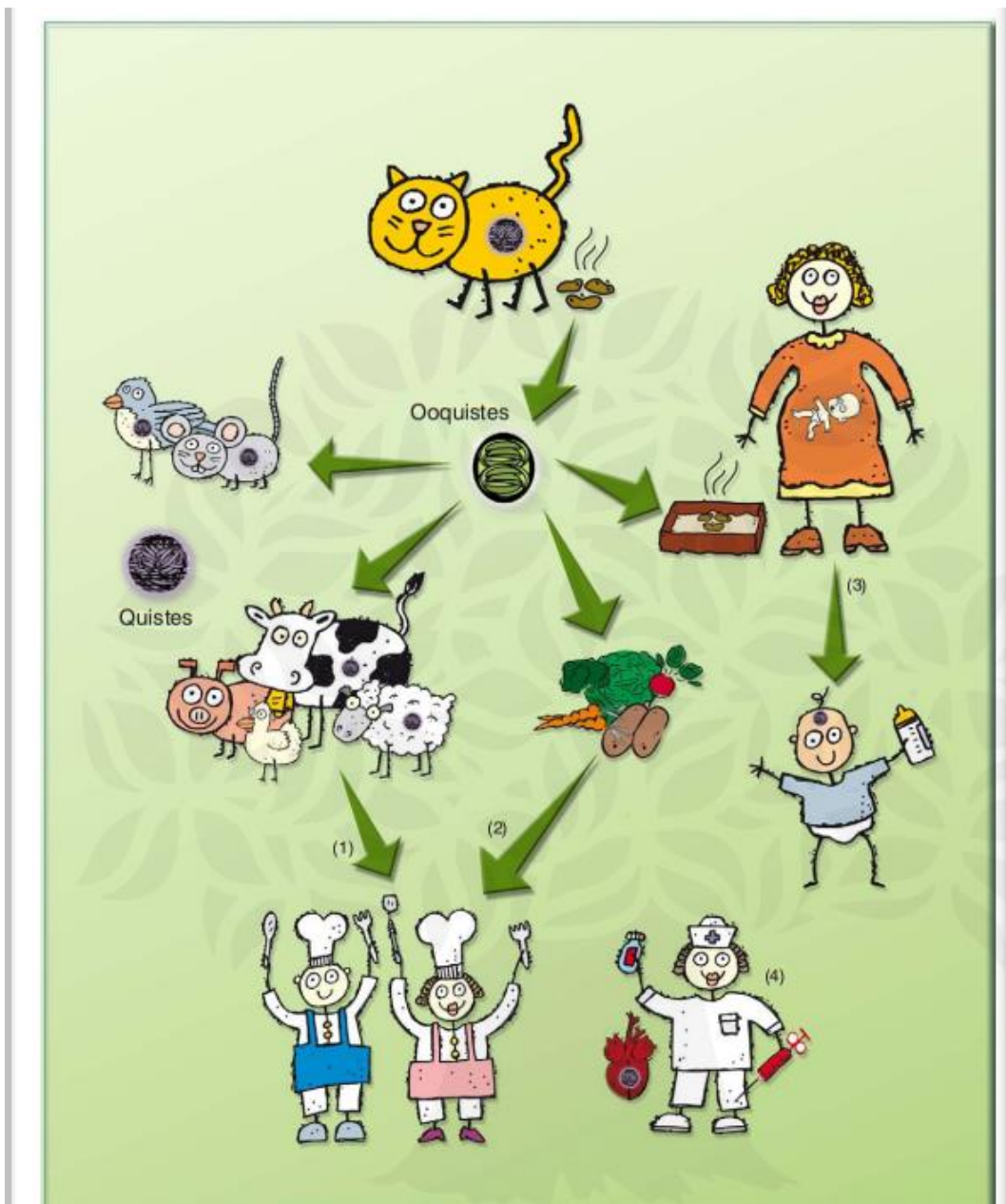
Anexo 5. Estructura del parásito *Toxoplasma gondii*; Es un protozoo que mide 4 a 8  $\mu\text{m}$  de largo por 2 a 4  $\mu\text{m}$  de ancho, tiene forma de media luna con un extremo aguzado y el otro romo. No presentan cilios, flagelos ni pseudopodios, En el extremo anterior presenta la estructura típica de los que pertenecen al Phylum Apicomplexa, denominada "complejo apical", constituida por un anillo polar, roptrías y micronemas. Cercano al anillo polar, se encuentra el conoide de 0,2  $\mu\text{m}$  de diámetro, desde donde se desprenden 5 a 18 estructuras cilíndricas que pueden llegar hasta el núcleo o hasta el extremo posterior del parásito. Su núcleo es vesicular y central y mide 1 a 1,5  $\mu\text{m}$  de diámetro. El citoplasma es vacuolar y contiene el aparato de Golgi, numerosos ribosomas, retículo endoplásmico rugoso y mitocondrias Tomado de medicina de monografías veterinarias.



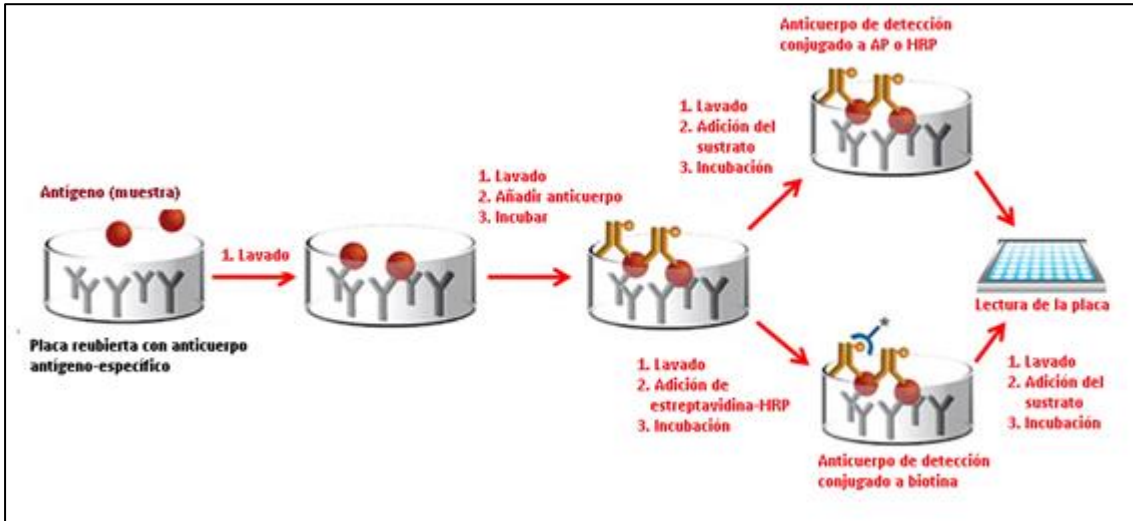
Anexo 6. Formas del *Toxoplasma gondii*. A: ooquiste esporulado (maduro) con una pared delgada que contiene 2 esporoquistes, cada uno con 4 esporozoitos; B: ooquiste no esporulado con pared doble que es excretado en la materia fecal del gato infectado; C: taquizoitos en tejido pulmonar con forma de luna creciente; D: quiste tisular en un corte de músculo que contiene bradizoitos; E: quiste tisular proveniente de cerebro infectado con cientos de bradizoitos. Tomado de programa de educación médica y certificada, universidad de Antioquía.



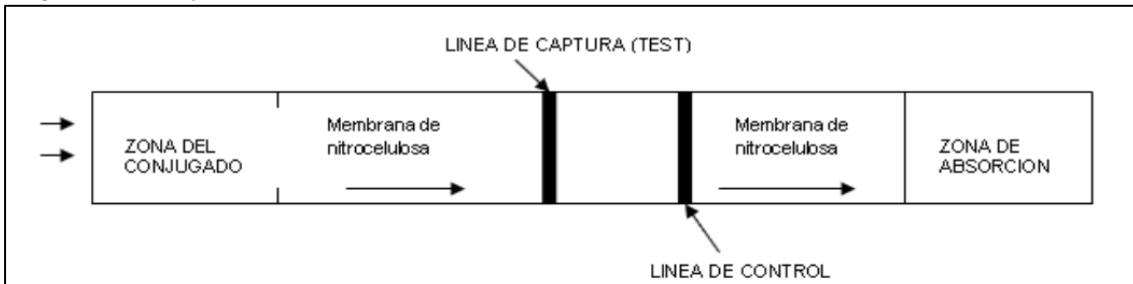
Anexo 7. Ciclo de vida del parásito *Toxoplasma gondii*, i. Los felinos son los únicos hospederos conocidos de la fase sexual del *T. gondii* y por lo tanto son el principal reservorio del parásito. Los gatos se infectan con *T. gondii* al ingerir animales contaminados con quistes tisulares que contienen bradizoitos, o al ingerir alimentos o agua contaminados con ooquistes. Después de que el gato los ingiere, se liberan parásitos que invaden las células epiteliales del intestino delgado, los cuales inician una fase asexual seguida de una sexual para formar ooquistes que serán excretados en la materia fecal. Los ooquistes no esporulados (no infecciosos) son excretados durante unos días y tardan varios días en volverse infecciosos. El hombre puede adquirir la infección por varias vías: (1) por la ingestión de carne mal cocida contaminada con quistes de *T. gondii*; (2) por la ingestión de ooquistes a través de alimentos contaminados; (3) por transmisión placentaria de la madre al hijo; y (4) por trasplante de órganos o sangre infectada con quistes tisulares o taquizoitos, respectivamente. Los parásitos forman los quistes tisulares, usualmente en el músculo esquelético o miocárdico y en el cerebro; estos quistes permanecen allí durante la vida del hospedero. Ante una inmunosupresión grave, los bradizoitos en el interior de los quistes pueden convertirse en taquizoitos e inducir una reactivación de la toxoplasmosis. Tomado de programa de educación médica certificada. Universidad de Antioquía.



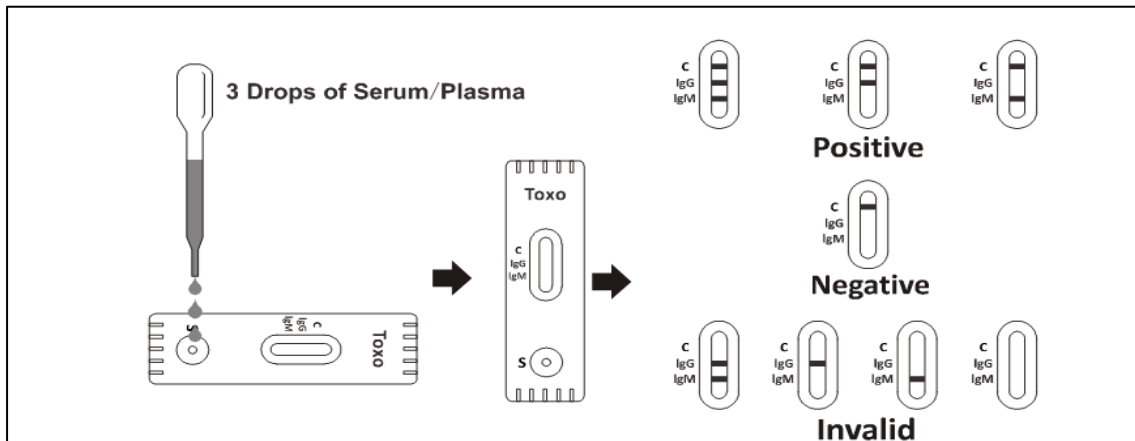
Anexo 8. Esquema simplificado de un ensayo ELISA tipo Sandwich



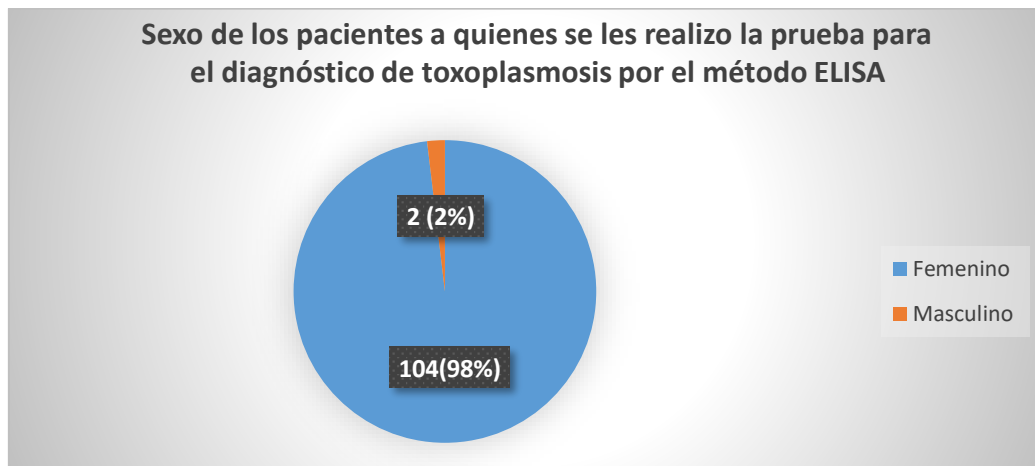
Anexo 9. . Esquema general de los principales componentes de una tira inmunocromatográfica para la detección de antígeno o anticuerpo en la muestra estudiada



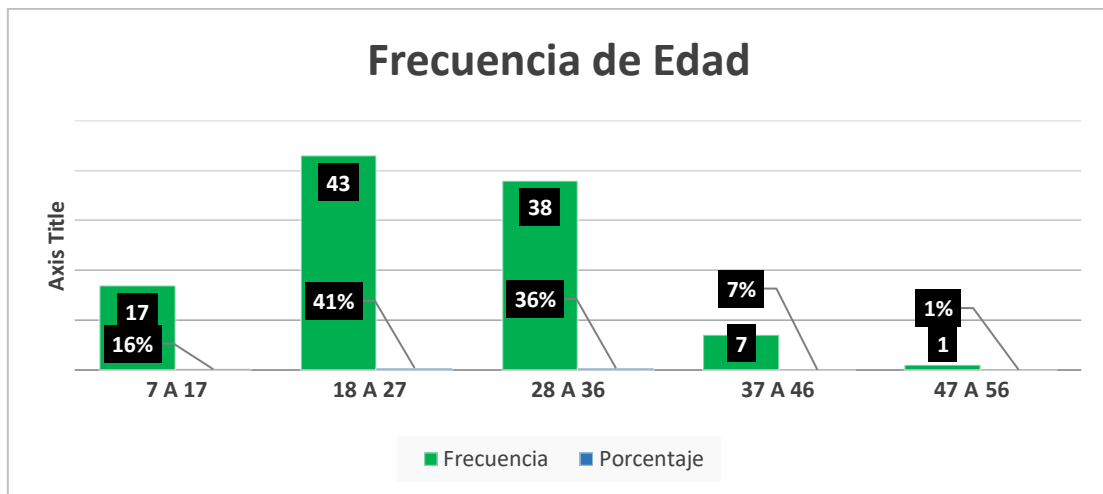
Anexo 10. Procedimiento e interpretación de resultados de la prueba rápida para diagnóstico de toxoplasmosis IgG/IgM en ACUTELL. POSITIVO: \* Aparecen dos o tres líneas. Una línea de color siempre debe aparecer en el área de la línea de control (C) y otra o dos líneas de color aparentes deben estar en la(s) área(s) de la línea de prueba (IgM y/o IgG). IgM Positivo: Junto con la línea en el área de control (C), aparece una línea en el área IgM. Indica un resultado de prueba positivo para anticuerpos de Toxoplasma. IgG Positivo: Junto con la línea en el área de control (C), aparece una línea en el área IgG. Indica un resultado de prueba positivo para anticuerpos de Toxoplasma. \*NOTA: La intensidad del color en las áreas de la línea de prueba (IgM e IgG) puede variar dependiendo de la concentración de anticuerpos de Toxoplasma presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en el área de la línea de prueba (IgM y/o IgG) debe considerarse positivo. NEGATIVO: Una línea de color aparece en el área de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en las áreas de la línea de prueba (IgM e IgG). INVÁLIDO: No aparece la línea de control. Volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con una nueva prueba. Si el problema persiste, suspenda el uso del kit de prueba inmediatamente y contacte a su distribuidor local.



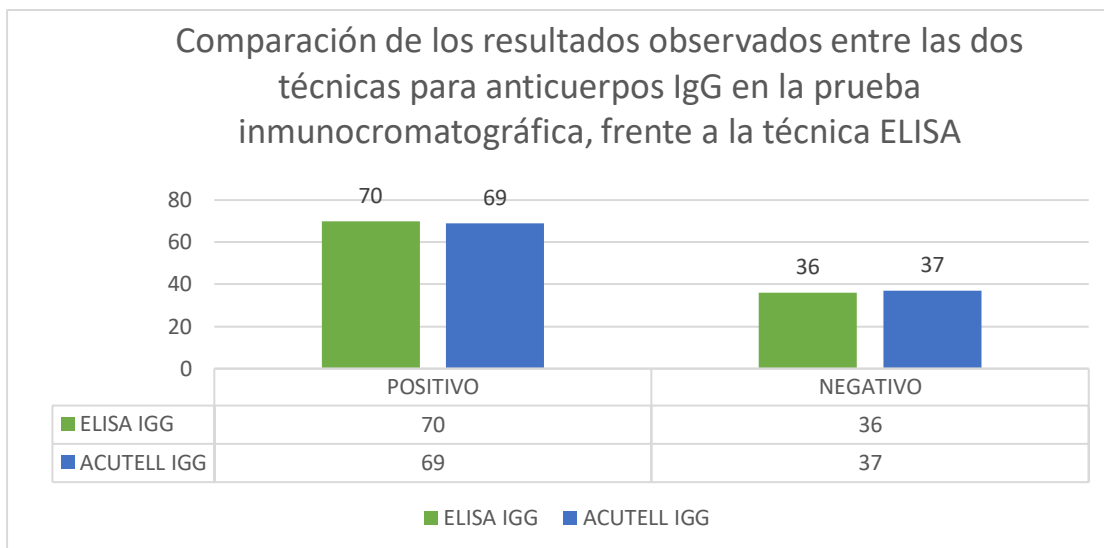
anexo 11. Sexo de los pacientes a quienes se les realizo la prueba para el diagnóstico de Toxoplasma gondii, por el método ELISA.



Anexo 12. Edad de pacientes a quienes se les realizo la prueba diagnóstica para *Toxoplasma gondii* por medio del método ELISA.



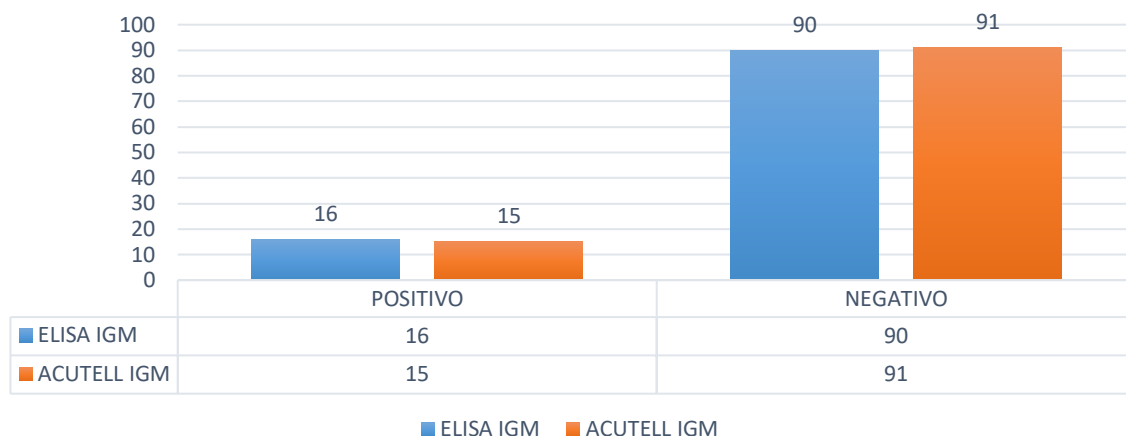
Anexo 13. Comparación de los resultados observados entre las dos técnicas para anticuerpos IgG en la prueba inmunocromatográfica, frente a la técnica ELISA.



Anexo 14. Comparación de los resultados observados entre las dos técnicas para anticuerpos IgM en la prueba inmunocromatográfica, frente a la técnica ELISA.



## Comparación de los resultados observados entre las dos técnicas para anticuerpos IgM en la prueba inmunocromatográfica, frente a la técnica ELISA



Anexo 15. Resultados concordantes y discordantes obtenidos por las técnicas de ELISA y prueba ACUTELL para IgG. La tabla 1 muestra los resultados concordantes y discordantes, tanto positivos como negativos, obtenidos por las dos técnicas (ELISA y la prueba Inmunocromatográfica) para IgG. Se obtuvieron 69 sueros positivos y 37 sueros negativos para la prueba ACUTELL y 70 sueros positivos y 36 sueros negativos por la técnica ELISA. Además, una muestra que fue negativa para ACUTELL, fue positiva por la técnica de ELISA.

ELISA IgG	ACUTELL IgG		
	Negativa	Positiva	
Negativa	36	0	36
Positiva	1	69	70
	37	69	
		Total	106

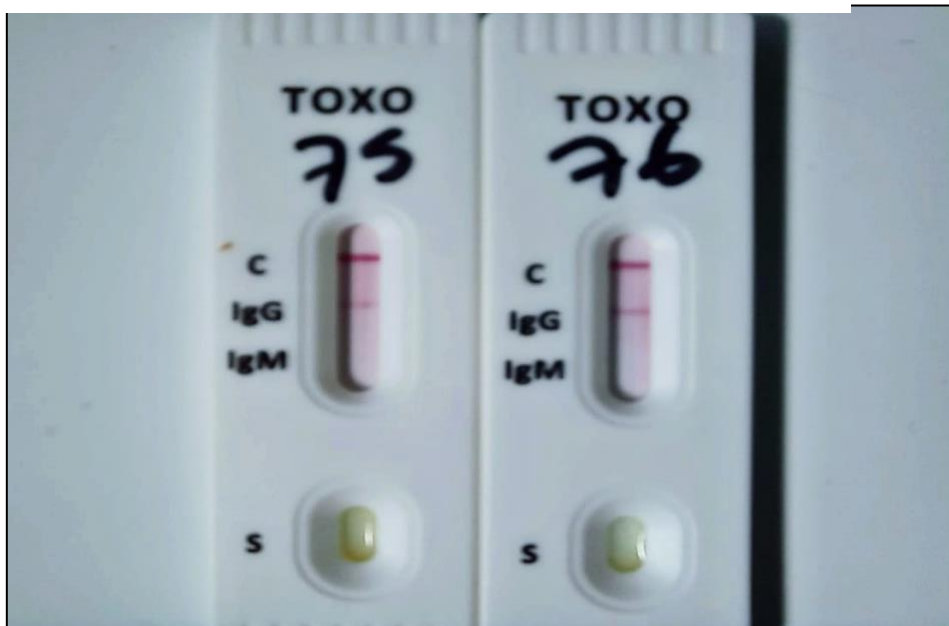
Anexo 16. Resultados concordantes y discordantes obtenidos por las técnicas de ELISA y la prueba ACUTELL para IgM. La tabla muestra los resultados concordantes y discordantes, tanto positivos como negativos, obtenidos por las dos técnicas (ELISA y la prueba ACUTELL) para IgM. Se obtuvieron 15 sueros positivos y 91 sueros negativos para la prueba ACUTELL y 16 sueros positivos y 90 sueros negativos por la técnica ELISA. Además, una muestra que fue negativa para ACUTELL, fue positiva por la técnica de ELISA.

ELISA IgM	ACUTELL IgM		
	Negativa	Positiva	
Negativa	90	0	90
Positiva	1	15	16
	91	15	
		Total	106

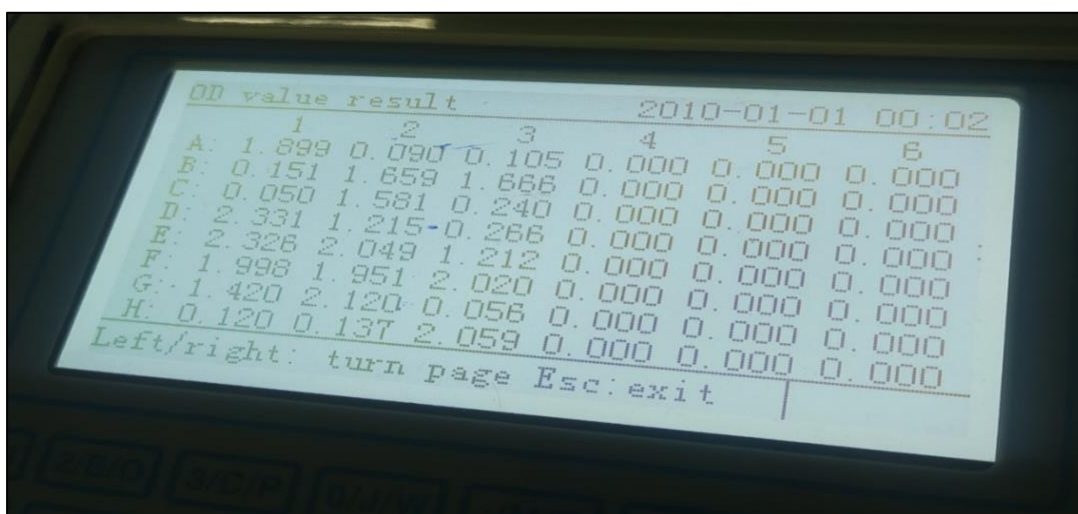
Anexo 17. Porcentaje de concordancia total al comparar las dos técnicas. La tabla 3 muestra la concordancia total al comparar las dos técnicas de diagnóstico. El porcentaje de concordancia de los resultados positivos y negativos para IgG e IgM de las dos técnicas fue de 97% y 96%, respectivamente, y el porcentaje de concordancia total obtenido fue de 96,5%.

Concordancia entre los resultados de ELISA y la prueba ACUTELL	
Concordancia entre los resultados de la IgG	96%
Concordancia entre los resultados de la IgM	97%
Concordancia total	96.5%

Anexo 18. Resultado de la prueba rápida Accutell positiva para IgG



Anexo 19. Lectura de la absorbancia de la técnica ELISA para el diagnóstico de la toxoplasmosis.



Anexo 20. Resultados de pruebas rápida Accutell donde 2 están positivas para IgG y 2 negativas para IgG/IgM



Anexo 21. Resultados positivos para IgG/IgM en la prueba rápida ACUTELL (cassette 23)



*anexo 22. Entrega formal de las pruebas rápidas Accutell, a la licenciada encargada del área clínica en el Centro epidemiológico Inter Silais Granada*



*anexo 23. Prueba rápida Accutell IgG/IgM para Toxoplasma gondii*



*anexo 24. Reactivos de ELISA marca Vircell IgG/IgM*



Anexo 25. Montaje de pruebas rápidas ACUTELL IgG/ IgM



Anexo 26. Adición de muestras a los micropocillos de ELISA



Anexo 27. Anotaciones de las absorbancias de ELISA, para posteriormente convertirlas a concentraciones en UI/mL



Anexo 28. Tabla detallada de edades de los pacientes que se les realizo la prueba para diagnóstico de toxoplasmosis.

<b>Edad</b>				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
7	1	,9	,9	,9
14	4	3,8	3,8	4,7
15	7	6,6	6,6	11,3
16	5	4,7	4,7	16,0
17	4	3,8	3,8	19,8
18	2	1,9	1,9	21,7
19	4	3,8	3,8	25,5
20	7	6,6	6,6	32,1
21	5	4,7	4,7	36,8
22	7	6,6	6,6	43,4
23	2	1,9	1,9	45,3
24	5	4,7	4,7	50,0
25	2	1,9	1,9	51,9
26	5	4,7	4,7	56,6
27	2	1,9	1,9	58,5
28	8	7,5	7,5	66,0
29	5	4,7	4,7	70,8
30	6	5,7	5,7	76,4
31	3	2,8	2,8	79,2
32	3	2,8	2,8	82,1
33	3	2,8	2,8	84,9
34	2	1,9	1,9	86,8
35	3	2,8	2,8	89,6
36	3	2,8	2,8	92,5
37	2	1,9	1,9	94,3
39	4	3,8	3,8	98,1
40	1	,9	,9	99,1
56	1	,9	,9	100,0
Total	106	100,0	100,0	



## TOXOPLASMA ELISA IgM CAPTURE

### Producto para diagnóstico *in vitro*

**M1027:** Prueba inmunoenzimática de captura para determinar anticuerpos IgM frente a *Toxoplasma gondii* en suero/plasma humano. 96 tests.

#### INTRODUCCIÓN:

*Toxoplasma gondii* es un protozoo parásito intracelular obligado de distribución mundial. Los humanos pueden adquirir la infección por ingestión de ooquistes desde las heces de gato, o por ingestión de carne infectada, o bien por infección intrauterina, transfusión o trasplante de órganos. Aunque la mayor parte de las infecciones son asintomáticas, la enfermedad puede ser grave en inmunodeprimidos o en la infección congénita. En mujeres infectadas durante el primer trimestre del embarazo puede dar lugar a aborto espontáneo o provocar en el feto hidrocefalia. Cuando la enfermedad se adquiere más tarde en el embarazo la afección del feto suele ser menos importante.

Los anticuerpos IgM aparecen a los 5 días después de la infección y caen a niveles bajos o indetectables en semanas o meses en la mayor parte de los enfermos. Los anticuerpos IgG aparecen semanas después de la infección y persisten el resto de la vida.

#### FUNDAMENTO 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.

#### CARACTERÍSTICAS:

Todos los reactivos a excepción de la solución de lavado y el conjugado vienen listos para su uso.

Las soluciones de dilución de muestras están coloreadas como ayuda a la realización de la técnica.

No se precisa dilución previa de la muestra.

Los pocillos son individuales, por lo que solo se consumen tantos pocillos como pruebas se van a realizar.

#### CONTENIDO DEL KIT:

- 1 VIRCELL IgM CAPTURE PLATE: 1 placa con 96 pocillos recubiertos con anticuerpo anti-IgM ( $\mu$  específico).
- 2 VIRCELL SERUM DILUENT: 25 ml de diluyente para sueros: tampón fosfatos con estabilizante de proteínas, con Neolone y Bronidox y coloreado de azul. Listo para su uso.
- 3 VIRCELL IgM POSITIVE CONTROL: 1,5 ml de control positivo con Neolone y Bronidox. Listo para su uso.
- 4 VIRCELL IgM CUT OFF CONTROL: 1,5 ml de cut off con Neolone y Bronidox. Listo para su uso.
- 5 VIRCELL IgM NEGATIVE CONTROL: 1,5 ml de control negativo con Neolone y Bronidox. Listo para su uso.

6 VIRCELL TOXOPLASMA CONJUGATE: 5 viales de antígeno de *T. gondii* marcado con peroxidasa, liofilizado.

7 VIRCELL TMB SUBSTRATE SOLUTION: 15 ml de solución de sustrato: tetrametilbenzidina (TMB). Listo para su uso.

8 VIRCELL STOP REAGENT: 15 ml de solución de parada: ácido sulfúrico 0,5 M.

9 VIRCELL WASH BUFFER: 50 ml de solución de lavado (concentrado 20x): tampón fosfatos con Tween<sup>R</sup>-20 y con Proclin 300.

10 VIRCELL TOXOPLASMA RECONSTITUTION SOLUTION: 17 ml de solución tamponada para la reconstitución del conjugado liofilizado. Contiene Neolone y Bronidox.

**Conservar entre 2 y 8°C y comprobar la fecha de caducidad.**

#### Material necesario no contenido en el kit:

- Pipeta de precisión para dispensar 5 y 100  $\mu$ l.
- Pipeta multicanal de precisión para dispensar 100  $\mu$ l.
- Lavador de placas de ELISA.
- Incubador/baño termostatzado.
- Espectrofotómetro de placas de ELISA con filtro de 450 nm y filtro de referencia de 620 nm.
- Agua destilada.
- Alternativamente procesador automático de ELISA.

#### CONSERVACIÓN:

Conservar entre 2 y 8°C. No utilizar los componentes del kit después de la fecha de caducidad. La caducidad indicada será válida siempre que los componentes se mantengan cerrados y conservados entre 2 y 8°C.

#### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS COMPONENTES UNA VEZ ABIERTOS:

Componente	Estabilidad
Solución de lavado diluida (1x)	4 meses a 2-8°C
Conjugado reconstituido	1 mes a 2-8°C
Resto de componentes	Fecha indicada en envase a 2-8°C

#### ESTABILIDAD Y USO DE LOS REACTIVOS:

Usar todos los reactivos en condiciones asépticas para evitar contaminaciones microbianas.

No permitir el secado de la placa entre los lavados y la adición de los reactivos.

La solución de sustrato es fotosensible. Evitar la exposición directa a la luz y desechar si presenta coloración azul. La solución de sustrato no debe entrar en contacto con oxidantes como soluciones de hipoclorito ni con algunos metales. Evitar el contacto con partes metálicas o componentes metálicos de equipos o instrumentos sin antes haber comprobado su compatibilidad.

Utilizar solo la cantidad de solución de lavado, sustrato, diluyente de sueros y conjugado necesarias para la realización de la prueba. No devolver a los viales el exceso sobrante.

VIRCELL, S.L. no se responsabiliza de la inadecuada utilización de los reactivos contenidos en el kit.

#### RECOMENDACIONES Y PRECAUCIONES:

1. Este producto es solo para diagnóstico *in vitro* y está destinado al uso por personal sanitario cualificado.
2. Usar solo componentes del kit. No mezclar los componentes de diferentes kits o fabricantes. Solo las soluciones de lavado,



sustrato, parada y diluyente de sueros son compatibles con los equivalentes en otras referencias y lotes de ELISA CAPTURA VIRCELL.

3. Utilizar puntas de pipeta diferentes y limpias para cada fase del ensayo. Utilizar solo material limpio y preferentemente desechable.

4. No utilizar en caso de deterioro del envase.

5. No pipetear con la boca.

6. El diluyente para sueros, placa, conjugado, solución de reconstitución y controles de este equipo contienen material de origen animal. Los controles contienen además material de origen humano. Aunque los sueros control del equipo son sometidos a controles de ausencia de HBsAg y anticuerpos frente a VIH y de Hepatitis C, es necesario manejar los controles y muestras del paciente como potencialmente patógenos. El conjugado contiene antígeno inactivado, no obstante, debe manejarse con precaución. Ningún método actual puede asegurar por completo la ausencia de éstos u otros agentes infecciosos. Todo el material debe ser manipulado y desechado como potencialmente infeccioso. Observe la regulación local en materia de residuos clínicos.

7. Evitar el contacto de la solución de parada (ácido sulfúrico 0,5 M) con la piel o los ojos. En caso de contacto, lavar la zona inmediatamente con agua.

8. Proclin 300 está incluido como conservante en la solución de lavado. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. En caso de contacto con la piel lavar con agua y jabón abundantes. Para más información, solicite la hoja de seguridad del producto.

#### TOMA DE MUESTRA:

La sangre debe extraerse en condiciones asépticas mediante técnicas de venipuntura por personal experimentado. Se recomienda el uso de técnicas asépticas o estériles para evitar la contaminación de la muestra. Los sueros/plasmas deben mantenerse refrigerados entre 2 y 8°C si se van a procesar dentro de los 7 días siguientes a la toma, pero si el procesamiento se va a prolongar deben congelarse a -20°C, evitando las congelaciones y descongelaciones innecesarias. No utilizar muestras hiperlipémicas, hemolizadas o contaminadas. Las muestras que presenten partículas pueden ser clarificadas por centrifugación. Pueden utilizarse muestras de suero o plasma indistintamente.

#### PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS:

La solución de lavado es necesario prepararla con antelación a la realización de la prueba. Para ello completar hasta 1 litro con agua destilada un vial de 50 ml de solución de lavado concentrada (20x). Si aparecen cristales durante la conservación de la solución concentrada, calentar a 37°C antes de diluirlo. Una vez preparada conservar entre 2 y 8°C.

La solución de conjugado debe ser preparada al menos una hora antes de ser usada. Añadir 3 ml de solución de reconstitución [10] a un vial de conjugado liofilizado [6]. Dejar durante un minuto para permitir la rehidratación y mezclar vigorosamente mediante vortex. El conjugado reconstituido puede ser usado durante un mes si es almacenado entre 2-8°C.

#### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO:

1. Ajustar una estufa/baño de agua a 37±1°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 muestras 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 µl de diluyente de muestras [2] a todos los pocillos que se vayan a emplear, excepto a los de los controles. Añadir 5 µl de las muestras, 100 µl del control positivo [3], 100 µl del suero cut off [4] (en duplicado) y 100 µl del control negativo [5] en los pocillos correspondientes.

6. Tapar mediante lámina adhesiva e incubar en estufa/baño durante 60 minutos a 37±1°C.

7. Preparar la solución de conjugado según se indica en "Preparación de los reactivos".

8. Retirar la lámina adhesiva, aspirar el contenido de todos los pocillos y lavar cada uno de ellos 5 veces con 0,3 ml de solución de lavado [6], asegurándose que no quedan restos de solución de lavado.

9. Añadir inmediatamente 100 µl de conjugado reconstituido (preparado anteriormente) a todos los pocillos.

10. Tapar mediante lámina adhesiva e incubar en estufa/baño durante 60 minutos a 37±1°C.

11. Retirar la lámina adhesiva, aspirar el contenido de todos los pocillos y lavar cada uno de ellos 5 veces con 0,3 ml de solución de lavado [6], asegurándose que no quedan restos de solución de lavado.

12. Añadir inmediatamente 100 µl de solución de sustrato [7] a todos los pocillos.

13. Incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos, en la oscuridad.

14. Añadir inmediatamente 50 µl de solución de parada [8] a todos los pocillos.

15. Valorar espectrofotométricamente a 450/620 nm, antes de 1 hora de acabado el ensayo.

#### 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	D.O.
Control positivo	>0,9
Control negativo	<0,5
Control cut off	>0,55
	<1,5



**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:**

Calcular la media de las D.O. del suero cut off.

**Índice de anticuerpos=(D.O. de la muestra / media de D.O. del suero cut off) x 10**

Índice	Interpretación
<9	Negativo
9-11	Dudoso
>11	Positivo

Las muestras con resultados dudosos deben ser vueltas a analizar y/o solicitar una nueva muestra para confirmación de los resultados.

Las muestras con índices inferiores a 9 se considera que no tienen anticuerpos específicos frente a *T. gondii* de tipo IgM. Las muestras con índices superiores a 11 se considera que tienen anticuerpos específicos frente a *T. gondii* de tipo IgM.

**LIMITACIONES DEL MÉTODO:**

- Este método está diseñado para ser utilizado con suero/plasma humano.
- El uso de este kit requiere la cuidadosa lectura y comprensión del folleto de instrucciones. Es necesario seguir estrictamente el protocolo para obtener resultados fiables, en particular el correcto pipeteo de muestras y reactivos, lavados y tiempos de incubación.
- Los resultados de las muestras deben ser valorados junto con la sintomatología clínica y otros procedimientos diagnósticos. El diagnóstico definitivo debe realizarse mediante técnicas de aislamiento.
- El test no indica el lugar de la infección. No pretende sustituir al aislamiento.
- La ausencia de un aumento significativo en el nivel de anticuerpos no excluye la posibilidad de infección.
- Una respuesta IgM puede acompañar algunas veces a una reinfección.
- En ocasiones niveles bajos de IgM podrían persistir durante más de 12 meses post-infección.
- En pacientes inmunosuprimidos una respuesta negativa no excluye la presencia de infección. Se han descrito casos de reactivación de *T. gondii* adquirida en infecciones pasadas en estos pacientes.
- La reactivación de infecciones latentes puede no dar una respuesta de anticuerpos IgM.
- Los resultados de prestaciones incluidos corresponden a estudios comparativos con equipos de referencia comerciales en una muestra poblacional definida. Pueden encontrarse pequeñas variaciones en poblaciones diferentes o con equipos de referencia distintos.

**PRESTACIONES:****• SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD:****TEST 1**

Se ensayaron 109 muestras de suero/plasma con TOXOPLASMA ELISA IgM CAPTURE frente a otro kit ELISA comercial. Se obtuvieron los siguientes resultados:

	Nº muestras	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
<b>IgM</b>	109	100	97
<b>95% C.I.</b>		92-100	88-99

C.I. Intervalo de confianza

Los valores indeterminados fueron excluidos de los cálculos finales.

Los resultados discrepantes se resolvieron mediante otro kit ELISA comercial.

**TEST 2**

Se ensayaron 84 muestras de suero/plasma con TOXOPLASMA ELISA IgM CAPTURE frente a otros kit ELISA comerciales. Se obtuvieron los siguientes resultados frente al consenso:

	Nº muestras	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
<b>IgM</b>	84	98	100
<b>95% C.I.</b>			

C.I. Intervalo de confianza

Los valores indeterminados fueron excluidos de los cálculos finales.

**• PRECISIÓN INTRAENSAYO:**

Se ensayaron 3 sueros pipeteados individualmente 10 veces cada uno en un único ensayo realizado por el mismo operador en condiciones de trabajo idénticas, obteniendo los resultados:

Suero	N	% C.V.
CP	10	2,39
CN	10	11,82
CO	10	2,88

C.V. Coeficiente de variación

**• PRECISIÓN INTERENSAYO:**

Se ensayaron 3 sueros pipeteados individualmente durante 5 días consecutivos y por 2 operadores diferentes, obteniendo los siguientes resultados:

Suero	N	% C.V.
CP	10	2,62
CN	10	9,32
CO	10	3,70

C.V. Coeficiente de variación

**• REACCIÓN CRUZADA E INTERFERENCIAS:**

Se ensayaron 8 muestras caracterizadas positivas frente a otros miembros del grupo sindrómico (virus Epstein-Barr, citomegalovirus (CMV), rubeola) y otros protozoos (Leishmania). Se realizó un ensayo IgM a 2 muestras caracterizadas positivas frente a factor reumatoide.

Las muestras ensayadas dieron resultados negativos, demostrando la reacción específica del ensayo sin reacción cruzada o interferencias ocasionadas por los agentes descritos.

**SÍMBOLOS UTILIZADOS EN EL PRODUCTO:**

	Producto para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Fecha de caducidad
	Conservar entre x-y°C
	Contiene suficiente para <n> pruebas
	Lote
	Referencia (catálogo)
	Consultar instrucciones de uso
	<X> pocillos

**BIBLIOGRAFÍA:**

1. Del Bono, V., A. Canessa, P. Bruzzi, M. A. Fiorelli, and A. Terragna. 1989. Significance of specific immunoglobulin M in the chronological diagnosis of 38 cases of toxoplasmic lymphadenopathy. *J Clin Microbiol* 27:2133-5.
2. Filice, G. A., A. S. Yeager, and J. S. Remington. 1980. Diagnostic significance of immunoglobulin M antibodies to *Toxoplasma gondii* detected after separation of immunoglobulin M from immunoglobulin G antibodies. *J Clin Microbiol* 12:336-42.
3. Fung, J. C., A. Clogston, P. Swenson, and M. Kaplan. 1985. Serologic diagnosis of toxoplasmosis with emphasis on the detection of *Toxoplasma*-specific immunoglobulin M antibodies. *Am J Clin Pathol* 83:196-9.
4. Guerina, N. G., H. W. Hsu, H. C. Meissner, J. H. Maguire, R. Lynfield, B. Stechenberg, I. Abrams, M. S. Pasternack, R. Hoff, R. B. Eaton, and a. I. et. 1994. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. The New England Regional *Toxoplasma* Working Group. *N Engl J Med* 330: 1858-63.
5. Herbrink, P., A. M. van Loon, J. P. Rotmans, F. van Knapen, and W. C. van Dijk. 1987. Interlaboratory evaluation of indirect enzyme-linked immunosorbent assay, antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay, and immunoblotting for detection of immunoglobulin M antibodies to *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol* 25:100-5.
6. Jenum, P. A. and B. Stray-Pedersen. 1998. Development of specific immunoglobulins G, M, and A following primary *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *J Clin Microbiol* 36:2907-13.
7. Lin, T. M., M. W. Chin-See, S. P. Halbert, and J. M. Joseph. 1986. An enzyme immunoassay for immunoglobulin M antibodies to *Toxoplasma gondii* which is not affected by rheumatoid factor or immunoglobulin G antibodies. *J Clin Microbiol* 23:77-82.
8. Naot, Y. and J. S. Remington. 1980. An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*: use for diagnosis of acute acquired toxoplasmosis. *J Infect Dis* 142:757-66.
9. Van Loon, A. M., J. T. van der Logt, F. W. Heessen, and J. van der Veen. 1983. Enzyme-linked immunosorbent assay that uses labeled antigen for detection of immunoglobulin M and A antibodies in toxoplasmosis: comparison with indirect immunofluorescence and double-sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 17:997-1004.

Para cualquier aclaración o consulta, contactar con:  
[customerservice@vircell.com](mailto:customerservice@vircell.com)

**REVISADO: 2018-06-28**  
**L-M1027-ES-01**

FOR INFORMATION USE ONLY

## TOXOPLASMA ELISA IgG

### Producto para diagnóstico *in vitro*

**G1027:** Prueba inmunoenzimática indirecta para la detección y semicuantificación de anticuerpos IgG frente a *Toxoplasma gondii* en suero/plasma humano. 96 tests.

#### INTRODUCCIÓN:

*Toxoplasma gondii* es un protozoo parásito intracelular obligado de distribución mundial. Los humanos pueden adquirir la infección por ingestión de ooquistes desde las heces de gato o por ingestión de carne infectada o bien por infección intrauterina, transfusión o trasplante de órganos. Aunque la mayor parte de las infecciones son asintomáticas, la enfermedad puede ser grave en inmunodeprimidos o en la infección congénita. En mujeres infectadas durante el primer trimestre del embarazo puede dar lugar a aborto espontáneo o provocar en el feto hidrocefalia. Cuando la enfermedad se adquiere más tarde en el embarazo la afección del feto suele ser menos importante. Los anticuerpos IgM aparecen a los 5 días después de la infección y caen a niveles bajos o indetectables en semanas o meses en la mayor parte de los enfermos. Los anticuerpos IgG aparecen semanas después de la infección y persisten el resto de la vida. El ensayo con TOXOPLASMA ELISA IgG ha sido estandarizado frente al tercer patrón internacional de suero anti-Toxoplasma de la OMS utilizando un cut off de 10 U.I./ml.

#### FUNDAMENTO DEL MÉTODO:

Método de ELISA basado en la reacción de los anticuerpos de la muestra con el antígeno unido a la superficie de poliestireno. Las inmunoglobulinas no unidas por reacción con el antígeno son eliminadas en el proceso de lavado. En un paso posterior la globulina anti-humana reacciona con el complejo antígeno-anticuerpo, y la que no se une es eliminada por los lavados, la unida reacciona con el sustrato (TMB), para dar una reacción coloreada azul, que cambia a amarillo tras la adición de la solución de parada.

#### CARACTERÍSTICAS:

Todos los reactivos a excepción de la solución de lavado vienen listos para su uso. Las soluciones de dilución de muestras y de conjugado están coloreadas como ayuda a la realización de la técnica. No se precisa dilución previa de la muestra. Los pocillos son individuales, por lo que solo se consumen tantos pocillos como pruebas se van a realizar.

#### CONTENIDO DEL KIT:

- 1 VIRCELL TOXOPLASMA PLATE: 1 placa con 96 pocillos recubiertos con antígeno de *T. gondii*, cepa RH (ATCC 50174).
- 2 VIRCELL SERUM DILUENT: 25 ml de diluyente para sueros: tampón fosfatos con estabilizante de proteínas, con Neolone y Bronidox y coloreado de azul. Listo para su uso.
- 3 VIRCELL IgG POSITIVE CONTROL: 500 µl de suero control positivo, conteniendo 200 U.I./ml de IgG anti-Toxoplasma, con Neolone y Bronidox.
- 4 VIRCELL IgG CUT OFF CONTROL: 500 µl de suero cut off, conteniendo 10 U.I./ml de IgG anti-Toxoplasma, con Neolone y Bronidox.

5 VIRCELL IgG NEGATIVE CONTROL: 500 µl de suero control negativo con Neolone y Bronidox.

6 VIRCELL IgG CONJUGATE: 15 ml de una dilución de globulina anti-IgG humana conjugada con peroxidasa, con Neolone y Bronidox y coloreada de naranja. Lista para su uso.

7 VIRCELL TMB SUBSTRATE SOLUTION: 15 ml de solución de sustrato: tetrametilbenzidina (TMB). Listo para su uso.

8 VIRCELL STOP REAGENT: 15 ml de solución de parada: ácido sulfúrico 0,5 M.

9 VIRCELL WASH BUFFER: 50 ml de solución de lavado (concentrado 20x): tampón fosfatos con Tween<sup>R</sup>-20 y con Proclin 300.

10 VIRCELL SEMIQUANTIFICATION SAMPLE CONTROL: 500 µl de control de semicuantificación, conteniendo entre 20 y 50 U.I./ml de IgG anti-Toxoplasma, con Neolone y Bronidox.

**Conservar entre 2 y 8°C y comprobar la fecha de caducidad.**

#### Material necesario no contenido en el kit:

- Pipeta de precisión para dispensar 5 y 100 µl.
- Pipeta multicanal de precisión para dispensar 100 µl.
- Lavador de placas de ELISA.
- Incubador/baño termostático.
- Espectrofotómetro de placas de ELISA con filtro de 450 nm y filtro de referencia de 620 nm.
- Agua destilada.
- Alternativamente procesador automático de ELISA.

#### CONSERVACIÓN:

Conservar entre 2 y 8°C. No utilizar los componentes del kit después de la fecha de caducidad. La caducidad indicada será válida siempre que los componentes se mantengan cerrados y conservados entre 2 y 8°C.

#### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS COMPONENTES UNA VEZ ABIERTOS:

Componente	Estabilidad
Solución de lavado diluida (1x)	4 meses a 2-8°C
Resto de componentes	Fecha indicada en envase a 2-8°C

#### ESTABILIDAD Y USO DE LOS REACTIVOS:

Usar todos los reactivos en condiciones asépticas para evitar contaminaciones microbianas.

No permitir el secado de la placa entre los lavados y la adición de los reactivos.

La solución de sustrato es fotosensible. Evitar la exposición directa a la luz y desechar si presenta coloración azul. La solución de sustrato no debe entrar en contacto con oxidantes como soluciones de hipoclorito ni con algunos metales. Evitar el contacto con partes metálicas o componentes metálicos de equipos o instrumentos sin antes haber comprobado su compatibilidad.

Utilizar solo la cantidad de solución de lavado, sustrato, diluyente de sueros y conjugado necesarias para la realización de la prueba. No devolver a los viales el exceso sobrante.

VIRCELL, S.L. no se responsabiliza de la inadecuada utilización de los reactivos contenidos en el kit.

#### RECOMENDACIONES Y PRECAUCIONES:

1. Este producto es solo para diagnóstico *in vitro* y está destinado al uso por personal sanitario cualificado.
2. Usar solo componentes del kit. No mezclar los componentes de diferentes kits o fabricantes. Solo las soluciones de lavado,

sustrato, parada y diluyente de sueros son compatibles con los equivalentes en otras referencias y lotes de ELISA VIRCELL.

3. Utilizar puntas de pipeta diferentes y limpias para cada fase del ensayo. Utilizar solo material limpio y preferentemente desechable.

4. No utilizar en caso de deterioro del envase.

5. No pipetear con la boca.

6. El diluyente para sueros, placa, conjugados y controles de este equipo contienen material de origen animal. Los controles contienen además material de origen humano. Aunque los sueros control del equipo son sometidos a controles de ausencia de HBsAg y anticuerpos frente a VIH y Hepatitis C, es necesario manejar los controles y muestras del paciente como potencialmente patógenos. Los pocillos contienen antígeno inactivado, no obstante, deben manejarse con precaución. Ningún método actual puede asegurar por completo la ausencia de éstos u otros agentes infecciosos. Todo el material debe ser manipulado y desechado como potencialmente infeccioso. Observe la regulación local en materia de residuos clínicos.

7. Para la utilización del producto en sistemas automáticos de análisis se recomienda una evaluación previa. VIRCELL dispone de juegos de muestras para su ensayo en paralelo con el método manual. Estos juegos pueden ser solicitados con tal finalidad. Asimismo, es posible la consulta de un listado de sistemas automatizados aprobados para su utilización con la gama de productos ELISA VIRCELL.

8. Durante los períodos de incubación, un adecuado sellado de las placas con la lámina adhesiva que se suministra evita la desecación de la muestra y garantiza la repetitividad de la muestra.

9. Evitar el contacto de la solución de parada (ácido sulfúrico 0,5 M) con la piel o los ojos. En caso de contacto, lavar la zona inmediatamente con agua.

10. Proclin 300 está incluido como conservante en la solución de lavado. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. En caso de contacto con la piel lavar con agua y jabón abundantes. Para más información, solicite la hoja de seguridad del producto.

#### TOMA DE MUESTRA:

La sangre debe extraerse en condiciones asépticas mediante técnicas de venipuntura por personal experimentado. Se recomienda el uso de técnicas asépticas o estériles para evitar la contaminación de la muestra. Los sueros/plasmas deben mantenerse refrigerados entre 2 y 8°C si se van a procesar dentro de los 7 días siguientes a la toma, pero si el procesamiento se va a prolongar deben congelarse a -20°C, evitando las congelaciones y descongelaciones innecesarias. No utilizar muestras hiperlipémicas, hemolizadas o contaminadas. Las muestras que presenten partículas pueden ser clarificadas por centrifugación. Pueden utilizarse muestras de suero o plasma indistintamente.

#### PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS:

El único reactivo que es necesario preparar con antelación a la realización de la prueba es la solución de lavado. Para ello completar hasta 1 litro con agua destilada un vial de 50 ml de solución de lavado concentrada (20x). Si aparecen cristales durante la conservación de la solución concentrada, calentar a 37°C antes de diluirlo. Una vez preparada conservar entre 2 y 8°C.

#### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO:

1. Ajustar una estufa/baño de agua a 37±1°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 [2] necesarios para el número de muestras 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 µl de diluyente de muestras [2] a todos los pocillos que se vayan a emplear. Añadir 5 µl de las muestras, 5 µl del control positivo [3], 5 µl del suero cut off [4] (en duplicado), y 5 µl del control negativo [5] en los pocillos correspondientes. En el caso de la realización manual del método, se agitará la placa en un agitador (2 minutos) para garantizar una mezcla homogénea de los reactivos. Si no es posible asegurar esta agitación, debe hacerse una predilución de la muestra en tubo o placa añadiendo el doble del volumen de diluyente de muestras [2] y de muestra. Homogenizar con la pipeta y trasvasar seguidamente 105 µl de cada muestra ya diluida a los pocillos [1].

6. Tapar mediante lámina adhesiva e incubar en estufa/baño durante 45 minutos a 37±1°C.

7. Retirar la lámina adhesiva, aspirar el contenido de todos los pocillos y lavar cada uno de ellos 5 veces con 0,3 ml de solución de lavado [9], asegurándose que no quedan restos de solución de lavado.

8. Añadir inmediatamente 100 µl de conjugado IgG [6] a todos los pocillos.

9. Tapar mediante lámina adhesiva e incubar en estufa/baño durante 30 min. a 37±1°C.

10. Retirar la lámina adhesiva, aspirar el contenido de todos los pocillos y lavar cada uno de ellos 5 veces con 0,3 ml de solución de lavado [9], asegurándose que no quedan restos de solución de lavado.

11. Añadir inmediatamente 100 µl de solución de sustrato [7] a todos los pocillos.

12. Incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos, en la oscuridad.

13. Añadir inmediatamente 50 µl de solución de parada [8] a todos los pocillos.

14. Valorar espectrofotométricamente a 450/620 nm, antes de 1 hora de acabado el ensayo.

#### 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	D.O.
Control positivo	>0,9
Control negativo	<0,5
Control cut off	>0,55
	<1,5

**INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:****CUALITATIVO**

Calcular la media de las D.O. del suero cut off.

**Índice de anticuerpos= (D.O. de la muestra / media de D.O. del suero cut off) x10**

Índice	Interpretación
<9	Negativo
9-11	Dudoso
>11	Positivo

Las muestras con resultados dudosos deben ser vueltas a analizar y/o solicitar una nueva muestra para confirmación de los resultados.

Las muestras con índices inferiores a 9 se considera que no tienen anticuerpos específicos frente a *T. gondii* de tipo IgG.

Las muestras con índices superiores a 11 se considera que tienen anticuerpos específicos frente a *T. gondii* de tipo IgG.

**SEMICUANTITATIVO**

Para estimar la concentración relativa de anticuerpos IgG específicos anti-Toxoplasma presentes en la muestra se podría dibujar una gráfica semilogarítmica. Por ejemplo, se podrían representar en un eje los logaritmos de las U.I./ml de cada control y en el otro la media de sus correspondientes D.O.. Para ello, sería necesario realizar el ensayo con los controles por duplicado. Se podría trazar una línea que uniera los dos puntos y que permitiría asignar un valor aproximado de U.I./ml a la muestra cuya D.O. se conoce.

En el kit se incluye un control de calibración con un contenido comprendido entre 20-50 U.I./ml. Los laboratorios deberían obtener el patrón internacional de la OMS para la validación interna de la técnica.

**LIMITACIONES DEL MÉTODO:**

- Este método está diseñado para ser utilizado con suero/plasma humano.
- El uso de este kit requiere la cuidadosa lectura y comprensión del folleto de instrucciones. Es necesario seguir estrictamente el protocolo para obtener resultados fiables, en particular el correcto pipeteo de muestras y reactivos, lavados y tiempos de incubación.
- Los resultados de las muestras deben ser valorados junto con la sintomatología clínica y otros procedimientos diagnósticos. El diagnóstico definitivo debe realizarse mediante técnicas de aislamiento.
- El test no indica el lugar de la infección. No pretende sustituir al aislamiento.
- La ausencia de un aumento significativo en el nivel de anticuerpos no excluye la posibilidad de infección.
- Las muestras recogidas muy pronto en el transcurso de una infección pueden no tener niveles detectables de IgG. En esos casos se recomienda realizar un ensayo para determinación de IgM u obtener una segunda muestra transcurridos entre 14 y 21 días, para ser ensayado en paralelo con la muestra original con el fin de determinar una seroconversión.

7. Los resultados obtenidos en la detección de IgG en neonatos deben ser interpretados con precaución, ya que las IgG maternas son transferidas pasivamente de la madre al feto antes del nacimiento. La determinación de IgM es mejor indicador de infección en niños menores de 6 meses.

8. Los resultados de determinación de anticuerpos de una muestra única no deben ser usados para el diagnóstico de una infección reciente. Se deben recoger muestras pareadas (aguda y convaleciente) para ser ensayadas paralelamente y determinar seroconversión o un incremento significativo en el nivel de anticuerpos.

9. Cuando el resultado de una muestra se quiere expresar en U.I./ml hay que tener en cuenta que el valor de los resultados medidos por encima del cut off no se relaciona con la cantidad de anticuerpos.

10. En pacientes inmunosuprimidos una respuesta negativa no excluye la presencia de infección. Se han descrito casos de reactivación de *T. gondii* adquirida en infecciones pasadas en estos pacientes.

11. Los resultados de prestaciones incluidos corresponden a estudios comparativos con equipos de referencia comerciales en una muestra poblacional definida. Pueden encontrarse pequeñas variaciones en poblaciones diferentes o con equipos de referencia distintos.

**PRESTACIONES****• SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD:**

Se ensayaron 79 muestras de suero/plasma con TOXOPLASMA ELISA IgG frente a otro equipo ELISA comercial, obteniendo los siguientes resultados:

	Nº muestras	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
IgG	79	98	100
95% C.I.		88-100	89-100

C.I. Intervalo de confianza

Los valores indeterminados fueron excluidos de los cálculos finales.

**• PRECISIÓN INTRAENSAYO:**

Se ensayaron 3 sueros pipeteados individualmente 10 veces cada uno en un único ensayo realizado por el mismo operador en condiciones de trabajo idénticas, obteniendo los resultados:

Suero	N	% C.V.
CP	10	1,90
CN	10	6,30
CO	10	3,41

C.V. Coeficiente de variación

**• PRECISIÓN INTERENSAYO:**

Se ensayaron 3 sueros pipeteados individualmente durante 5 días consecutivos y por 2 operadores diferentes, obteniendo los siguientes resultados:

Suero	N	% C.V.
CP	10	4,48
CN	10	11,57
CO	10	6,97

C.V. Coeficiente de variación

• **REACCIÓN CRUZADA E INTERFERENCIAS:**

Se ensayaron 8 muestras caracterizadas positivas frente a otros miembros del grupo sindrómico (virus Epstein-Barr, cytomegalovirus (CMV) y rubeola) y otros protozoos (Leishmania). Se realizó un ensayo IgG a 2 muestras caracterizadas positivas frente a anticuerpos antinucleares. Las muestras ensayadas dieron resultados negativos, demostrando la reacción específica del ensayo sin reacción cruzada o interferencias ocasionadas por los agentes descritos.

**SÍMBOLOS UTILIZADOS EN EL PRODUCTO:**

	Producto para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Fecha de caducidad
	Conservar entre x- $\gamma$ °C
	Contiene suficiente para <n> pruebas
	Lote
	Referencia (catálogo)
	Consultar instrucciones de uso
	<X> pocillos

**BIBLIOGRAFÍA:**

1. Cubitt, W. D., A. E. Ades, and C. S. Peckham. 1992. Evaluation of five commercial assays for screening antenatal sera for antibodies to *Toxoplasma gondii*. *J Clin Pathol* 45:435-8.
2. Derouin, F., G. Sulcebe, and J. J. Ballet. 1987. Sequential determination of IgG subclasses and IgA specific antibodies in primary and reactivating toxoplasmosis. *Biomed Pharmacother* 41:429-33.
3. Guerina, N. G., H. W. Hsu, H. C. Meissner, J. H. Maguire, R. Lynfield, B. Stechenberg, I. Abroms, M. S. Pasternack, R. Hoff, R. B. Eaton, and a. l. et. 1994. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. The New England Regional Toxoplasma Working Group. *N Engl J Med* 330: 1858-63.
4. Hedman, K., M. Lappalainen, I. Seppaia, and O. Makela. 1989. Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. *J Infect Dis* 159:736-40.
5. Herbrink, P., A. M. van Loon, J. P. Rotmans, F. van Knapen, and W. C. van Dijk. 1987. Interlaboratory evaluation of indirect enzyme-linked immunosorbent assay, antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay, and immunoblotting for detection of immunoglobulin M antibodies to *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol* 25:100-5.
6. Jenum, P. A. and B. Stray-Pedersen. 1998. Development of specific immunoglobulins G, M, and A following primary *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *J Clin Microbiol* 36:2907-13.
7. Obwaller, A., A. Hassl, O. Picher, and H. Aspöck. 1995. An enzyme-linked immunosorbent assay with whole trophozoites of *Toxoplasma gondii* from serum-free tissue culture for detection of specific antibodies. *Parasitol Res* 81:361-4.

Para cualquier aclaración o consulta, contactar con:  
[customerservice@vircell.com](mailto:customerservice@vircell.com)

**REVISADO: 2018-06-28**  
**L-G1027-ES-01**



**AccuBioTech Co., Ltd.**

**Preciso, confiable y rentable**

**ACCU-TELL®**  
**Casete de prueba TOXO IgG/IgM rápida**

**Sólo para diagnóstico de in vitro**

**de muestras de suero/ plasma**

Este prospecto se aplica a los siguientes productos:

**No. de catálogo Nombre del producto**

ABT-FT-B209 Casete de prueba TOXO IgG/IgM Suero/Plasma

Una prueba rápida para la detección cualitativa de anticuerpos IgG e IgM de *Toxoplasma Gondii* (T.gondii) en suero o plasma humano

Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro.

**USO PREVISTO**

El Casete de prueba TOXO IgG/IgM Rápida (Suero/Plasma) ACCU-TELL® es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección y diferenciación simultánea de IgM anti-*Toxoplasma Gondii* (T. gondii) e IgG anti-T. gondii en suero o plasma humano. Este kit está destinado a ser utilizado como prueba de detección y como ayuda en el diagnóstico de infección con T. gondii. Cualquier espécimen reactivo con el Casete de prueba TOXO IgG/IgM Rápida (Suero/Plasma) ACCU-TELL® se debe confirmar mediante el uso de métodos de prueba alternativos y hallazgos clínicos.

**RESUMEN**

T. gondii es un protozoo parásito intracelular obligado de distribución mundial 1,2. Los datos serológicos indican que aproximadamente el 30% de la población de las naciones más industrializadas está infectada crónicamente con este organismo. En ayuda al diagnóstico de infección aguda y para evaluar la exposición previa al organismo se han usado una variedad de pruebas serológicas para anticuerpos de T. Gondii. Estas pruebas son la tinción de Sabin-Feldman, aglutinación directa, hemaglutinación indirecta, aglutinación de látex, inmunofluorescencia indirecta y ELISA4-7. Recientemente, se introdujo en la clínica un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral, como el Casete de prueba TOXO IgG/IgM Rápida (Suero/Plasma) ACCU-TELL® para el diagnóstico serodiagnóstico de la infección por T. gondii.

**PRINCIPIO**

El Casete de prueba TOXO IgG/IgM Rápida (Suero/Plasma) ACCU-TELL® es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba consiste en: 1) un conjugado de color rojo que contiene antígenos de T. gondii conjugados con oro coloidal (conjugados de T. gondii) y conjugados de IgG-oro de conejo, 2) una tira de membrana de nitrocelulosa que contiene dos bandas de prueba (bandas T1 y T2) y una banda de control (Banda C). La banda T1 está prerrevestida con IgM monoclonal antihumano para la detección de IgM anti-T. gondii, la banda T2 está prerrevestida con reactivos para la detección de IgG anti-T. gondii, y la banda C está prerrevestida con IgG anti-conejo de cabra.

Cuando se aplica un volumen adecuado de muestra de prueba en la almohadilla de muestra de la prueba, la muestra migra por acción capilar a través de la tira. Si IgM anti-T.gondii está presente en la muestra se unirá a los conjugados de T. gondii. Luego el inmunocomplejo se encuentra capturado en la membrana por el anticuerpo IgM antihumano prerrevestido, formando una banda T1 de color rojo, lo que indica un resultado positivo de la prueba de T. gondii IgM.

Si IgG anti-T.gondii está presente en la muestra se unirá a los conjugados de T. gondii. Luego el inmunocomplejo se encuentra capturado por los reactivos prerrevestidos en la membrana, formando una banda T2 de color rojo, lo que indica un resultado

positivo de la prueba de IgG dT. gondii.

La ausencia de cualquier banda T (T1 y T2) sugiere un resultado negativo. La prueba contiene un control interno (banda C) que debe exhibir una banda de color rojo del inmunocomplejo de conjugado del IgG anti-conejo de cabra/conjugados de IgG-oro de conejo, independientemente del desarrollo de color en cualquiera de las bandas T. De lo contrario, el resultado de la prueba no es válido y la muestra debe volver a analizarse con otro dispositivo.

**REACTIVOS**

La prueba contiene IgM de ratón antihumano, IgG de ratón antihumano y antígeno de T.gondii de *Toxoplasma*. Un anticuerpo de cabra se emplea en el sistema de línea de control.

**PRECAUCIONES**

1. Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro. No utilizar después de la fecha de caducidad.
- 2.No coma, beba ni fume en el área donde se manipulan las muestras o los kits.
- 3.El prospecto se debe leer completamente antes de realizar la prueba.
- 4.Ponga todos los reactivos a temperatura ambiente (15-30 °C) antes del uso..
- 5.Use ropa protectora, como batas de laboratorio, guantes desechables o protección ocular cuando durante la prueba de muestras.
- 6.Las pruebas usadas, las muestras y los materiales potencialmente contaminados deben desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
- 7.La humedad y la temperatura pueden afectar los resultados negativamente.

**ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD**

Almacene en el paquete a temperatura ambiente o refrigerado (2-30 °C). La prueba es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en la bolsa sellada o en la etiqueta del recipiente cerrado. La prueba debe permanecer en la bolsa sellada o recipiente cerrado hasta el uso. **NO CONGELAR** No utilice después de la fecha de caducidad.

**RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS**

- 1.EL casete de prueba TOXO IgG/IgM Rápida (Suero/Plasma) ACCU-TELL® se puede realizar usando suero o plasma.
- 2.Separe el suero o la plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. Use solo muestras claras no hemolizadas.
- 3.Las pruebas se deben realizar inmediatamente después de que se hayan recogido las muestras. No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados. Las muestras de suero y plasma pueden almacenarse a 2-8 °C durante hasta 3 días. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de -20 °C.
- 4.Ponga las muestras a temperatura ambiente antes de la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse por completo y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente.
- 5.Ponga las muestras a temperatura ambiente antes de la prueba para evitar la hemólisis o la turbidez.
- 6.Si las muestras deben enviarse, deben embalarse de acuerdo con las regulaciones locales que cubren el transporte de agentes etiológicos.

**MATERIALES**

**Materiales provistos**

Casets de prueba

Góteros

Prospecto

**Materiales requeridos, pero no provistos**

Centr fuga

Contenedor de recogida de muestras

Temporizador

**PROCEDIMIENTO DE PRUEBA**

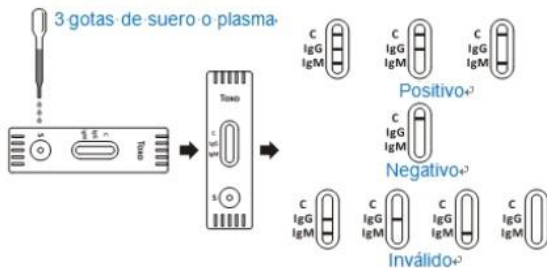




1. Ponga la bolsa a temperatura ambiente antes de abrirla. Retire el casete de prueba de la bolsa sellada y úsela en una hora. Se obtendrán mejores resultados si el análisis se realiza dentro de una hora.

2. Coloque el casete de prueba sobre una superficie limpia y nivelada. Sostenga el gotero verticalmente y transfiera 3 gotas de suero o plasma (aproximadamente 75 µl) al pocillo de la muestra del casete de prueba. Evite que se formen burbujas de aire en el espécimen. Consulte la ilustración a continuación.

1. Espere a que aparezca(n) la(s) línea(s) de color. Compruebe el resultado en 15 minutos. No interprete el resultado después de 15 minutos.



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

(Consulte la ilustración anterior)

POSITIVO: \* Aparecen dos o tres líneas. Una línea de color siempre debe aparecer en el área de la línea de control (C) y otra o dos líneas de color aparentes deben estar en la(s) área(s) de la línea de prueba (IgM y/o IgG).

IgM Positivo: Junto con la línea en el área de control (C), aparece una línea en el área IgM. Indica un resultado de prueba positivo para anticuerpos de Toxoplasma.

IgG Positivo: Junto con la línea en el área de control (C), aparece una línea en el área IgG. Indica un resultado de prueba positivo para anticuerpos de Toxoplasma.

\*NOTA: La intensidad del color en las áreas de la línea de prueba (IgM e IgG) puede variar dependiendo de la concentración de anticuerpos de Toxoplasma presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en el área de la línea de prueba (IgM y/o IgG) debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Una línea de color aparece en el área de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en las áreas de la línea de prueba (IgM e IgG).

INVÁLIDO: No aparece la línea de control. Volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con una nueva prueba. Si el problema persiste, suspenda el uso del kit de prueba inmediatamente y contacte a su distribuidor local.

CONTROL DE CALIDAD

La prueba incluye un control de procedimiento. La aparición de líneas de color en el área de línea de control (C) se considera un control de procedimiento.

LIMITACIONES

1. El procedimiento de ensayo y la interpretación de los resultados de la prueba deben seguirse de cerca cuando se prueba la presencia de anticuerpos de T.gondii en suero o plasma de sujetos individuales. Fallo a seguir el procedimiento puede producir resultados incorrectos

2. El Casete de prueba TOXO IgG/IgM Rápida (Suero/Plasma) ACCU-TELL® se limita a la detección cualitativa de los anticuerpos de T.gondii en suero o plasma humano. La intensidad de la banda de prueba no tiene una correlación lineal con el título de anticuerpos en la muestra.

3. Un resultado negativo para un sujeto individual indica ausencia de anticuerpos detectables de T. gondii. Sin embargo, un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición o

infección con T. gondii.

4. Se puede producir un resultado negativo si la cantidad de anticuerpos de T. gondii presentes en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo, o los anticuerpos que se detectan no están presentes durante la etapa de la enfermedad en la que se recoge la muestra.

5. Algunas muestras que contienen un título inusualmente alto de anticuerpos heterófilos o factor reumatoide pueden afectar los resultados esperados.

6. Los resultados obtenidos con esta prueba solo se deben interpretar junto con otros procedimientos de diagnóstico y hallazgos clínicos.

VALORES ESPERADOS

El casete de prueba TOXO IgG/IgM Rápida (Suero/Plasma) ACCU-TELL® ha sido comparado con una prueba TOXO IgG/IgM de un líder comercial - ELISA. La correlación entre estos dos sistemas es mayor a 98%.

CARACTERÍSTICAS DE PRESENTACIÓN

Sensibilidad y especificidad

Se realizó una evaluación clínica comparando los resultados obtenidos con el cassette de prueba TOXO IgG/IgM Rápida (Suero/Plasma) ACCU-TELL® a la prueba TOXO IgG/IgM de ELISA. El estudio incluyó 252 especímenes de IgG y 223 especímenes de IgM, y en lo que se refiere al espécimen de IgG ambos ensayos identificaron 220 resultados negativos y 27 positivos. En lo que se refiere al espécimen de IgM, ambos ensayos identificaron 197 resultados negativos y 25 positivos.

Resultados IgG

Table with 4 columns: Método, T.Gondii EIA (IgG), Resultados totales. Rows for Positive and Negative results.

Sensibilidad: 90.0% (95%CI: 73.4%~97.9%)\*

Especificidad: 99.1% (95%CI: 96.8%~99.9%)\*

\*Intervalo de confianza

Resultados IgM

Table with 4 columns: Método, T.Gondii EIA (IgM), Resultados totales. Rows for Positive and Negative results.

Sensibilidad: > 99.9%(95%CI: 88.7%-100%)\*

Especificidad: 99.5% (95%CI: 97.2%~100%)\*

Precisión: 99.6%(95%CI: 97.5%~100%)\*

\*Intervalo de confianza

Precisión

Intraensayo

La precisión interna se ha determinado mediante el uso de 10 repeticiones de tres muestras: una negativa, una positiva baja y una positiva alta. Los valores negativos, positivos bajos y positivos altos se han identificado correctamente > 99% de las veces.

Interensayo

La precisión entre las ejecuciones se ha determinado mediante el uso de 10 repeticiones de las mismas tres muestras: una negativa, una positiva baja y una positiva alta. Tres diferentes lotes del Casete de prueba TOXO IgG/IgM Rápida ACCU-TELL®



se han sometido a prueba durante un período de 3 días con muestras positivas negativas, poco positivas y altas. Los especímenes se han identificado correctamente > 99% de las veces.

**Reactividad cruzada**

El Casete de prueba TOXO IgG/IgM Rápida ACCU-TELL® se ha sometido a prueba para especímenes positivos de HBsAg, HBsAb, HbeAg, HBeAb, HbCAb, HCV, HIV, S filis, H. Pylori, CMV y Rubéola. Los resultados no indican cualquier reactividad cruzada.

**Sustancias interferentes**

Las siguientes sustancias potencialmente interferentes se han agregado a las muestras negativas y positivas de TOXO.

Acetaminofén: 20 mg/dL

Cafeína: 20 mg/dL

Ácido acetilsalicílico: 20 mg/dL

Ácido gálico: 20 mg/dL

Ácido ascórbico: 2g/dL

Albumina: 2 g/dL

Bilirrubina: 1g/dL

Ácido oxálico: 600mg/dL

Ninguna de las sustancias en la concentración probada ha interferido durante el ensayo.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Krick JA and Remington JS: Toxoplasmosis in the adult: An overview. New Eng. J. Med. 1978, 298:550-553
2. Anderson SE and Remington JS: The diagnosis of Toxoplasmosis. So. Med. J. 1975, 68:1433-1443
3. Wilson CB, Remington JS, Stagno S, and Reynolds DW: Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital Toxoplasma infection. Pediatrics, 1980, 66:767-774
4. Berrebi A; Kobuch WE; Bessieres MH; Bloom MC; Rolland M; Sarramon MF; Roques C; Fournie A: Termination of pregnancy formaternal toxoplasmosis. Lancet 1994, 344:36-9
5. Fraser KB, Shirodaira PV, and Stanford CF: Fluorescent staining and human IgMBr. Med. J. 1971, 3:707
6. Pyndiah N, Krech U, Price P and Wilhelm J: Simplified chromatographic separation of immunoglobulin M from G and its application to Toxoplasma indirect immunofluorescence. J. Clin. Micro. 1979, 9:170-174
7. Montoya JG, Rosso F. Diagnosis and management of toxoplasmosis. Clin Perinatol. 2005, 32(3):705-26.

**GLOSARIO DE SÍMBOLOS**

	Número de catálogo		Limitación de temperatura
	Consultar las instrucciones de uso		Código de lote
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro		Fecha de caducidad
	Fabricante		No reusar