

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. MEDICINA VETERINARIA

**Determinación de anticuerpos de *Toxoplasma Gondii*  
en búfalos de agua (*Bubalus Bubalis*), en el distrito de  
**Jenaro Herrera, Loreto****

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Karla Esteves Villavicencio

Lima-Perú

2011

## **RESUMEN**

El Objetivo del presente estudio fue determinar la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en búfalos del distrito de Jenaro Herrera, ubicado en la región Loreto. En Agosto del 2008 se recolectaron 70 muestras de sangre de búfalos hembra para la detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* mediante dos técnicas, hemaglutinación indirecta (HAI) e inmunofluorescencia indirecta (IFI). Los resultados indicaron que el  $35.7 \pm 11.2\%$  de las muestras fueron reactivas a la prueba de HAI, y el  $17.14 \pm 8.8\%$  fueron reactivas a la prueba IFI. Presentando una relación directa entre el aumento de la prevalencia y la edad de los animales. La prevalencia encontrada en el presente estudio fue moderada.

**Palabras clave:** toxoplasmosis, búfalos, HAI, IFI.

### **ABSTRACT**

The aim of this study was to determine the seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in bufalos in the Jenaro Herrera district, located at Loreto Department. A total of 70 blood samples were collected in female bufalos for the detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* by 2 different techniques, the Indirect Hemagglutination Test (IHA), and the Indirect Immunofluorescence Test (IFI). The results indicated that  $35.71 \pm 11.2\%$  of the samples were reactive to the Indirect Hemagglutination Test, and  $17.14 \pm 8.8\%$  were reactive to IFI. Showing a direct relationship between the increase of seroprevalence and the age of the animals. The prevalence found an the present study was considered moderate.

**Key Words:** toxoplasmosis, bufalos, IHA, IFI.

## I. INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria de distribución mundial producida por el *Toxoplasma gondii*, protozooario cuyos hospederos definitivos son los miembros de la familia felidae y como hospederos intermediarios todas las aves y mamíferos, incluido el hombre. En ganadería ocasiona problemas reproductivos que se traducen en infertilidad, aborto, muerte fetal, momificación y mortalidad neonatal, que ocurren como incidentes esporádicos donde una proporción importante de las hembras gestantes pueden ser afectadas (Rojas *et al.*, 1989).

En el Perú se han reportado diversas seroprevalencias en diversas especies domésticas así, en llamas variaron entre 10 y 32% (Gómez *et al.*, 2003; Saravia *et al.*, 2004), alpacas 21 y 53% (Poma, 2003; Gómez *et al.*, 2003), porcinos 27.7% (Saavedra y Ortega, 2004), bovinos 17% (Tejada y Balbin, 1989), vicuñas 14.9% (Pastor *et al.*, 2003) en ovinos 39 y 85% (Rojas, 1990; Caldas, 2005), en caprinos 57.9% (Vidal, 1990). Siendo necesario dilucidar la variación de la seroprevalencia a toxoplasmosis en las diferentes especies de animales de producción y áreas geográficas de nuestro territorio, a fin de establecer zonas de mayor riesgo en la salud pública.

La crianza de búfalos en América está cada vez más difundida, así se pueden encontrar en países como: Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Cuba, Ecuador, Paraguay, Perú, Venezuela, Trinidad y Tobago, entre otros países (Borguese, 2005). Existen en la actualidad estudios de la seroprevalencia de toxoplasma en búfalos de agua, Selvaraj *et al.*, (2007) reportan un 100% en la India, también está documentada su presencia en América del Sur, específicamente en Brasil, donde la prevalencia varía de 3,85 a 49,9%. (Gondim *et al.*, 1999; Melo de Souza, 2001).

La población de búfalos de agua en el Perú se estima en treinta mil cabezas (Almaguer, 2007), introducidas en la llanura amazónica peruana en 1966 por la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (Isuiza *et al.*, 1996), tornándose importante su crianza para la economía de los pobladores. El distrito de Jenaro Herrera, ubicado en el noreste de la selva peruana,

provincia de Requena, departamento de Loreto cuenta con aproximadamente 402 cabezas de ganado bubalino, dependiendo de la producción lechera de este ganado (García, 2006).

Los criadores de búfalos conforman un 99% de la población de Jenaro Herrera dedicados a esta actividad, prevaleciendo el sistema de crianza de tipo extensivo. Se conoce que sólo el 44% de los criadores estabula su ganado por las noches. Además, poseen equinos, vacunos, porcinos y caprinos (García, 2006).

Actualmente existe escasa información sobre las enfermedades parasitarias que pueden afectar a los búfalos de agua de la llanura amazónica en nuestro país, por lo que resulta necesario obtener información sobre *Toxoplasma gondii* un protozooario de gran importancia en salud pública. Por lo que el objetivo del estudio pretende conocer la seropositividad a *Toxoplasma* en búfalos de agua en el Perú.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 GENERALIDADES:

En Brasil, en el año 1908 Splendore descubrió este agente en conejos de laboratorio, simultáneamente, Nicolle y Manceaux descubrieron el parásito en gondis (roedores africanos), que estaban siendo investigados como posibles reservorios del género *Leishmania*, así fue inicialmente identificado como *Leishmania gondii*. Posteriormente, observando el comportamiento de este parásito en cultivos, fue descartado que perteneciera a una especie de *Leishmania* y por su particular forma de arco, en griego "toxon", lo renombraron en 1909 como *Toxoplasma gondii*. Janku en 1923 en Praga, reportó la coriorretinitis toxoplásmica documentando el primer caso en una niña recién nacida. Más adelante Wolf y colaboradores en 1939 demostraron que este parásito causaba meningoencefalitis congénita (Botero y Restrepo, 1998).

Es en 1929 cuando Lévine y colaboradores destacan la persistencia de quistes en tejidos por meses e inclusive por años. Explicando las formas asintomáticas y crónicas, y relacionaron el toxoplasma con la preñez (Hutchinson y Dunackie, 1971). Feldman, en 1948 desarrolló una prueba serológica, el "Dye test", herramienta importante, para el diagnóstico de la toxoplasmosis (Frenkel, 1991, Feldman, 1982).

Fue en 1970 cuando tanto Frenkel en EE.UU. como Hutchison en Inglaterra, establecen la forma de transmisión en la naturaleza, mostrando que el *T. gondii* es un parásito del intestino de los félidos y que las formas infectantes salían con las materias fecales de estos animales (Soulsby, 1987; Botero y Restrepo, 1998).

La transmisión congénita de la infección fue descubierta en las distintas especies animales progresivamente; Las enfermedades parasitarias como la toxoplasmosis constituyen un factor limitante de la productividad animal, ya que provoca desórdenes reproductivos en el aparato reproductor de la hembra en las diferentes especies domésticas con pérdidas económicas para el ganadero (Rojas, 1990)

Actualmente la toxoplasmosis se considera una enfermedad zoonótica, es reconocida desde 1958 por el Comité Mixto OMS/FAO, por tener relevancia en Veterinaria y Patología Humana (Acha-y Szyfres, 1992).

### **2.1.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA:**

La toxoplasmosis es una de las zoonosis parasitarias más comunes del mundo. Es causada por el parásito *Toxoplasma gondii*, su clasificación ha sido modificada en numerosas ocasiones. Actualmente prevalece el criterio seguido por Levine en 1973 y aceptada por Frenkel en 1977, donde se considera que el *Toxoplasma gondii* forma parte del Reino Protozoa, Phylum Apicomplexa, Clase Sporozoea, Sub-clase Coccidia, Orden Eucoccidia, sub-orden Eimeria, familia Sarcosistidae, género *Toxoplasma* (Soulsby, 1987; Atias, 1998).

*Toxoplasma gondii* es un parásito intracelular obligatorio, móvil, gram negativo, sin hospedero específico (eurixeno), polixeno y heteroxeno facultativo (Tenter, 2000) Es de morfología arqueada, semilunar y carece de flagelos, sin embargo posee autonomía de movimientos de rotación helicoidales, toda la célula participa gracias a las fibrillas dispuestas sobre su superficie. El tamaño es variable, dependiendo del órgano de donde procedan, entre 2-12 x 1.5-4  $\mu$  (Flores, 1991).

### **2.1.2 ESTADIOS DE DESARROLLO:**

Existen tres estadios de desarrollo: taquizoíto, bradizoíto y ooquiste. En los mamíferos y las aves, se puede encontrar el parásito en dos formas: el taquizoíto, de multiplicación rápida; y el bradizoíto de multiplicación lenta, Por otro lado en los félidos, se encuentran las tres formas mencionadas. (Soulsby, 1987; Atías, 1994).

**Taquizoíto** (forma proliferativa, trofozoíto, endozoíto).- tiene forma de media luna, uno de sus extremos es afinado y el otro redondeado. Su tamaño es variable, midiendo 3,5 a 7,5 um de largo por 1,5 a 3 um de ancho (Pizzi, 1997); Puede infectar por penetración activa o por fagocitosis (Bonhomme *et al.*, 1992; Morisaki *et al.*, 1995), en células fagocitarias y no fagocitarias y células nucleadas. Al interior de la célula se multiplica rápidamente por endodiogenia, produciendo finalmente el estallido de la célula, liberando numerosos taquizoítos que invaden nuevas células. La tasa de invasión y desarrollo varía, dependiendo de la virulencia de la cepa de *Toxoplasma gondii* y el estado inmunológico del hospedero (Pizzi, 1997).

Durante el estado agudo de la infección, el taquizoíto puede estar presente en la sangre, saliva, secreción nasal, orina, mucosa vaginal, leche, semen (Chiari y Neves, 1984; Luzón *et al.*, 1997); así como en una amplia variedad de tejidos. El taquizoíto es sensible al calor, frío, desecación (Pizzi, 1997), jugo gástrico (Dubey *et al.*, 1998) y drogas específicas (Pizzi, 1997).

**Bradizoíto** (quistozoíto, cistozoíto).- presenta una forma de media luna, mide 7 um de largo por 2 um de ancho y son más delgados que los taquizoítos (Botero y Restrepo, 1998). Tiene el núcleo situado hacia la parte posterior, mientras que en el taquizoíto se localiza centralmente; los bradizoítos son menos susceptibles a la destrucción por el jugo gástrico (Jacobs *et al.*, 1960) y el periodo prepatente es más corto en gatos que ingieren bradizoítos que el de aquellos que ingieren taquizoítos o quistes esporulados (Dubey, 1995).

Está presente en las infecciones congénitas y adquiridas, crónicas o asintomáticas. Se encuentra en quistes, mayormente en el cerebro, ojos, hígado, y musculatura esquelética y cardíaca. El bradizoíto se divide lentamente por endodiogenia dentro del quiste tisular, el cual desarrolla y permanece intracelularmente (Ferguson y Hutchinson, 1997). El tamaño de los quistes varía de 50 a 150 um de diámetro. Cada quiste posee una pared argirófila, que rodea muchos zoítos y está relacionado a su viabilidad durante varios días después de la muerte (Atías, 1994).



**Quiste tisular** (contienen bradizoítos).- la pared del quiste es elástica y delgada (Melhorn y Frenkel, 1980), al parecer está compuesto por materiales de la célula hospedadora y el parásito (Ferguson y Hutchison, 1997). Los quistes varían de tamaño; los jóvenes pueden medir 5 um de diámetro y contener sólo dos bradizoítos, mientras que los más antiguos pueden contener cientos de organismos. La morfología también varía según el órgano donde se encuentre, los que se localizan en el cerebro son de forma esferoidal y miden 70 um de diámetro, los de localización intramuscular son elongados y pueden medir 100 um de largo. También pueden desarrollarse en órganos viscerales como pulmones, hígado y riñones, pero existe mayor prevalencia en el tejido neural y muscular, incluyendo el cerebro, ojos y músculo esquelético y cardíaco (Dubey *et al.*, 1998).

No hay evidencia de que los quistes intactos ocasionen algún daño y pueden persistir durante toda la vida del hospedero sin causar una respuesta inflamatoria (Dubey *et al.*, 1998), lo cual constituye la forma de resistencia del hospedero (Pizzi, 1997).

**Ooquiste.-** El ooquiste es excretado en las heces de los gatos sensibles después de la ingestión de cualquiera de las tres formas infecciosas (Taquizoítos, bradizoítos y ooquistes).

El ooquiste no esporulado es subesférico a esférico, mide de 10 a 12 um de diámetro. Es excretado junto con las heces del hospedero definitivo (félidos) al medio ambiente, en el cual, dependiendo de condiciones de aireación, temperatura y humedad se produce la esporogonia después de 1 a 5 días (Dubey *et al.*, 1998).

El ooquiste esporulado es de subesférico a elipsoidal y mide de 11 a 13 um de diámetro. Cada ooquiste tiene dos esporoquistes de forma elipsoidal que mide 6 a 8 um y cada uno contiene cuatro esporozoítos (Atías, 1997; Dubey *et al.*, 1998; Dubey y Lappin, 2000).

Los ooquistes esporulados pueden sobrevivir en el suelo húmedo hasta 18 meses y mantener su habilidad infectante (Llop *et al.*, 2001). Su resistencia ha sido constatada en diferentes experiencias,

siendo capaces de soportar condiciones extremas tales como la sequía y las heladas, hecho que favorece la diseminación del parásito. En un estudio realizado por Dubey (1998), sobre la capacidad infectante de los ooquistes a diferentes temperaturas, se demostró que ésta no se alteraba cuando dichas formas infectantes eran sometidas a 10, 15, 20 y 25 °C durante 200 días y a -5 y -10 °C durante 106 días (Dubey *et al.*, 1998 ).

### **2.1.3 CICLO BIOLÓGICO:**

Presenta un ciclo indirecto, tipo predador-presa, bastante complejo. Realiza nueve diferentes reproducciones: seis ocurren en el hospedero definitivo, uno en el medio ambiente, y dos en el hospedero intermediario. El ciclo biológico comprende dos fases:

#### **Fase sexual o esporogónica o enteroepitelial**

Este ciclo sólo se presenta en el hospedero definitivo. Inicialmente la infección se puede producir de tres formas distintas:

- 1) Quistes tisulares con bradizoítos, a partir de tejidos de animales con toxoplasmosis crónica.
- 2) Taquizoítos, procedentes de tejidos de animales con toxoplasmosis aguda.
- 3) Ooquistes esporulados, que se pueden encontrar en el agua o alimentos contaminados con heces de gatos y con infección patente (Acha y Szyfres, 1992; Luzón *et. al.*, 1997).

En el felino la forma más común de infección es la ingestión de hospederos intermediarios infectados con quistes tisulares (bradizoítos) (Dubey y Lappin, 2000). Una vez ingeridos los quistes, las enzimas digestivas disuelven la pared de éstos últimos y de ellos se liberan bradizoítos en el estómago y el intestino, los cuales penetran en las células epiteliales del intestino delgado e inician los cinco tipos (A-E) de etapas asexuales predeterminadas que equivalen a los esquizontes de otros coccidios intestinales (Luzón *et. al.*, 1997; Dubey y Lappin, 2000).

Después de varias generaciones (esquizogonias) los merozoítos liberados del tipo D o E ingresan en nuevas células y forman microgamontes (masculinos) y macrogamontes (femeninos) dando inicio a la fase sexual del ciclo (gametogonia). Los microgamontes se dividen y forman varios microgametos biflagelados, éstos se liberan y nadan hacia los macrogamontes penetrando en ellos; alrededor del macrogamonte fertilizado se forma una pared para constituir un ooquiste. Los ooquistes son excretados al medio externo junto con las heces (Dubey y Lappin, 2000).

Al exponerse al aire y la humedad durante uno a cinco días, los ooquistes esporulan conteniendo dos esporoquistes, cada uno con cuatro esporozoítos; y pueden sobrevivir en el ooquiste por muchos meses, aún bajo condiciones ambientales rigurosas (Luzón *et al.*, 1997). El hospedero definitivo puede eliminar en cada deyección de miles a millones de ooquistes por un período corto de tres a 15 días y al adquirir inmunidad cesa la producción de los mismos, pudiendo reanudar la eliminación de ooquistes si se quiebra la resistencia que ha adquirido. Resulta de gran interés biológico el hecho de que los ooquistes esporulados sean muy resistentes a los factores ambientales pudiendo sobrevivir hasta un año o más en condiciones favorables.

El período prepatente y frecuencia de eliminación de ooquistes varía de acuerdo al estadio ingerido de *Toxoplasma gondii* (Dubey *et al.*, 1998). El período prepatente es de 3 a 10 días después de la ingestión de quistes tisulares; 18 días después de la ingestión de ooquistes esporulados y 13 días después de la ingestión de taquizoítos u ooquistes. Cuando la infección se produce por la ingestión de taquizoítos u ooquistes, el número de ooquistes eliminados es mucho menor (Luzón *et al.*, 1997) y menos del 30% de estos gatos eliminan ooquistes. El 20% de los gatos que ingieren serán positivos a una prueba serológica (Dubey *et al.*, 1998). No se conocen con certeza las diferencias en el ciclo de vida que expliquen este retraso y resistencia, pero es probable que los bradizoítos sean precursores de la replicación enteroepitelial (Dubey y Lappin, 2000).

### **Fase asexual o esquizogónica o extraintestinal**

Puede desarrollarse en un amplio espectro de hospederos intermediarios (ovinos, caprinos y otros mamíferos). Éstos se infectan al ingerir quistes tisulares (bradizoítos), taquizoítos u ooquistes esporulados, siendo ésta última la forma de infección más común en herbívoros, al consumir ooquistes eliminados por los félicos conjuntamente con las heces y que son diseminados en las pasturas (Leguía y Casas, 1999).

Los felinos, debido a que pueden ingerir quistes tisulares u ooquistes esporulados, también pueden comportarse como hospederos intermediarios, convirtiéndose en un hospedero completo pudiendo desarrollar en forma simultánea la fase sexual y asexual del parásito.

En el intestino del hospedero intermediario y definitivo se liberan los esporozoítos que pasan a la vía sanguínea para transformarse en taquizoítos en los tejidos. Los taquizoítos atacan preferentemente a los monocitos, histiocitos, leucocitos, linfocitos y células endoteliales, sobre todo las de revestimiento peritoneal, así como los reticuloendoteliales y principalmente el sistema nervioso central (Flores, 1991).

En el lumen del intestino delgado del hospedero se liberan los esporozoítos, quienes penetran en las células intestinales, por endodiogenia (proceso asexual) se dividen en dos taquizoítos; que son formas proliferativas que se extienden hacia los ganglios linfáticos regionales, a través de la circulación portal, hacia el hígado, o vía linfática, llegan al conducto torácico y de ahí al pulmón. Pueden también difundirse de una a otra célula y son diseminados por macrófagos, linfocitos y granulocitos, además de circular como formas libres; al ser un parásito intracelular obligatorio, las formas libres desaparecen rápidamente. Los taquizoítos invaden células nucleadas de cualquier tipo donde se desarrollan con rapidez hasta destruirlas, pero parasitan de modo preferente el sistema muscular y nervioso. En consecuencia, un gran número de parásito se diseminan por todo el organismo (Soulsby, 1987).

Esta primera fase coincide clínicamente con la fase de infección aguda y en ella existen formas proliferativas situadas directamente en el protoplasma de las células, multiplicándose activamente hasta romper la membrana de la célula hospedadora parasitada, en ese momento de rotura de la célula parasitada y búsqueda de otra podemos encontrar a los toxoplasmas en situación extracelular en las cavidades corporales, en el líquido cerebroespinal y en la sangre (Atías, 1994).

Los taquizoítos se multiplican formando cúmulos citoplasmáticos, que se denominan pseudoquistes. Al estallar la célula parasitaria, los taquizoítos pueden infectar nuevas células; algunos, se multiplican de manera intracelular, por un periodo indeterminado y con el tiempo se enquistan para finalmente albergar bradizoítos; cada quiste según su tamaño puede contener desde centenares a millares de unidades (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). Estos quistes se forman porque el hospedero empieza a desarrollar inmunidad y la infección de aguda pasa a ser latente (Atías, 1998).

Desde el punto de vista biológico, los bradizoítos difieren de los taquizoítos en su capacidad para sobrevivir al proceso digestivo del estómago. El tamaño de los quistes tisulares es variable y se forman principalmente en el SNC, músculos y órganos viscerales, siendo los quistes tisulares en músculos más grandes que los del cerebro (Dubey, 1994) y tal vez persistan durante toda la vida del hospedero. La persistencia del parásito de forma latente confiere a la mayoría de animales una eficaz resistencia frente a futuras reinfecciones como manifestación típica de premunición, pero a su vez, asegura la infección de un probable predador.

## **2.2 EPIDEMIOLOGÍA:**

La toxoplasmosis es una zoonosis cosmopolita, con diversos hospederos y cuya transmisión puede darse de diversas maneras en forma natural. Las investigaciones que refieren su distribución indican frecuencias muy elevadas en varias regiones (Blood *et al.*, 1992).

De la variedad de hospedadores intermediarios de *Toxoplasma gondii*, los herbívoros y los omnívoros son los más eficaces. En ellos la ingestión de ooquistes representa la principal o única vía de infección. Tanto los quistes (bradizoítos) alojados en músculos y vísceras de diversas especies animales como la presencia de ooquistes fecales de félidos en las pasturas son importantes para mantener la infección en la naturaleza. Los taquizoítos desempeñan una función en la transmisión intrauterina de varias especies animales incluido el hombre (Acha y Szyfres, 1992).

### **2.2.1. PARÁSITO**

Las diversas formas de transmisión del parásito influyen en la distribución de la enfermedad.

Existen 3 vías de transmisión:

1. Ingestión de ooquistes eliminados con las heces del felino, los que pueden contaminar pasturas, alimentos y agua; La supervivencia de éste es un determinante importante en la distribución y conservación de la enfermedad en la naturaleza (Dubey *et al.*, 1997 b). En la propagación de ooquistes tienen un rol importante los vectores: cucarachas, moscas y gusanos de tierra por la diseminación mecánica que realizan. El ooquiste constituye el eslabón más importante de la cadena epidemiológica del *Toxoplasma gondii* (Atías, 1997). Sin embargo sólo los felinos son eliminadores de ooquistes (Rojas *et al.*, 1989). Los herbívoros como los ovinos, caprinos, bovinos y camélidos sudamericanos adquieren la infección por ingestión de ooquistes esporulados en los pastizales contaminados con heces de gatos o felinos.

2. Ingestión de taquizoítos a través del carnivorismo (caza de ratones y aves silvestres). Es poco frecuente porque los pseudoquistes son muy lábiles (Ameghino, 1991).
3. Ingestión de bradizoítos contenidos en quistes, por carnivorismo también. Es la forma más frecuente.

Los ooquistes tienen mayor capacidad infectiva que los bradizoítos y taquizoítos a través de la infección oral. Sin embargo, se han llegado a encontrar bradizoítos hasta después de tres años de la infección inicial, pues la membrana no provoca reacción inflamatoria en los tejidos adyacentes (Leguia *et al.*, 1987).

Otras modalidades menores de transmisión incluyen a la transfusión de líquidos o trasplantes de órganos (Dubey y Lappin, 2000).

### **2.2.2. HOSPEDEROS**

Se considera como hospedero definitivo a los felinos domésticos y silvestres, quienes desarrollan exclusivamente el ciclo enteroepitelial y también el ciclo extraepitelial. Sólo los felinos son eliminadores de ooquistes, y a efectos epidemiológicos para los animales domésticos y el hombre, el gato es el factor más importante en el ciclo biológico de este parásito (Rojas *et al.*, 1989). En los gatos y felinos silvestres, la forma de infección más frecuente es a través de la ingestión de tejidos infectados con quistes tisulares que contienen bradizoítos (Luzón *et al.*, 1997). El comportamiento del gato condiciona la primoinfección, que ocurre mayormente entre los 6 meses y el año de edad, que es cuando comienzan a cazar y a comer ratones, ratas, pájaros o carne que contienen quistes tisulares de *Toxoplasma gondii* (Flores, 1991).

El felino con infección activa elimina millones de ooquistes durante cerca de 15 días originando una gran diseminación en el medio ambiente (Acha y Szyfres, 1992; Velasco-Castrejón *et al.*, 1992), para

luego adquirir inmunidad quedando como un portador sano. Aunque se considera que los gatos son inmunes a una nueva eliminación de ooquistes, pueden excretar unos cuantos después de un nuevo reto con cepas diferentes más de seis años después de la primoinfección (Dubey, 1995).

Otras especies como los ovinos, caprinos, vacunos, equinos, porcinos, aves e incluso los felinos son considerados como hospederos intermediarios, debido al desarrollo de la fase extraintestinal (Luzón *et al.*, 1997). Los herbívoros como los ovinos, caprinos, bovinos y camélidos sudamericanos adquieren la infección por ingestión de ooquistes esporulados en los pastizales o agua contaminados con heces de gatos domésticos o félidos silvestres (Leguía *et al.*, 1998).

La Toxoplasmosis congénita es más importante en ovinos y caprinos debido al peligro de muerte embrionaria, aborto o el nacimiento de crías con lesiones cerebrales u oculares que generalmente mueren a los pocos días de nacidos y, al igual que en humanos, sólo se produce una vez cuando las borregas adquieren la primoinfección durante la preñez.

La presencia de felinos domésticos o silvestres en nuestro medio, convierte a la toxoplasmosis en un problema zoonótico por su alto porcentaje de incidencia y la existencia de zonas hiperendémicas (Rojas, 1990). El hombre puede contaminarse por la ingestión de quistes de toxoplasma contenidos en carnes infectadas poco cocidas procedentes de rumiantes, cerdo, etc; y vegetales crudos mal lavados contaminados con ooquistes esporulados procedentes de las heces de los gatos infectados con los que convive (Leguía *et al.*, 1998).

### **2.2.3. MEDIO AMBIENTE:**

Un felino infectado puede eliminar ooquistes durante una a dos semanas y una sola deyección puede contener millones de ellos. (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).



El instinto natural del gato de enterrar o esconder sus heces brinda el ambiente protector para la supervivencia de los ooquistes, pero el calor y una temperatura de 64 °C los destruyen; Los quistes son susceptibles a la destrucción cuando se congelan a - 20 °C por varias horas y luego se descongelan (Dubey, 1994).

Vectores mecánicos como cochinillas, lombrices de tierra y moscas caseras contienen ooquistes, y que las cucarachas, caracoles ectoparásitos, hematófagos o no, como pulgas, piojos, chinches son vectores mecánicos adicionales (Pizzi, 1997; Dubey y Lappin, 2000).

Además los ooquistes sobreviven mejor en pisos húmedos y cálidos, con temperaturas alrededor de 25°C y suficiente oxígeno, alcanzando su estado infectante en un lapso de uno a tres días, siendo éstos los factores que ayudan a explicar la alta prevalencia de la enfermedad en climas templados y tropicales. Los esporulados sobreviven en el suelo por 18 meses o más, en especial si están cubiertos y lejos de la luz solar directa. Resisten casi todos los desinfectantes, pero mueren con el calor y a una temperatura de 45°C se destruyen; sólo el amoníaco al 10% es efectivo cuando contacta las superficies contaminadas por largos períodos (Dubey *et al.*, 1998).

Los quistes son susceptibles a destrucción cuando se congelan a -20°C por varias horas y luego se descongelan; así también si se calientan a 66°C o más, la desecación, o cuando se exponen en agua destilada por 30 minutos; sin embargo, pueden sobrevivir temperaturas de 4°C por aproximadamente 2 meses y en los tejidos durante varios días después de la muerte. Los bradizoítos dentro de los quistes no son accesibles a los fármacos de uso actual (Freij, 1991).

La toxoplasmosis humana en nuestro país, constituye un serio problema zoonótico dado su alto porcentaje de incidencia y la existencia de zonas hiperendémicas. Las características epidemiológicas de esta zoonosis determinan que la mayor prevalencia de la parasitosis se presenta en los departamentos de la selva, siguiendo los de la costa y en menor frecuencia la sierra (Tejada y Balbin, 1989).

Los departamentos de la selva como San Martín y Loreto, la ceja de selva de los departamentos de la sierra como Huancavelica, Pasco y Cuzco; y la costa como La Libertad, Piura, Lima y Ancash, son regiones enzoóticas debido a la alta densidad poblacional de gatos, así como las condiciones ecológicas de los departamentos señalados, estando presente la infección en todos los departamentos del país. En 1986, la prevalencia de toxoplasmosis en la selva central fue entre 75 y 85% en las diferentes comunidades estudiadas, pudiendo ser consideradas como una de las tasas de prevalencia más altas a nivel mundial (INEI, 1995).

La transmisión del toxoplasma por consumo de carnes es muy frecuente en los países desarrollados, donde la primoinfección ocurre preferentemente en adolescentes y adultos jóvenes. La infección por formas libres o taquizoítos son accidentales y poco frecuentes, pero suelen ser las más graves; la infección puede ocurrir a través de la sangre, por vía trasplacentaria o por transfusiones repetidas, especialmente glóbulos blancos, en individuos inmunocomprometidos (Miller *et al.*, 1972).

#### **2.2.4. FACTORES DE RIESGO**

El principal factor de riesgo es la presencia de félidos (hospedero definitivo), tanto domésticos como silvestres: que estarían contaminando los pastos con sus heces conteniendo ooquistes. Así también grupos etarios, zona de producción, sexo y sistema de manejo, serían factores de riesgo que posiblemente estarían implicados en la adquisición de la toxoplasmosis.

##### **2.2.4.1. PRESENCIA DE FÉLIDOS**

Los felinos eliminan ooquistes de tipo coccidiano muy resistentes, por lo cual el gato es esencial en el ciclo biológico del parásito. En investigaciones realizadas la infección por *Toxoplasma gondii* prácticamente no existe en el hombre y en los animales, en zonas en las que no hay gatos (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

Un gato infectado puede eliminar ooquistes durante una a dos semanas y una sola deyección puede contener millones de ellos. A pesar de ello, probablemente sólo el 1% o menos, de los gatos infectados eliminan ooquistes en un determinado momento. (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

#### **2.2.4.2. EDAD O GRUPO ETARIO**

La prevalencia del *Toxoplasma* se incrementa con la edad, existe mayor riesgo de exposición al parásito a medida que aumenta la edad en los animales (García Vásquez *et al.*, 1990). Se observa el mismo comportamiento de riesgo de infección en humanos al aumentar la edad; pudiendo llegar hasta el 100% en zonas tropicales (Dubey, 1994); este fenómeno se produce debido a que los animales de mayor edad tienen mayor oportunidad de ponerse en contacto con el agente patógeno, y por ende presentar mayores niveles de anticuerpos. Otras investigaciones demuestran que la tasa de prevalencia se incrementa con la edad (Acha y Szyfres, 1992; Botero y Restrepo, 1998).

#### **2.2.4.3. ÁREA GEOGRÁFICA**

Se han reportado mayores seroprevalencias en zonas de climas cálidos, húmedos o tropicales y menores prevalencias en zonas áridas y frías del mundo (Dubey y Lappin, 2000). Con relación a la altitud, se han observado diferencias entre las tasas de prevalencia y las más altas tasas corresponden a las áreas de menor elevación sobre el nivel del mar (Acha y Szyfres, 1992).

#### **2.2.4.4. SISTEMA DE EXPLOTACIÓN**

El sistema de explotación representa una variable de riesgo, se ha encontrado que en sistemas intensivos existe mayor exposición de los animales a alimentos contaminados (Luzón *et al.*, 1997). La contaminación de los alimentos almacenados con heces de gato es una de las principales fuentes de infección para el ganado.

En caso de explotaciones extensivas los felinos silvestres (Puma, jaguar) serían los principales responsables de la difusión de esta enfermedad en los rumiantes, toda vez que los félidos silvestres pueden sustituir al gato en las circunstancias epizootiológicas en las que éste último animal no interviene (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

#### **2.2.4.5. ESTACIONALIDAD**

El cambio de estaciones puede influir en la infección, así en investigaciones realizadas en Noruega y Nueva Zelanda, se detectaron tasas más altas de seroprevalencia de toxoplasmosis ovina durante los meses de otoño e invierno que durante el verano, probablemente debido a una mejor conservación de los ooquistes en las épocas frías y a que había menor longitud de la hierba en dichas épocas, obligando a los animales a comer el pasto más cercano al suelo (Luzón *et al.*, 1997). Sin embargo se sabe que para la óptima sobrevivencia de los ooquistes se requiere de suelos húmedos y climas templados, con temperaturas alrededor de 25 °C (Dubey, 1994).

#### **2.2.5. PREVALENCIA**

Se han realizado en diferentes países diversos estudios de seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en variadas especies, incluyendo el hombre; presentando resultados contundentes que dan evidencia serológica de esta infección. Confirmando así la condición cosmopolita de la enfermedad tanto en animales domésticos como silvestres, y en el hombre (Soulsby, 1987).

En el Perú han sido reportadas seroprevalencias en diversas especies domésticas así, en llamas variaron entre 10 y 32% (Gómez *et al.*, 2003; Saravia *et al.*, 2004), alpacas 21 y 53% (Poma, 2003; Gómez *et al.*, 2003), porcinos 27.7% (Saavedra y Ortega, 2004), bovinos 17% (Tejada y Balbin, 1989), vicuñas 14.9% (Pastor *et al.*, 2003) en ovinos 39 y 85% (Rojas, 1990; Caldas 2005), en caprinos 57.9% (Vidal, 1990).

En países ovejeros como Nueva Zelandia y Australia, se ha estimado entre 5 - 50% de pérdidas de corderos debido a la toxoplasmosis (Hartley y Marshall, 1967). Exámenes serológicos en los EEUU revelaron que el 28%, 26%, 27%, 25%, de ovinos, cerdos, cabras, bovinos, respectivamente, presentaron anticuerpos al *Toxoplasma* (Vanderwagen *et al.*, 1974). En un estudio en 73 Felinos silvestres (*Oncifelis geofroyi*, *Felis colocolo* y *Felis eira*) llevado en Argentina se encontró un 59% de reactores serológicos (Pizzi *et al.*, 1978). La prevalencia hallada en felinos en la República Checa fue de 61.3% (Svobodová *et al.*, 1998), mientras que en búfalos de agua de Sao Paulo Brasil, reportaron seropositividad a *T. gondii*, de 49.9% (Melo de Souza *et al.*, 2001), y en el Estado de Bahía se halló, 3.85% (Gondim *et al.*, 1999).

La presencia de felinos domésticos o silvestres en nuestro medio, convierte a la toxoplasmosis en un problema zoonótico por su alto porcentaje de incidencia y la existencia de zonas hiperendémicas (Leguía *et al.*, 1998).

En el Perú, en departamentos de la selva y ceja de selva como San Martín y Loreto, Huancavelica, Pasco y Cuzco; y en la costa, la Libertad, Piura, Lima y Ancash, son regiones enzoóticas debido a la alta densidad poblacional de gatos, así como las condiciones ecológicas de los departamentos señalados, estando presente la infección en todos los departamentos del país. En 1986, la prevalencia de toxoplasmosis en la selva central fue entre 75 y 85% en las diferentes comunidades estudiadas, pudiendo ser considerada como una de las tasas de prevalencias más altas del mundo (INEI, 2000).

#### **2.2.6. IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA**

La toxoplasmosis es una zoonosis que cobra cada vez mayor importancia en la salud pública, debido a que no solo representa una apreciable causa de mortalidad perinatal y fundamentalmente de morbilidad neonatal, principalmente lesiones oculares de intensidad variable y alteraciones cerebrales graves (Frenkel *et al.*, 1995); Hoy en día el panorama se tornó más severo con el advenimiento del

Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), enfermedad que permite que la toxoplasmosis cause graves disturbios, principalmente en el sistema nervioso central (Amato Neto *et al.*, , 1995).

Mundialmente alrededor de 500 millones de personas presentan anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*, la seroprevalencia se eleva, casi a 100% en zonas de climas cálidos, húmedos o tropicales y menor en las regiones áridas y frías del mundo (Dubey y Lappin, 2000). Las personas se infectan por ingerir carne cruda o mal cocida infectada con bradizoítos (por lo general en la carne de cerdo, cabra o cordero) (Choi *et al.*, 1997). Otras fuentes de infección son la ingestión de alimento contaminado con ooquistes, ingestión de leche cruda de cabra (Chiari y Neves, 1984) transfusiones sanguíneas, transplantes de órganos y accidentes de laboratorio (Dubey y Lappin, 2000).

En Perú dado a la alta tasa y la existencia de zonas hiperendémicas, la toxoplasmosis en humanos, constituye un serio problema zoonótico (Herrera y Medina, 1993). La mayor prevalencia de la parasitosis se presenta en los departamentos de la selva, siguiendo los de la costa y menor frecuencia en la sierra (Tejada y Balbín, 1989).

La infección primaria en la mujer gestante y consecuentemente, la infección transplacentaria del feto, y la reactivación o infección en personas con inmunodeficiencia son los aspectos más importantes de la toxoplasmosis humana (Luft y Remington, 1989).

Es importante indicar que las vías principales de transmisión en el hombre varían de acuerdo a la realidad medio ambiental y cultural de cada país o región. En países con baja prevalencia de *Toxoplasma gondii* como por ejemplo Estados Unidos, la infección se da generalmente en el adulto por la ingesta de carne cruda o mal cocida (Frenckel *et al.*, 1995), pero en países centroamericanos como Guatemala o Costa Rica, la alta prevalencia del parásito se atribuye a la ingesta de ooquistes especialmente durante la infancia (Feldman, 1982), estas variaciones probablemente se atribuyen a factores geográficos y climáticos, diferencias culturales entre las poblaciones como hábitos alimenticios (Velasco – Castrejon *et al.*, 1992; Atías, 1997; Tenter *et al.*, 2000).

### 2.3 PATOGENIA:

Tras la ingestión de quistes tisulares u ooquistes, la acción de enzimas digestivas rompe la cubierta quística, liberando los esporozoítos a la luz del intestino, penetrando en el interior de diferentes tipos de células de la mucosa y submucosa intestinal, tanto por invasión activa como por fagocitosis (Leguía y Casas, 1999).

La invasión activa se da cuando el conoide de *Toxoplasma gondii*, situado en el polo anterior, toma contacto con la membrana plasmática celular y libera enzimas proteolíticas que la disuelven, permitiendo así su entrada en células no fagocíticas en un tiempo mucho menor que el que invertiría en ser incorporado por fagocitosis.

Al penetrar en una célula, el *Toxoplasma gondii* es separado del citoplasma celular por una vacuola parasitófora sintetizada conjuntamente por el parásito y por la célula hospedera (Speer y Dubey, 1989; Barberan y Marco, 1997), en el interior de la cual los taquizoítos se multiplican formando clones o pseudoquistes. Cuando el número de taquizoítos acumulado en la vacuola es muy elevado la célula se rompe, permitiendo su liberación al medio extracelular y la invasión de nuevas células. Este mecanismo permite la multiplicación rápida de *Toxoplasma gondii* en los primeros días post-infección y su posterior difusión a los ganglios linfáticos mesentéricos, donde una elevada proporción de taquizoítos son destruídos (Vidal, 1990).

La fase de parasitemia suele durar una semana (4 a 10 días postinfección), los taquizoítos libres o incluídos en macrófagos, linfocitos o neutrófilos son transportados por vía sanguínea y más frecuentemente por vía linfática, hacia los diferentes tejidos donde dan lugar a pequeños focos de necrosis rodeados de células inflamatorias, especialmente mononucleares.

La gravedad de las lesiones que produce depende del grado de destrucción tisular originada directamente por la multiplicación de taquizoítos en el interior de las células y agravada en ocasiones por la reacción inflamatoria que se instaura. Si la infección alcanza niveles altos, los animales pueden morir en esta fase (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

La forma subaguda de la enfermedad se caracteriza por la aparición de anticuerpos, que eliminan los taquizoítos de la sangre y tejidos (hígado, bazo, pulmones); pero los parásitos que se encuentran en el cerebro tardan más en desaparecer (forma crónica) (Soulsby, 1987).

La característica principal de la forma crónica, es la persistencia de bradizoítos dentro de los quistes, que pueden durar bastante tiempo (hasta 10 meses en el perro y hasta 3 años en ratones y palomas).

El *Toxoplasma gondii* coloniza el hígado, pulmón, bazo, cerebro y en menor medida los riñones, músculos esqueléticos y corazón multiplicándose tanto en células parenquimatosas como en células fagocíticas (Freij y Sever, 1991).

Durante la segunda semana post-infección, la multiplicación de los taquizoítos disminuye progresivamente, llegando a cesar completamente. En esta fase es cuando el *Toxoplasma gondii* se enquista. No se conocen bien los factores que influyen la formación de quistes intracelulares, aunque son más numerosos en la fase crónica de la enfermedad cuando los animales ya han desarrollado los mecanismos de inmunidad humoral y celular (Tizard, 1998).

### **2.3.1. PROBLEMAS REPRODUCTIVOS:**

En el caso de hembras y mujeres gestantes, los taquizoítos llegan también al útero durante la fase de parasitemia y se multiplican en los cotiledones, originando pequeños focos de necrosis. A diferencia de lo que ocurre en otros órganos, los taquizoítos se multiplican constantemente en las células de los cotiledones placentarios y no se enquistan. No se conoce la razón de este mecanismo. Por una parte es



posible que ésta proporcione condiciones adecuadas de nutrición que permitan la multiplicación y persistencia de taquizoítos (Jarvinen *et al.*, 1999).

Cuando la infección se produce durante el primer tercio de gestación, es decir antes de los 50-60 días, El feto aún no es inmunocompetente, no puede evitar la multiplicación y diseminación del parásito por los diferentes tejidos fetales, en los que origina múltiples focos de necrosis. Si el feto se infecta en el último tercio de gestación, cuando ya es inmunocompetente, su sistema inmune es capaz de activarse, y la multiplicación del parásito se ve dificultada. Las causas del aborto no se conocen bien, ya que las lesiones fetales no siempre son extensas y en ocasiones nacen animales sanos de placentas fuertemente lesionadas (Rojas *et al.*, 1989).

La muerte del feto se puede producir como consecuencia de las graves lesiones que origina la colonización y multiplicación de *Toxoplasma gondii* en los placentomas, las cuales impiden la adecuada transferencia de oxígeno al feto, lo que invariablemente ocasiona lesiones cerebrales. En algunos casos la anoxia fetal se vería agravada por la acción de sustancias tóxicas liberadas en la destrucción tisular de la placenta (Atías, 1994). Cabe señalar que en ausencia de lesión placentaria en rumiantes, no hay pasaje de IgG de la madre al feto, por lo que una incrementada tasa de anticuerpos en la cría será evidencia de toxoplasma congénita (Rojas, 1990).

#### **2.4 INMUNIDAD:**

La respuesta inmune contra *Toxoplasma gondii*, activa tanto la inmunidad humoral (anticuerpos) como la celular (linfocitos T y sus productos).

Al penetrar en forma activa dentro de la célula inhibe la fusión del fagosoma con los lisosomas de la célula, permitiendo que el taquizoito se multiplique rápidamente (Tizard, 1998; Llop *et al.*, 2001), esto origina la distensión y rotura de las células parasitadas con la respectiva liberación de taquizoítos e invasión de nuevas células hospederas.

Se activan y se ponen en funcionamiento una serie de mecanismos inmunológicos, hay producción de anticuerpos y respuesta inmunitaria mediada por células. El primer contacto se lleva a nivel de los macrófagos, quienes activan la inmunidad T dependiente. Los anticuerpos, al actuar en conjunto con el complemento, pueden eliminar a los microorganismos libres en los líquidos corporales, y así disminuyen la diseminación del microorganismo entre las células (Frenkel, 1986; Barriga 1997).

Los primeros anticuerpos inducidos por el *Toxoplasma gondii* en el hospedero son tipo Ig M que aparecen en la fase aguda, posteriormente la aparición de anticuerpos tipo Ig G establece la fase crónica del proceso. Los anticuerpos tipo IgM se positivizan a partir de la primera semana, alcanzando la máxima concentración al mes; los anticuerpos tipo IgG se elevan a partir de los 12 a 14 días, alcanzando el pico máximo alrededor de los 2 a 3 meses y permanecen durante toda la vida del individuo. Esta cinética puede variar con el individuo (Pizzi, 1997).

Frente a la reacción del sistema inmune del hospedero, el *Toxoplasma gondii* adopta la forma de quiste y se recluye en los órganos del sistema retículo endotelial. Se establece un equilibrio entre el parásito y el hospedero, a esta infección persistente se denomina premunición e inmunidad concomitante (Pizzi, 1997; Barberan y Marco 1997; Tizard, 1998).

La presencia de quistes, está íntimamente relacionada con el desarrollo de la inmunidad; si desciende la inmunidad, los bradizoítos pueden dar lugar a una nueva proliferación de taquizoítos y si se recupera la inmunidad, pueden volver a formarse quistes con bradizoítos a partir de los taquizoítos; aunque, la formación de bradizoítos puede tener lugar en ausencia de inmunidad.

La inmunidad celular juega un rol importante en la resistencia a las reinfecciones. El factor específico más importante en la inmunidad protectora es la célula linfática sensibilizada; al examinar por separado suspensiones de linfocitos con inmunidad específica y no específica combinados con macrófagos, los primeros desempeñaron una función decisiva (Tizard, 1998).

Los linfocitos T sensibilizados liberan interferón gamma principalmente como una respuesta a las ribonucleoproteínas de Toxoplasma. Este interferón gamma puede actuar sobre los macrófagos, primero para hacerlos resistentes a los efectos mortales de Toxoplasma, y segundo, para ayudarlos a matar a los microorganismos intracelulares, ya que permite la fusión de los lisosomas con los fagosomas, por tal motivo también es denominado factor activador de macrófagos (FAM). En cultivos de fibroblastos el interferón gamma provocó la degradación del triptófano, lo que a su vez limitó la proliferación del protozoo. A mayores concentraciones de triptófano aumenta la cantidad de interferón necesaria para producir actividad antitoxoplásmica demostrable (Frenkel, 1986).

Algunos de estos linfocitos T pueden liberar también factores que interfieren de manera directa con la reproducción del Toxoplasma. Además, los linfocitos T citotóxicos también pueden destruir a los taquizoítos de Toxoplasma y a las células infectadas por dicho parásito.

A través de estos distintos mecanismos, las respuestas inmunitarias mediadas por anticuerpos y mediadas por células actúan en forma conjunta para asegurarse de la eliminación del microorganismo en su estadio de taquizoíto.

Los linfocitos procedentes de animales infectados con Toxoplasma son capaces de activar a los macrófagos que, por ello, aumentan su capacidad para destruir a los parásitos y a otros organismos intracelulares.

El otro mecanismo inmunológico observable en la toxoplasmosis es la hipersensibilidad. Esta reacción puede contribuir de manera significativa con la patogénesis de la enfermedad. Es probable que una reacción de hipersensibilidad de tipo IV contribuya a la reacción inflamatoria que aparece cuando los quistes del Toxoplasma se rompen y liberan taquizoítos nuevos (Atías, 1994).

La inmunidad que sigue a la infección aguda suele estar relacionada con una infección persistente, estado que se denomina inmunidad concomitante. Este es un mecanismo por el cual el parásito asegura su supervivencia en la naturaleza.

Se piensa que la toxoplasmosis clínica en pacientes con SIDA es debida a una reactivación de una infección crónica, probablemente mediado por deficiencia de linfocito TCD4+ (Gazzinelli *et al.*, 1993).

## **2.4 SIGNOLOGÍA Y LESIONES:**

### **2.4.1 TOXOPLASMOSIS EN ANIMALES DOMÉSTICOS:**

#### **2.4.1.1 TOXOPLASMOSIS EN EL GATO**

En el gato la sintomatología característica de la toxoplasmosis postnatal se manifiesta con anorexia, letargo y disnea por neumonía. Otros signos clínicos comprenden fiebre persistente o intermitente anorexia, pérdida de peso, ictericia por hepatitis o colangiohepatitis, vómitos, diarrea, derrame abdominal, linfadenomegalia, esplenomegalia, hiperestesia a la palpación muscular, rigidez en la marcha, cojera cambiante de la pierna y déficit neurológicos (Ataxia, rodeo, cambios conductuales, convulsiones, sacudidas y temblores) (Dubey, 1995; Lappin *et al.*, 1996).

Los signos clínicos pueden ser súbitos o de inicio lento, y en algunos gatos con signos respiratorios o del sistema nervioso central graves, suelen ser rápidamente mortales. Sin embargo en ciertos gatos se desarrolla toxoplasmosis ocular sin otros signos sistémicos de la enfermedad y resulta frecuente la uveítis anterior o posterior que afecta uno o ambos ojos (Lappin *et al.*, 1989; Lappin *et al.*, 1992; Dubey, 1995).

La toxoplasmosis felina clínica, puede volverse recurrente con la terapéutica con glucocorticoides, hemobartonelosis, infecciones por virus de la leucemia felina (FELV) y de la inmunodeficiencia (FIV) y peritonitis infecciosa felina (Lin *et al.*, 1992; Davidson *et al.*, 1993). En contraste, no se comprobó que las infecciones experimentales por FIV y FeLV en gatos causaron reactivaciones o infecciones agudas más graves (Lappin *et al.*, 1992; Lappin *et al.*, 1996;).

La infección vía transplacentaria la enfermedad es más grave, los crías afectadas pueden nacer muertas o morir antes del destete. Los signos clínicos indican inflamación de hígado, pulmones y SNC (Dubey *et al.*, 1995).

#### **2.4.1.2 TOXOPLASMOSIS OVINA**

En el ovino es uno de los principales causantes de infertilidad, mortalidad pre, peri y post-parto (Gorman *et al.*, 1999). Causando daños económicos considerables.

Infecciones durante el primer tercio de la gestación conducen a la muerte y reabsorción fetal, consiguientemente la gestación puede pasar inadvertida. Infecciones entre 120 a 160 días de gestación produce muerte fetal. Pero puede suceder la expulsión del feto con hallazgo de placentitis y parásitos en las membranas fetales; y retención del feto y subsiguiente momificación del mismo. Algunos fetos pueden sobrevivir algunas semanas y llegar a término, pero nacen enfermos y mueren al nacer (Leguía *et al.*, 1998).

En la última etapa de la gestación la infección se torna congénita del feto, dando lugar al nacimiento de corderos aparentemente normales, algunos mueren dentro de 3 días de nacidos (Contreras y Tejada, 1974; Góngora, 1992). Las prevalencias de la enfermedad encontradas en ésta especie son de 39% (Reif *et al.*, 1989) y 83% (Tejada y Balvín, 1989).

#### **2.4.1.3 TOXOPLASMOSIS PORCINA**

La infección del cerdo por *Toxoplasma gondii* está difundida por todo el mundo, cursando en la mayoría de los casos de forma subclínica, ocasionalmente se presentan brotes de toxoplasmosis clínica, generalmente en animales jóvenes, aumentando al parecer la resistencia con la edad, encontrándose una prevalencia de 25.16% (Bustamante, 2000) y 50% (Tejada y Balvín, 1989).

Las manifestaciones clínicas denotan aborto, parto prematuro o crías débiles que no sobreviven. Signos respiratorios (tos y disnea), fiebre ligera o verdadera hipertermia de 40 a 41.6°C, anorexia, apatía, temblores, debilidad, tambaleo, cianosis, flujo ocular, diarrea, incoordinación motora y otros signos encefalíticos. Orquitis, nefritis, neumonía, vértigos y tumefacción testicular (Jacobs *et al.*, 1960; Soulsby, 1987; Flores, 1991).

#### **2.4.1.4 TOXOPLASMA EN BOVINOS**

Los bovinos están entre los hospederos intermediarios más resistentes a *Toxoplasma gondii*; Los mecanismos de la resistencia al parásito son aún desconocidos, sin embargo, experimentos realizados donde vacunos son inoculados oralmente con ooquistes demuestran que el *Toxoplasma gondii* puede multiplicarse en tejidos viscerales pero son rápidamente eliminados de los tejidos, esto sugiere que los vacunos no adquieren con facilidad infecciones persistentes. El *Toxoplasma gondii*, no es excretado en la leche de vaca y no está documentado casos en que el parásito provoque abortos en vacas. El diagnóstico diferencial de *Toxoplasma gondii* con otros protozoarios causantes de abortos en vacas es discutible.

El cuadro es diferente cuando se trata de terneros, donde el parásito puede producir cuadros de fiebre, disnea, tos, flujo nasal, inapetencia, dorso hundido, decúbito permanente, depresión, temblores de la

cabeza y el cuello, ataxia, irritabilidad y otros síntomas del sistema nervioso central, descubriéndose los microorganismos únicamente en los ganglios linfáticos y sólo durante unas cuantas semanas (Flores, 1991).

#### **2.4.1.5 TOXOPLASMOSIS EN EQUINOS**

Los equinos como hospedadores intermedios pueden padecer la infección por *Toxoplasma gondii*, se considera que esta especie animal es poco receptiva al desarrollo de la enfermedad y a la persistencia del parásito en los tejidos. La seroprevalencia de la infección por *Toxoplasma gondii* en caballos de Europa y América del Norte es de un 15-30% (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

Los casos de enfermedad clínica en équidos atribuibles a la infección por *Toxoplasma gondii* son poco frecuentes. Ocasionalmente se ha detectado post mortem la presencia del parásito en équidos con signos de encefalomiелitis progresiva, ataxia, movimientos en círculo, paresia, ceguera aparente, disfagia, dificultad respiratoria, etc., observándose en dichos animales lesiones hemorrágicas focales y acúmulos perivasculares de linfocitos y macrófagos en el cerebro y médula espinal, así como mielomalacias multifocales (Flores, 1991).

#### **2.4.2 TOXOPLASMOSIS EN HUMANOS:**

Probablemente, cientos a miles de casos de toxoplasmosis humana pasan desapercibidos, debido a que las manifestaciones clínicas se reducen a una ligera fiebre y a un discreto aumento del tamaño de los ganglios linfáticos (Soulsby, 1987). Se estima que por lo menos un tercio de la población mundial posee anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*, donde la tasa de reactores positivos aumenta con la edad, alcanzando su nivel máximo entre los 20 a 50 años (Acha y Szyfres, 1992) es considerada una de las enfermedades zoonóticas más difundidas a nivel mundial,

En general la mayoría de las infecciones en humanos transcurren en forma asintomática en individuos inmunocompetentes, o con ligera sintomatología no específica (Botero y Restrepo, 1998) siendo las infecciones clínicas raramente fatales. Con el advenimiento del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), este protozooario pasa a ser uno de los agentes oportunistas más importantes, causante de síntomas graves (Soulsby, 1987; Gallant, 2001).

La infección puede ser congénita o adquirida. Generalmente la infección adquirida después del nacimiento es menos grave que la congénita, en personas inmunológicamente competentes, debiendo sospecharse cuando existen linfadenopatías, fiebre, linfocitosis, meningoencefalitis, lesiones oculares de origen dudoso y miocarditis (Vásquez, 1988). El período de incubación varía entre ocho a veintiún días y la forma clínica más común es la ganglionar, que se presenta como una linfadenopatía afebril o febril de la región de la cabeza y el cuello (Atías, 1994).

Los ganglios más afectados son los cervicales y supraclaviculares y pueden ser indoloros o sensibles a la palpación, las adenopatías pueden ser múltiples y diseminadas, localizadas e incluso únicas. (McCabe *et al.*, 1987). Las adenopatías retroperitoneales y mesentéricas pueden causar dolor abdominal. El cuadro puede durar una o varias semanas (Atías, 1997). En la infección adquirida es poco frecuente la localización ocular y se considera que su presentación, puede ser debida a una infección prenatal con recidivas posteriores (Botero y Restrepo, 1998).

La transmisión congénita de *Toxoplasma gondii* se da cuando el primer contacto con el parásito se produce durante la gestación, a mayoría de las veces la transmisión es transplacentaria (Botero y Restrepo, 1998; Atías, 1991).

En mujeres embarazadas, un 90% de los casos es asintomático. La sintomatología en la infección clínica, se manifiesta con fiebre, malestar general, cefalea, mialgias, odinofagia, hepatomegalia y esplenomegalia (Llop *et al.*, 2001).



Dependiendo en que momento de la gestación se produzca la infección, las manifestaciones clínicas de la toxoplasmosis congénita varían (Acha y Szyfres, 1992; Atías, 1997; Botero y Restrepo, 1998). Las lesiones que ocurren en el primer trimestre de la gestación son más graves que las ocasionadas en el segundo y tercer trimestre (Llop *et al.*, 2001).

En el primer trimestre generalmente se produce aborto, si el embarazo llega a término nacen con profundas alteraciones orgánicas como hidrocefalia, calcificaciones cerebrales, alteraciones oculares y microcefalia. Estos niños tienen una sobre vida muy limitada que no supera el año (Pizzi, 1997).

En el segundo trimestre del embarazo, las lesiones a nivel ocular son generalmente retinocoroitis acompañada de macro o microcefalia, hidrocefalia, calcificaciones. La gravedad de la enfermedad va a depender de la presencia de una o más lesiones al momento del nacimiento. Sin embargo la mayoría de las alteraciones son menores e incluso subclínicas, y los trastornos oculares o neurológicos pueden revelarse meses o años después del nacimiento (Pizzi, 1997; Botero y Restrepo, 1998).

La infección en el tercer trimestre, se caracteriza por una infección generalizada, el neonato tiene la apariencia de un bebe prematuro o inmaduro con un cuadro clínico de tipo séptico caracterizado por fiebre, hepato y esplenomegalía, ictericia y en algunos casos miocarditis o neumonía intersticial (Atías, 1997; Botero y Restrepo, 1998). La mortalidad es muy elevada y llega al 12% si no se hace tratamiento (Botero y Restrepo, 1998).

Puede darse el caso de que la infección sea poco manifiesta y pase desapercibida, sólo se encuentra un niño prematuro sin otra sintomatología en el momento del nacimiento (Botero y Restrepo, 1998).

Trabajos realizados por Tejada y Balvín (1989) en el Perú, muestran que esta enfermedad es de mayor prevalencia en humanos, en los departamentos de la selva, siguiendo los de la costa y en menor frecuencia en la sierra.

## **2.5 DIAGNÓSTICO:**

El diagnóstico clínico es difícil pues los síntomas no son específicos, suelen acompañar a otros procesos patológicos. Tampoco suele observarse sintomatología alguna en los animales gestantes, aunque si la primera infección se produce en esta etapa suele acompañarse, en dependencia de la fase de gestación, de la muerte embrionaria o fetal, con o sin presencia de aborto, de mortalidad neonatal o del nacimiento de animales débiles y/o con malformaciones congénitas (Innes y Esteban-Redondo, 1997).

### **2.5.1 TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS:**

El diagnóstico clínico de la toxoplasmosis se realiza en base a los antecedentes de abortos, presencia de gatos y signos clínicos; el diagnóstico definitivo se determina por medio del laboratorio. Existen otros agentes que pueden causar signos similares y el diagnóstico diferencial debe incluir otros microorganismos como bacterias del género *Brucella*, *Leptospira*, entre otros (Jones, 1973).

Las muestras que se utilizan habitualmente para someterlas a las pruebas de laboratorio son: Suero sanguíneo, médula ósea, líquido cefalorraquídeo, exudados placentarios y fetos abortados; en casos de infecciones neonatales puede ser necesario la biopsia de los ganglios linfáticos, amígdalas palatinas, músculo estriado y líquido ventricular.

#### **2.5.1.1. PRUEBAS SEROLÓGICAS:**

- **Prueba de aglutinación del látex**

Detecta anticuerpos de tipo IgG. La reacción debe practicarse con sueros previamente tratados con el 2-mercaptoetanol, que destruye tanto las macroglobulinas inespecíficas (aglutininas naturales) como los anticuerpos IgM antitoxoplasma. Se calculó una sensibilidad de 82.9% y

una especificidad de 90.29% para la prueba de aglutinación modificada y una sensibilidad de 45.9% y una especificidad de 96.6% para la prueba de aglutinación látex (Dubey, 1995).

- **Prueba de Fijación de Complemento**

Utilizada ampliamente como método de diagnóstico, cuyo valor depende de la calidad del antígeno utilizado. Para el uso clínico, se recomienda emplear un antígeno poco sensible que sólo dé resultados positivos durante las etapas activas de la infección. Así aplicado, este método no detecta la totalidad de las infecciones y, por consiguiente, completa, pero no sustituye, las reacciones anteriormente descritas; un aumento importante de los títulos de la prueba de fijación de complemento indica infección reciente (Soulsby, 1987; Atías, 1994).

- **Prueba de azul de metileno ( Prueba de Sabin y Feldman o Dye Test)**

Mide anticuerpos de tipo IgG, es altamente específica y sensible. Las dificultades técnicas que presenta, limitan su empleo a un reducido número de laboratorios especializados, además no detecta anticuerpos de *Toxoplasma gondii* en muchas especies de aves. El fundamento de la técnica se basa en que los anticuerpos y un factor accesorio (probablemente la properdina) modifican los toxoplasmas vivos, de modo que pueden teñirse con el azul de metileno a un pH de 11 (Dubey, 1994).

- **Prueba de Hemaglutinación Indirecta (HIA)**

El método se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos anti-Toxoplasma de producir aglutinación en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del parásito. El empleo de ambos tipos de antígenos incrementa la sensibilidad del método permitiendo la detección precoz de la infección. Tanto la presencia de antígenos heterófilos como la aparición de inmunoglobulina M, característica del período agudo de la parasitosis, se investigan empleando tratamiento con 2-mercaptoetanol y eritrocitos no sensibilizados para el control y absorción de la heterofilia (Wiener Lab). Toxotest HAI, 2000).

Esta prueba se utiliza como prueba serológica de rutina en muchos laboratorios teniendo una sensibilidad de 81.6% y una especificidad de 97.1%.

- **Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta**

Proporciona resultados en todas las fases de infección, pudiendo detectar anticuerpos específicos contra toxoplasma de tipo IgG o IgM. Es una técnica estable, específica, reproducible, simple y rápida y de fácil disponibilidad. Esta prueba utiliza antígenos muertos estables. Una desventaja de esta técnica es el uso de microscopio de fluorescencia inaccesible a muchos investigadores. Los anticuerpos detectados que reaccionan con antígenos de membrana y citoplasmáticos, aparecen una a dos semanas después de la infección, alcanzando sus niveles máximos en seis a ocho semanas, descendiendo gradualmente durante meses o años y persisten, por lo general, por toda la vida, pudiendo dar falsos positivos por la presencia de anticuerpos antinucleares (Soulsby, 1987; Atías, 1994).

- **ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)**

Esta prueba se utiliza para demostrar antígenos circulantes y anticuerpos IgG e IgM en casos de toxoplasmosis congénita. Los títulos obtenidos con la Prueba de ELISA para anticuerpos específicos IgG correlacionan bien con los obtenidos por la Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta o por la Dye Test. Los anticuerpos IgA contra la superficie proteica P30 del toxoplasma puede ser detectada por la técnica de doble sándwich, con ELISA para anticuerpos específicos IgM tiene una sensibilidad de 97% y una especificidad de 100% (Freij, 1991; Acha y Szyfres, 1992; Suárez et. al. 1999)

### **2.5.1.2 PRUEBAS NO SEROLÓGICAS**

- **Aislamiento del parásito.**

La presencia de *Toxoplasma gondii* puede confirmarse mediante el aislamiento en ratones infectados intraperitonealmente. Al cabo de los 4-6 días post-inoculación se pueden evidenciar

los taquizoítos a partir del líquido ascítico; y al cabo de 4-semanas post-inoculación, es posible evidenciar quistes con bradizoítos en los tejidos, sobre todo, en el sistema nervioso (Cordero del Campillo *et al.*, 1999) a través de la biopsia o necropsia (Innes y Redondo, 1997).

- **Histopatología**

Durante la enfermedad aguda pueden evidenciarse la presencia de taquizoítos en diversos tejidos y líquidos corporales, se puede reconocer por medio del examen microscópico de muestras al fresco o teñidas y en cortes histológicos. La investigación ofrece grandes dificultades y rara vez es concluyente para establecer el diagnóstico (Atías, 1994).

- **Prueba intradermal con toxoplasmina**

Es una prueba de hipersensibilidad retardada, que detecta inmunidad celular; sólo permite detectar infección y es de cierta utilidad para los estudios epidemiológicos. La intensidad de la reacción varía con la calidad del antígeno y con la sensibilidad del sujeto sometido a la prueba. La lectura se hace a las 24, 48, y en lo posible, a las 72 horas de efectuada la intradermorreacción (Atías, 1994). La prueba no indica una infección activa, solo que el individuo ha estado expuesto al parásito (Acha y Szyfres, 1992).

- **PCR (Polymerase Chain Reaction)**

Esta técnica se fundamenta en la amplificación específica de segmentos característicos de sus ácidos nucleicos, el gen B1 o parte del gen P30. Es una técnica muy sensible, capaz de detectar contaminaciones por un único taquizoíto. Ofrece una manera rápida y sensible de detectar al parásito en menos de 24 horas. Debido a su elevada sensibilidad la recogida de muestras debe realizarse con precaución con el fin de evitar contaminaciones de ácidos nucleicos del parásito procedentes de otras fuentes (Ortega- Mora, 1997).

## 2.6. TRATAMIENTO

El tratamiento tanto en el hospedero intermediario como en el definitivo no es completo, debido a que los medicamentos disponibles sólo actúan contra las formas de replicación rápida (taquizoítos) pero no suprimen la infección, pues no destruyen los quistes tisulares (Botero y Restrepo, 1998). Por su buena absorción intestinal los perros y gatos responden muy bien a la terapia con clindamicina contra la toxoplasmosis clínica.

La combinación de sulfametazina y pirimetamina es adecuada en el tratamiento de la toxoplasmosis clínica canina y felina. Esta combinación de fármacos, administrada en tres períodos de 3 días de duración, separados por intervalos de dos semanas, ha sido ensayado con éxito como tratamiento de la toxoplasmosis congénita ovina, evitando la producción de abortos en ovejas preñadas e infectadas experimentalmente con *Toxoplasma gondii* en el segundo tercio de gestación. Se ha confirmado que la administración vitamina B y ácido fólico (10 mg) pueden revertir estos síntomas.

Los medicamentos más utilizados en el hombre son: espiramicina, pirimetamina, trimetoprim, sulfonamidas (Sulfadiazina, sulfametoxazol y sulfadoxina), dapsona y ácido folínico. La combinación de dos drogas es muy utilizada por su acción sinérgica y con la administración adicional de ácido folínico (Atias 1998; Botero y Restrepo, 1998; Llop *et al.*, 2001). La acción sinérgica de la pirimetamina y sulfadiazina constituyen el tratamiento de elección para humanos afectados; éstas muestran un gran sinergismo, en el bloqueo de la ruta metabólica del ácido folínico del Toxoplasma; sin embargo este tratamiento puede producir una depresión; además puede producir una depresión tóxica reversible de la médula ósea.

## 2.7 PREVENCIÓN Y CONTROL

La prevención y el control son la mejor ruta para evitar la infección, basándonos en el ciclo biológico y el rol que representa la eliminación de ooquistes en heces contaminadas de gatos; el control debe estar orientado fundamentalmente a:

Con respecto al hospedero definitivo:

- No alimentar a los gatos con carne o vísceras crudas; y evitar que cazen y coman roedores o aves silvestres (gatos de ciudad).
- Evitar la tenencia de felinos en el área rural, donde se críen animales al pastoreo.
- Educación sanitaria, haciéndose ver el peligro potencial de tener gatos no controlados adecuadamente, poniendo especial atención en el manejo y alimentación de estos animales.
- Evitar que los gatos tengan acceso y defecuen en lugares de almacenamiento de alimentos de los animales (forraje, concentrado, agua, etc.).
- Castración de los gatos como medida para reducir el vagabundeo y la población felina.

Con respecto a los hospederos intermediarios:

- Permitir que pastoreen los vientres de reemplazo en los potreros que pastorearon los animales que abortaron, aplicando la mayor presión de pastoreo posible, con ello, se hará efectiva la infección de las hembras con los ooquistes presentes en la tierra, y de este modo quedarán protegidos contra la toxoplasmosis antes de ser servidas.
- En la mujer gestante se deberá hacer un seguimiento estrecho mensualmente para valorar la posibilidad de una seroconversión y hacer el tratamiento oportuno.
- Lavarse las manos luego de manipular alimentos crudos (carnes, frutas y verduras) así también después de manipular animales y tierras de jardines. Consumir carne bien cocida a más de 67 °C.
- El agua de ríos y lagunas siempre deberá hervirse antes de beberla.

- Extremar las medidas higiénicas al manipular animales abortados especialmente las membranas fetales y no permitir el acceso de felinos a éstos.
- Control ambiental del hogar contra invertebrados (cucarachas, moscas, etc.), y roedores.
- Las personas que trabajen en el campo o en jardines deben ser testeadas para ver su seroconversión.

## 2.8 EL BÚFALO DE AGUA

Los búfalos de agua están clasificados bajo el género *Bubalus*, especie *bubalis*; el *Bubalus bubalis* pertenece a la clase Mammalia, subclase Ungulata, del orden Artiodactyla, suborden Ruminantia, familia Bovidae, subfamilia Bovinae.

La población mundial de búfalos de agua domésticos (*Bubalus bubalis*) alcanza unos 130 millones de animales. Esto representa casi una novena parte de la población de ganado vacuno existente en el mundo. Entre 1961 a 1981, la población mundial de búfalos se ha incrementado en cerca de 11 por ciento. Esto sobre pasa el porcentaje de crecimiento de la población de ganado vacuno. El 97 por ciento de los búfalos de agua del mundo está localizado en Asia. India y Pakistán tienen el mayor número de razas. (Isuiza *et al.*, 1996).

En América Central, en la década del 70 se introdujeron pequeños lotes de animales en Costa Rica y en el Istmo de Panamá. En América del Sur se hallan en la parte Nororiental en Colombia. En las recientes décadas han importado búfalos Venezuela (Hasta 1979 tenía cerca de 7,000 cabezas). En el Brasil se ubican en la Amazonía y en la región de Sao Paulo, en los últimos años la población de búfalos ha crecido intensamente, que ahora es casi de 400,000 animales. Además se encuentran en Ecuador, y Bolivia. En el Perú con las importaciones de búfalos del Brasil durante 1983 y 1984, la población creció a más de 3,000 cabezas (Jiménez, 1981). También se encuentran en Guayana, Surinam, y Guayana Francesa. Trinidad y Tobago ha importado de India diversas razas entre 1905 y 1908 (Isuiza *et al.*, 1996).



Algunas de las características que hacen atractivas la crianza del búfalo de agua son:

- Son una buena alternativa de producción en climas tropicales, y terrenos que no compiten con la agricultura.
- El porcentaje de carcasa limpia es similar al de los vacunos, 55%. La carne de búfalo es magra con una capa delgada de grasa subcutánea (menor a la del ganado vacuno), alta proporción de músculo y baja proporción de hueso. Palatablemente agradable.
- La leche de búfalo tiene más sólidos totales que la leche de vaca, menos agua, más grasa (6-8%), ligeramente más lactosa y más proteína. Altamente calificada para la producción de mantequilla, leche evaporada, leche condensada y gran variedad de quesos (Isuiza *et al.*, 1996).

### **2.13 Crianza de Ganado Bubalino en Jenaro Herrera**

Desde hace 18 años se viene consolidando la crianza del ganado bubalino en el Distrito de Jenaro Herrera, promovido por el Ministerio de Agricultura por medio del Centro de Desarrollo Ganadero de Loreto (CEDEGAL), el mismo que realizó la primera entrega al colegio agropecuario de la ciudad. El Instituto de Investigación de la Amazonía Peruana (IIAP) años después trabajó con un método de crianza de ganado bubalino, logrando buenos resultados, pero no continuó el fomento de la crianza por algunos aspectos de política institucional (Isuiza *et al.*, 1996).

Los primeros búfalos de agua llegaron a Jenaro Herrera en el mes de julio de 1978, mediante un convenio entre el Proyecto de Asentamiento Rural Integral - Jenaro Herrera (PARI-JH) y la UNAP (Isuiza *et al.*, 1996).

La Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP) realizó en 1966 la introducción del búfalo de agua en la llanura amazónica peruana, con la primera importación de 21 búfalos (19 hembras y dos

machos) provenientes de la Isla Marajó, Brasil; en 1976 se realizó la segunda introducción, llevada a cabo por la UNAP en convenio con el Ministerio de Agricultura, trayendo 107 animales (99 hembras y 8 machos), con el fin de conocer las características y habilidades del búfalo de agua; en 1981, el Ministerio de Agricultura llevó a cabo la tercera importación, donde fueron adquiridos 432 animales; la cuarta introducción se efectuó entre 1983 y 1984, por parte del Gobierno Regional de Loreto, que adquirió 2067 animales provenientes de Río Grande (Brasil), que fueron entregados a criadores de la región, siendo los animales mestizos de las razas Murrah y Jafarabadi. La crianza del búfalo de agua, con propósito lechero, es el que predomina en el distrito.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Lugar de estudio y Ubicación Geográfica

El distrito Jenaro Herrera está ubicado en el noreste de la selva peruana, en la Región Loreto, provincia de Requena, margen derecha del bajo Ucayali, ubicados a 200 km al sur de la ciudad de Iquitos. Está situado en la zona de vida bosque húmedo tropical, tiene una precipitación promedio anual de 2,759 mm, una temperatura media de 26.8°C con una máxima de 32.6°C y una mínima de 21.1°C, la humedad relativa promedio anual es de 87% (Isuiza *et al.*, 1996), su altitud es de 125 msnm, latitud: 04°55'S y longitud:73°40'W.

#### 3.2 Animales

Las muestras de sangre fueron tomadas a búfalos hembras en edad productiva, mayores a 2 años hasta los 12 años de edad, provenientes de cuatro centros de crianza del distrito de Jenaro Herrera (Cuadro 1), dedicados netamente a la producción lechera. Los criadores mantienen a las hembras hasta por 12 años, vendiendo a los machos, tanto crías como adultos, con el propósito de comercializar su carne.

Actualmente son 25 los criadores de búfalos en Jenaro Herrera, conformando un 99% de personas dedicadas a esta actividad, gracias al apoyo del fondo rotatorio implementado por el Ministerio de Agricultura. El tipo de explotación que predomina es la extensiva, y sólo cuatro productores emplean el tipo de explotación semi-intensiva; esta zona es potencialmente apta para la cría de ganado bubalino, para la producción de carne y leche; además los productos derivados de la leche como el queso fresco, constituye una fuente de ingresos económico constante para estos criadores (García, 2006).

**Cuadro 1.** Distribución de búfalos hembra muestreados en los Centros de Crianza de Búfalos del Distrito Jenaro Herrera, Departamento de Loreto – Perú 2008

Procedencia	Nº de animales	Hembras en edad	
		Productiva	Muestras
Centro de Crianza 1	150	78	28
Centro de Crianza 2	55	31	14
Centro de Crianza 3	67	39	14
Centro de Crianza 4	48	33	14
Total	320	181	70

### 3.3 Materiales

Materiales de apoyo:

- Materiales de vidrio y plástico requeridos para la toma de sangre, almacenamiento y procesamiento de los sueros.
- Kit Toxotest HAI, Wiener lab.
- Láminas antigenadas con taquizoítos de *Toxoplasma gondii* para la prueba de inmunofluorescencia indirecta

Equipo:

- Centrífuga, refrigeradora, incubadora, shaker, microscopio de fluorescencia

Recursos Humanos:

- Personal encargado en la administración de los búfalos de agua en Jenaro Herrera - Iquitos.
- Personal técnico con experiencia en el manejo de la técnica de la prueba de hemaglutinación indirecta (HAI) e inmunofluorescencia.

### 3.4 Tamaño Muestral

Se utilizó el método de tamaño muestral para una proporción de una población conocida (Thrusfield, 1990), considerando una prevalencia de 3.85%, tomada de un estudio realizado en búfalos del estado de Bahia, Brasil (Gondim *et al.*, 1999).

$$n = \frac{NZ^2pq}{d^2(N-1) + Z^2pq}$$

donde:

n= Tamaño muestral

N= Población conocida (402)

Z= Nivel de confianza (95%)

p= Prevalencia a utilizar (3.85%)

q= 1-p

d= Error esperado (5%)

Se consideró una población de 402 animales (Garcia, 2006), nivel de confianza de 95% y un error esperado de 5%, dando como resultado 50 animales. Sin embargo en el estudio se emplearon 70 animales.

### **3.5 Recolección de muestras**

Se colectó entre 5 y 7 ml de sangre entera de la vena yugular, utilizando tubos vacutainer sin anticoagulante, rotulando cada muestra considerando la identificación y la edad del animal. Los sueros, almacenados en viales, fueron conservados a 4°C en una refrigeradora de la zona, hasta su transporte al IVITA-Iquitos, para luego ser transportados en congelación hacia el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, para su procesamiento.

### **3.6 Procesamiento de las muestras**

Se empleó la técnica de hemaglutinación indirecta (HAI) para la detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* mediante un kit comercial de Wiener Lab, utilizando hasta de 1/64 en sueros; además, se empleó la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) a una dilución de 1:64 (Melo de Souza, 2001) para confirmar el diagnóstico.

Se usó la prueba HAI como prueba de screening por ser altamente sensible (81.6%) característica que permite detectar rápidamente en una población la presencia de positivos, y tiene una especificidad de 97%, por otro lado la técnica IFI no tan sensible (75%) es altamente específica (100%), y se usó como prueba confirmatoria, reduciendo el margen de falsos positivos.

### **3.7 Desarrollo de las técnicas**

#### **3.7.1 Técnica HAI**

**Titulación sin 2-Mercaptoetanol:**

1. Las policubetas fueron pasadas con una tela húmeda por la base para eliminar la carga electrostática.
2. Con una micropipeta de 25 ul se colocó una gota diluyente de sueros HAI en todos los pocillos de la policubeta.
3. Se tomó 25 ul de cada suero problema y control a ensayar, utilizando microdilutores individuales para cada muestra, colocándose en los pocillos de la fila 1.
4. Se realizaron diluciones a partir de la fila 1 (dilución 1:2) pasando los microdilutores de la fila 2 (dilución 1:4) y así sucesivamente hasta la fila 6 (dilución 1/64).
5. Se colocaron en las filas 1 y 2 (diluciones de 1:2y 1:4) una gota de 25 ul de glóbulos rojos no sensibilizados para el control de heterofilia.
6. En el resto de los pocillos, se agregaron una gota de 25 ul del antígeno HAI.
7. Se agitó suavemente la policubeta durante 30 segundos.
8. Luego se dejó a reposo durante 90 minutos.
9. Se realizó la lectura.
10. Lectura. -No reactivo: Presencia de un sedimento en forma de botón o pequeño anillo de bordes regulares.  
-Reactivo: Formación de una película o manto que cubre el 50% o más del fondo de los pocillos.

Se tomó como positivos, valores  $\geq 1/16$  (punto de corte) de acuerdo al kit comercial Toxotest-HAI.

SE utilizó el kit comercial de la prueba HAI para *Toxoplasma gondii*: TOXOTEST-HAI (WIENER LAB; 2000). Prueba de hemaglutinación indirecta (HAI), es utilizada para la detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*; detecta Ig. G.

### 3.7.2 Técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)

- Se trabajó todas las muestras de suero.
- Se utilizaron láminas de inmunofluorescencia de 12 hoyos, cuyo interior contiene taquizoítos fijados de *Toxoplasma gondii*.
- Diluir los sueros y control positivo a proporción 1:64 (Melo de Souza, 2001) con solución PBS 1X.
- Agregar 25µL de la dilución a cada hoyo.
- Luego incubar en una cámara húmeda oscura colocada en una estufa a 27°C durante 30 minutos.
- Lavar las láminas en una placa Petri conteniendo PBS 1X, durante 10 minutos en un agitador de placas. Este procedimiento se repite dos veces.
- Secar bien la lámina sin tocar los hoyos.
- Adicionar 18µL de conjugado a cada hoyo.
- Incubar a 27°C durante 40 minutos, en una cámara húmeda oscura colocada en la estufa.
- Después lavar nuevamente como se describe anteriormente, y añadir un lavado con agua destilada por 10 minutos.
- Secar bien las láminas, colocar una laminilla cubreobjeto, y mantener en refrigeración hasta su lectura
- Observar la lámina en el microscopio de fluorescencia a objetivo de 100X.

Interpretación:

**Negativo:** el campo microscópico se observa de un color rojo oscuro y ausencia total o parcial de fluorescencia intensa (verde amarillento) en todo el borde del taquizoíto.

**Positivo:** cuando la fluorescencia amarilla verdosa se presenta en toda la periferia del taquizoíto.



### 3.2.3. ANÁLISIS DE DATOS

Los resultados de la prevalencia se expresan en forma porcentual, empleando la siguiente fórmula (Thrustfield, 1990):

$$P = \frac{\text{N}^\circ \text{ de muestras positivas}}{\text{N}^\circ \text{ de muestras negativas}} \times 100$$

Intervalo de confianza se estimará mediante la siguiente fórmula: (Armitage *et al.*, 2002).

$$IC = p \pm Z \sqrt{\frac{pq}{n}}$$

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* obtenida en búfalos en el distrito de Jenaro Herrera, fue de 35.7 ± 11.2% usando la prueba de hemaglutinación indirecta (HAI), y de 17.1 ± 8.8% usando la técnica IFI. Este estudio constituye el primer reporte de la presencia de *Toxoplasma gondii* en búfalos en el Perú.

**Cuadro 2.** Seroprevalencia de búfalos hembra muestreados en los Centros de Crianza de Búfalos del Distrito Jenaro Herrera, Departamento de Loreto – Perú 2008, distribuida por centro de procedencia.

Variable	Animales Muestreados	Seroprevalencias		
		HAI 1:16	HAI 1:64	IFI 1:64
Centro de Procedencia				
Centro de Crianza 1	28	28.6 ± 10.5	3.6 ± 0.4	14.3 ± 8.1
Centro de Crianza 2	14	50 ± 11.7	2.1 ± 0.5	21.4 ± 9.6
Centro de Crianza 3	14	57.1 ± 11.6	2.1 ± 0.5	14.3 ± 8.1
Centro de Crianza 4	14	21.4 ± 9.6	7.5 ± 0.4	21.4 ± 9.6
TOTAL	70	35.7 ± 11.2	11.4 ± 0.2	17.1 ± 8.8

**Cuadro 3.** Seroprevalencia de búfalos hembra muestreados en los Centros de Crianza de Búfalos del Distrito Jenaro Herrera, Departamento de Loreto – Perú 2008, distribuida por edad de los animales muestreados.

Variable	Animales Muestreados	Seroprevalencias	
		HAI 1:64	IFI
Edad (años)			
2-4	16	12.5 ± 7.7	12.5 ± 7.7
5-7	39	38.5 ± 11.3	17.9 ± 8.9
≥8	15	53.3 ± 11.6	20 ± 9.3
TOTAL	70	35.7 ± 11.2	17.1 ± 8.8

Los resultados de seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* hallados en el estudio fueron menores al realizado por Melo de Souza *et al.*, (2001), los que hallaron una prevalencia de 49.9%, en *Bubalus bubalis*, en el estado de Sao Paulo, Brasil, utilizando la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI), sin embargo son mayores a la prevalencia obtenida por Gondim *et al.*, (1999), quienes usaron aglutinación en latex en búfalos del estado de Bahia, Brasil, obteniendo una prevalencia de 3,85%. Ambos estudios realizados en el país de origen de los búfalos del distrito de Jenaro Herrera.

La diferencia de seroprevalencias probablemente está influida por factores medio ambientales, presencia del hospedero definitivo (felinos domésticos y silvestres), y la técnica diagnóstica utilizada (Luzón *et al.*, 1997). Sao Pablo posee un clima sub tropical donde las temperaturas van de 16°C a 22.5 °C con 1450 mm lluvia anual, Bahia posee un clima tropical donde las temperaturas llegan hasta los 37°C y 1500 mm de lluvia anual y el departamento de Loreto tiene un clima tropical donde las temperaturas llegan hasta los 32°C con 2000 a 3000mm de lluvia anual. Los ooquistes, cuya ingestión es la principal forma de contagio para herbívoros, sobreviven mejor en suelos húmedos y cálidos con temperaturas alrededor de los 25 °C (Dubey, 1994).

La seroprevalencia hallada en el estudio, es más cercana a la encontrada en Sao Paulo por Melo de Souza usando la técnica IFI, en el estudio de Gondim realizado en Bahia, se usó la prueba de aglutinación en latex que posee una sensibilidad de 45.9% y una especificidad de 96.6% (Dubey, 1995), en el presente estudio se usó HAI que posee una sensibilidad de 81.6% y una especificidad de 97.1% y también la técnica IFI con una especificidad de 100% y sensibilidad de 75% (Ruenretai *et al.*, 2010) .

Se debe reflexionar sobre la presencia de el hospedero definitivo en el ambiente; en el departamento de Loreto aún se puede percibir la presencia de félidos silvestres, como son el otorongo y el jaguar, los cuales podrían actuar como eliminadores y diseminadores de la forma infectiva (el ooquiste), sin embargo esta presencia debe ser escasa pues no hay reportes escritos de ella en la zona; de todas formas su presencia en los alrededores sería suficiente pues la lluvia se encarga del transporte de los ooquistes. Los félidos silvestres pueden sustituir al gato en las circunstancias epizootiológicas en las que este último animal no interviene (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

La presencia de gatos aunque tampoco está documentada, sin embargo al momento de la toma de muestras se evidenció la presencia de gatos. Se sabe que un gato infectado puede eliminar ooquistes durante una a dos semanas y una sola deyección puede contener millones de ellos (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

Tanto Acha y Szyfres (1992) como Botero y Restrepo (1998) concuerdan con García y Vasquéz (1990) en que la prevalencia del *Toxoplasma* se incrementa con la edad, ya que existe mayor riesgo de exposición al parásito a medida que aumenta la edad en los animales, Nuestro estudio coincide con estos parámetros, podemos observar en el cuadro 3 que los animales muestreados mayores de 8 años son, para ambas técnicas, donde se presenta mayor prevalencia, así en la técnica de hemaglutinación indirecta HAI la prevalencia para este grupo es de  $53.3 \pm 11.6\%$  y para la técnica IFI es  $20 \pm 9.3\%$ .

Si bien es cierto, la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en búfalos de agua ha sido estudiada en muchos países, en el Perú estos estudios no existen, siendo este el primer estudio serológico sobre *Toxoplasma gondii* en los búfalos de agua de nuestro país. En el Perú han sido reportadas seroprevalencias en diversas especies domésticas así, podemos observar que la prevalencia encontrada en bovinos 17% (Tejada *et al.*, 1989) es la más cercana a la prevalencia obtenida en el estudio mediante IFI; prevalencias en otras especies animales en diversas regiones de nuestro país, utilizando mayormente HAI como técnica diagnóstica nos proporcionan resultados variados; así en llamas los valores variaron entre 10 y 32% (Gómez *et al.*, 2003; Saravia *et al.*, 2004), alpacas 21 y 53% (Poma, 2003; Gómez *et al.*, 2003), porcinos 27.7% (Saavedra y Ortega, 2004), vicuñas 14.9% (Pastor *et al.*, 2003) en ovinos 39 y 85% (Rojas, 1990; Caldas 2005), en caprinos 57.9% (Vidal, 1990).

Es necesario indicar que la población de búfalos en estudio, dedicada a la producción de carne, leche y sus derivados, constituye una de las principales actividades económicas del distrito de Jenaro Herrera, donde los productos son de consumo humano, por lo que sería recomendable estar atento sobre esta zoonosis en esa región, de la cual se sabe que la prevalencia de *Toxoplasma gondii* es alta en humanos en la selva (INEI, 2000).

## V. CONCLUSIONES

- La seroprevalencia obtenida para toxoplasma en búfalos del distrito Jenaro Herrera, provincia de Requena, Perú fué de  $17.14 \pm 8.8$  % con la técnica de diagnóstico IFI.
- La seroprevalencia obtenida para toxoplasma en búfalos del distrito Jenaro Herrera, provincia de Requena, Perú fué de  $35.71 \pm 11.2$  % con la técnica de diagnóstico de hemaglutinación indirecta (HAI).

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Evaluar la seropositividad de otros hospederos intermediarios en la zona.
- Seguimiento de la población de búfalos muestreada.
- Capacitación a los criadores, de manera que les permita un mejor manejo sanitario de su ganado.

## VII BIBLIOGRAFIA

1. Acha P, Szyfres B. 1992. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles comunes al hombre y los animales. 3a ed. Washington USA. OPS. 798 p.
2. Almaguer Y. 2007. El búfalo, una opción de la ganadería. [Internet], [2 Agosto 2008]. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080807.html>
3. Amato Neto V, Campos R, Baruzzi R, Duarte M. 1995. Toxoplasmosis. 2da ed. Sao Paulo: Ed. Sarvier. 154 p.
4. Ameghino E.1991. En: Producción de rumiantes menores: Alpacas. Ed. Resumen. Perú. 20 p.
5. Armitage P, Berry G. 2002. Statistical methods in medical research. 4ª ed. U.K. Blackwell Scientific Publications. 817 p
6. Atías, A. 1998. Toxoplasmosis. Parasitología Médica. Santiago de Chile: Ed. Mediterráneo. 615 p.
7. Barberan M, Marco JC. 1997. Patogenia, cuadro clínico y lesional en Toxoplasmosis – Neosporosis. Aula Veterinaria / OVIS. Tratado de Patología y producción ovina. España. Septiembre (52) 35-48.
8. Barriga O. 1997. Inmunología de las infecciones parasitarias. En: Parasitología Médica por Atías. Santiago de Chile. Mediterráneo p. 67-101
9. Blood D, Radostis O.1992. Medicina Veterinaria. 6a ed. México: Edit Mc Graw-Hill Interamericana. 851 p.

10. Bonhomme A, Pingret L, Pinon JM. 1992. Review: *Toxoplasma gondii* celular invasión, Parasitología. 54:31-43.
11. Borghese A, Mazzi M. 2005. Buffalo estrategias de población y en el mundo. En: La producción de Buffalo y la investigación, REU Serie Técnica 67 (Borghese A, ed.). Oficina Regional para Europa, Roma, 1-39.
12. Botero D. Restrepo M. 1998. Parasitosis Humana. 3ra. ed. Medellín – Colombia. Corporación para la investigación 506 p.
13. Bustamante J. 2000. Estudio comparativo de frecuencias de toxoplasmosis en porcinos procedentes de crianza tecnificada y no tecnificada. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 47p
14. Caldas P. 2005. Seroprevalencia del *Toxoplasma gondii* en borregas de una empresa ganadera de la sierra central- Junín. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nac. Mayor de San Marcos, Lima. 69 p.
15. Chávez-Velásquez A, Alvarez –García G, Gómez-Bautista M, Casas-Astos E, Serrano Martínez E, Ortega-Mora LM. 2005. *Toxoplasma gondii* in adult llamas (*Lama glama*) and vicunas (*Vicugna vicugna*) in the Peruvian Andean region. Vet. Parasitol. 130: 93-97.
16. Chiari CA, Neves DP. 1984. Toxoplasmosis humana adquirida a través da ingestao de leite de cabra. Men Inst Oswaldo Cruz 79: 337-340.
17. Choi WY, Nam NK, Kwak NH. 1997. Foodborne outbreaks of human toxoplasmosis. J Infect. Dis. 175: 1280-1282.



18. Contreras O, Tejada, A. 1974. Estudio Serológico sobre Toxoplasmosis en Ganado Ovino Beneficiado en Lima, Perú. Rev. Per. Biol. 1(2): 147- 153.
19. Cordero del Campillo M, Rojo Vásquez F, Martínez Fernández AR, Sánchez Acedo MC, Hernandez Rodriguez S, Navarrete López-Cozar I, Diez Baños P, *et al.*,. 1999. Parasitología veterinaria. España: Edit. Mac Graw Hill. 998 p.
20. Cubas, E. 1976. Estudio Clínico Serológico y Terapéutico de la Toxoplasmosis en pacientes del Hospital Central N° 1 del Seguro Social del Perú. Tesis Dr. Med. Progr. Med. Huma. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 52 p.
21. D'angelino JL. 1983. Toxoplasmosis suína: contribución para o estudo epidemiológico. Tesis de Doutorado. Fac. Saúde Pública, Univ. Sao Paulo. 112p.
22. Davidson MG, Rottman JB, English RV, *et al.*,. 1993. Feline immunodeficiency virus predisposes cats to acute generalizad toxoplasmosis. Am. J. Pathol. 143:1486-1497.
23. Dubey JP. 1994. Toxoplasmosis. J. AMER. Vet5. Med. Ass. 205: 1593-1598.
24. Dubey JP. 1995. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts in cats. J. Parasitol 81: 410-415.
25. Dubey JP. 1997b. Tissue cyst tropism in *Toxoplasma gondii* a comparison of tissue cyst formation in organs of cats and rodents fed oocysts. Parasitology. 115: 15- 20.71
26. Dubey JP, Lindsay, DS, Speer CA, 1998. Structure of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites, and biology and development of tissue cysts. *Clin. Microbiol. Rev.* 11: 267-299.

27. Dubey JP, Lappin M. 2000. Toxoplasmosis y neosporosis. En: Enfermedades infecciosas en perros y gatos. 2da. ed. Green C.México. Mc Graw-Hill Interamericana. p 493-503.
28. Feldman HA. 1982. Epidemiology of *Toxoplasma* infection. *Epidemiol. Rev.* 44:204-213.
29. Ferguson DJP. Hutchison WM. 1997. An ultrastructural study of the early development and tissue cyst formation of *Toxoplasma gondii* in the brains of mice *Parasitol. Res.* 73: 483- 491.
30. Fernández Baca S. 1991. En: Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Santiago de Chile. FAO. 327-325p.
31. Flores A. 1991. La toxoplasmosis: Consideraciones económicas, técnicas y sanitarias. Hospital Centro Policlínico Veterinario Málaga. España.
32. Freij B, Sever J. 1991. Toxoplasmosis. Red book / Pediatrics in Review /Self – assesment Exercises February 12(8): 24.
33. Frenkel JK. 1986. La inmunidad en la toxoplasmosis. *Bol. Of. Saint Panam* 100(3): 283-299.
34. Frenkel JK. 1991. Toxoplasmosis En: Veronesi,R. (ed). Doencas infecciosa e parasitarias. End edition, Guanabarra Koogan, Rio de Janeiro. P. 734-749.
35. Frenkel JK, Hassanein R, Bromw E, Thulliez P, Quintero-Nuñez R. 1995. Transmission of *Toxoplasma gondii* in Panamá city, Panama: a five-years prospective cohort study of children, cats, rodents, birds and soil. *Am. J. Heyg.* 53: 458-468.
36. Gallant J. 2001. *Toxoplasma gondii*: Prevention of opportunistic infections. En: The Body: An aids and hiv Information Resource.

37. García E. 2006. Diagnóstico del recurso ganadero en productores de la localidad de Jenaro Herrera, Distrito de Jenaro Herrera, Provincia de Requena, Departamento de Loreto, Río Ucayali, margen derecha. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Iquitos. Univ. Nac. de la Amazonía Peruana. 61p.
38. García Vasquéz Z, Rosario Cruz R, Solargo-Salgrado M. 1990. Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in sheep and goats in three states of México. *Prev. Vet Med.* 10: 25-29.
39. Gazzinelli R, Denker EY, Sher A. 1993. Host resistance to *Toxoplasma gondii* model for studying the selective induction of cell-mediated immunity by intracellular parasites. *Infect. Agents. Dis.* 2: 139-149
40. Gómez O, Chávez A, Casas E, Serrano E, Cárdenas O. 2003. Determinación de la Prevalencia de la Toxoplasmosis en alpacas y llamas en la estación experimental INIA- Puno. *Rev. Inv. Vet. Perú* 14: 49-53.
41. Gondim LF, Barbosa HV, Ribeiro Filho CH. 1999. Serological survey of antibodies to *T. gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brasil. *Vet. Parasitol.* 82: 273-276.
42. Góngora M. 1992. Prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en las comunidades alpaqueras de Vilcallamas, Bajo Llallagua, Huanaca-yama, Llusta. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. Puno: Univ. Nac. del Altiplano. 47 p.
43. Gorman T, Arancibia P, Lorca M, Hird D, Alcaíno H. 1999. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and alpacas (*Lama pacos*) in Chile. *Prev. Vet Med* 40: 143-149.

44. Hartley J, Marshall C. 1967. Toxoplasmosis as a cause of ovine perinatal mortality. N. Z. Vet. J. 5, 119-124.
45. Herrera AA, Medina S. 1993. Serología en pacientes sospechosos de Toxoplasma. Instituto Nacional de Salud 1989-1992. En: I Congreso Peruano de Parasitología. Lima-Perú.
46. Hutchison, W, Dunackie M. 1971. The life cycle of the coccidian parasite *Toxoplasma gondii* in the domestic cat, Trans, Rot. Soc. Trop. Med. Hyg. 65(3): 380-399.
47. Innes A, Redondo E. 1997. Control. En: Ovis N° 52. Setiembre: Toxoplasmosis-Neosporosis.
48. Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2000. Perú: Compendio Estadístico. 1994.95. Tomo I. Sistema Nacional de Estadística e Informática. Lima- Perú- 720 p.
49. Isuiza M, Pezo R, López J. 1996. Estudio sobre el búfalo de agua en Jenaro Herrera. Instituto de Investigación de la Amazonía Peruana. Documento Técnico N° 23.
50. Jacobs L, Remington JS, Melton ML, 1960. The resistance of the encysted form of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol.* 46: 11-21.
51. Jarvinen J, Dubey JP, Althouse G.1999. Clinical and serologic evaluation of two llamas (lama glama) infected with *Toxoplasma gondii* during gestation. *J parasitolol.* 85(1): 142-4.
52. Jiménez HLA, Gonzáles HG.1978. Segunda importación de búfalos de agua a la amazonía peruana. UNAP. Facultad de agronomía. Iquitos. 108p
53. Jiménez HLA, Gonzáles HG. 1979. Evaluación cuantitativa de los búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) de la amazonía peruana (1966-1975). UNAP. Facultad de agronomía. Iquitos. 38p
54. Jones SR. 1973. Toxoplasmosis a review. *JAVHA.* 163:1038

55. Lappin MR. 1996. Feline toxoplasmosis: interpretation of diagnostic test results. Semin. Vet. Med. Surg. (Small Anim.) 11:154–160.
56. Lappin MR, George JW, Pedersen NC, Barlough, JE, Murphy CJ, Morse LS. 1996. Primary and secondary *Toxoplasma gondii* infection in normal and feline immunodeficiency virus-infected cats. J. Parasitol. 82:733–742.
57. Leguía G, Guerrero C, Rojas M, Samamé H. 1984. Prevalencia de *Toxoplasma gondii* en ovinos de la sierra central. VII Reunión Científica Anual Asociación Peruana de Producción Animal (APPA). Lima, Perú.
58. Leguía G, Guerrero C, Dionisio P. 1986. Prevalencia de *Toxoplasma gondii* en borregas. IX Reunión Científica Anual Asociación Peruana de Producción Animal (APPA). Lima, Perú
59. Leguía G, Samamé H, Guerrero C, Rojas M, Nuñez A. 1998. Prevalencia de anticuerpos contra *T. gondii* en alpacas. Rev. Camel. Sudam. UNMSM-IVITA-CICCS 6: 19-21.
60. Leguía G, Casas E. 1999. Enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de camélidos sudamericanos. Lima-Perú: Ed. de Mar. 190p.
61. Lin DS, Bowman DD, Jacobson RH. 1992. Immunological changes in cats with concurrent *Toxoplasma gondii* and feline immunodeficiency virus infections. J. Clin. Microbiol. 30: 17-24.
62. Lindsay DS, Blagburn BL, Dubey P. 2002. Survival of non sporulated *Toxoplasma gondii* oocysts under refrigerator conditions. Veterinary Parasitology 103(4): 309-313.
63. Llop A, Valdez-Dapena MM, Zuazo JL. 2001. Microbiología y Parasitología Médicas. La Habana Cuba: Editorial ciencias médicas. Tomo III 651p.

64. Lorca M, Contreras M. 1997. Métodos de diagnóstico indirecto. En: Atías, A. Parasitología Médica. 4ta ed. Santiago – Chile. Mediterráneo. p 571-576.
65. Luft B J, Remington JS. 1989. Toxoplasmosis En: Hoeprich, PD; Jordan, MC. Infectious Diseases. 4th edition, Jb. Lippincot Company Philadelphia. Pp 1199-1214.
66. Luzón M, Alonso A, Quintanilla-Gonzalo A. 1997. Toxoplasmosis Neosporosis. Aula Veterinaria Ovis. Tratado de patología y reproducción ovina. 52: 11-17
67. McCabe RE, Brooks RG, Dorfman RF, Remington JS. 1987. Clinical spectrum in 107 cases of toxoplasmic lymphadenopathy. Rev. Infect. Dis. 9: 754–774.
68. Marcas C. 2003. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en llamas hembras de la provincia de Melgar-Puno. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 43p.
69. Melo de Souza L, Do Nascimento A, Furuta P, Souza LM, Da Silveira DM. 2001. Antibodies for *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* in wáter buffaloes from Sao Paulo State, Brasil. Semina: Ci. Agrarias, Londrina, 22: 39-48
70. Melhorn, H.; J. K. Frenkel. 1970. Ultrastructural comparison of cysts and zoites of *Toxoplasma gondii*, and *Hammondia* in skeletal muscle of mice. J.Parasitol. 66: 59-67.
71. Miller NL, Frenkel JK, Dubey JP. 1972. Oral infections with *Toxoplasma* cyst and oocyst in felines, other mammals and in bird. J. Parasitol 58: 928-937.
72. Morisaki J, Heuser JF, Sibley LD. 1995. Invasión of *Toxoplasma gondii* occurs by active penetration of the host cell. J. Cell. Sci. 108: 2457-2464.
73. Ortega-Mora L. Toxoplasmosis – Neosporosis. 1997. En: Ovis N°52: 15-70.

74. Pastor J, Chávez A, Casas E, Serrano E. 2003. Seroprevalencia de *T. gondii* en vicuñas de Puno. Rev. Inv. Vet. Perú. 14(1): 79-82.
75. Pizzi HL. 1997 Toxoplasmosis. Buenos Aires- Argentina: Rhone Poulenc Roner. 84p.
76. Pizzi HL, Rico CM, Pessat OAN. 1978. Hallazgo del ciclo ontogenico selvatico del *Toxoplasma gondii* en felidos salvajes (*Oncifelis geofroyi*, *Felis colocolo* y *Felis eira*) de la provincia de Cordoba. Revista Militar de Veterinaria, 25(117): 293-300.
77. Poma E. 2003. Seroprevalencia de anticuerpos contra *T. gondii* en alpacas (*Lama pacos*) de la Unidad de Producción de Cochabamba de la SAIS Túpac Amaru. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 69 p.
78. Reif JS, et al., 1989. Adverse reproductive outcome and antibody to *Toxoplasma gondii* in a cohort of Peruvian sheep. Prev. Vet. Med. 7:225-28.
79. Rojas M, Lobato I, Montalvo C. 1989. Prevalencia de *Toxoplasma gondii* en Camelidos Sudamericanos. Resumen 12ª reunión científica anual del APPA-Perú. 97p.
80. Rojas M. 1990. Parasitismo de los Rumiantes domésticos. Terapia Prevención y Modelos para su aprendizaje. Lima. Ed. Majjosa. 383 p.
81. Ruenruetai U, Ruangrat B, Yaowalark S. 2010. Is Sabin-Feldman DYE TEST isung *T. gondii* tachyzoites from animal inoculation still the best method for detecting *toxoplasma gondii* antibodies?. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 41(5): 1059-1064.
82. Saavedra GM, Ortega YR. 2004. Seroprevalence of *T. gondii* in swine from slaughterhouses in Lima, Perú, and Georgia. USA. J. Parasitol. 90(4): 902-904.

83. Saravia M, Chávez A, Casas E, Falcón N, Pinto W. 2004. Seroprevalencia de *T. gondii* en llamas en una empresa pecuaria en Melgar, Puno. *Rev. Inv. Vet. Perú.* 15(1): 49-55.
84. Selvaraj J, Manohar BM, Singh S, Balachandran C. 2007. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in buffaloes. *J. Vet. Parasitol.* 21: 41-42.
85. Soulsby E. 1987. *Parasitología y enfermedades Parasitarias.* México: Ed. Interamericana. 823p.
86. Speer CA, Dubey JP. 1989. Ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites and tissue cyst of *Neospora caninum.* *J. protozool* 36:458-463.
87. Suárez F, Andrade H, Galisteo A. 1999. Evaluación serológica del *Toxoplasma gondii* en suinos mediante la prueba de ELISA. *Rev. Inv. Vet. Perú,* 10:11-17.
88. Svobodová V, Knotek Z, Svoboda M. 1998. Prevalence of IgG and IgM antibodies-specific to *T. gondii* in cats. *Vet. Parasitol.* 80(2): 173-176.
89. Tejada A, Balbin G. 1989. Situación actual del estudio de la Toxoplasmosis en el Perú. En: *Anales del Seminario Nacional de Zoonosis y Enfermedades de Transmisión Alimentaria.* Lima. Perú.
90. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. 2000. *Toxoplasma gondii* En: From animals to humans *Int. J. Parasitol.* 30 (12-13): 1227-1258.
91. Tizard F. 1998. *Inmunología veterinaria* 5ta Ed. México: Mac. Graw- Hill Interamericana. 500 p.
92. Thrustfield M. 1990. *Epidemiología Veterinaria.* España: Ed. Acribia. 339 p.



93. Vasquez R. 1988. Estudio serológico sobre Toxoplasmosis en ganado porcino beneficiado en Lima- Perú. 1985. Tesis de Médico Veterinario. Lima. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 48 p.
94. Vidal L. 1990. Prevalencia de Anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en cabras de la provincia de Lima. Tesis para optar el título de Médico Veterinario. Lima. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 41p.
95. Vanderwagen L, Behymer D, Riemenn HP, Frantti C. 1974. A survey for Toxoplasma antibodies in Northern California livestock and dogs. JAVMA. 164(10): 1034-1037.
96. Velasco- Castrejon O, Salvatierra B, Valdespino J, Sedano A, Galindo S, Magos C, Llausas A, Tapia R, Gutierraz G, Sepúlveda J. 1992. Seroepidemiología de la Toxoplasmosis en México. Salud Pública en México. 34:222-229.
97. WIENER, LAB. TOXOTEST HAI. 2000. Prueba de Hemaglutinación indirecta (HAI) para la detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*. Argentina.