

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, Decana de América)

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E. A. P. DE MEDICINA VETERINARIA



Concordancia entre las pruebas de hemaglutinación indirecta e inmunofluorescencia indirecta para determinar la prevalencia de *Toxoplasma gondii* en ovinos.

Tesis para optar el título de:
MÉDICO VETERINARIO

Sandra Inés Huerta Ortega
Bachiller en Medicina Veterinaria

Lima – Perú
2005

Gracias a todos los que colaboraron y me ayudaron para la culminación de esta tesis.

ÍNDICE

	Pag.
Tabla de contenido	v
Lista de cuadros	vii
Lista de anexos	viii
Resumen	ix
Summary	x
I.- INTRODUCCIÓN	1
II.- REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Etiología	4
2.2 Transmisión	6
2.3 Ciclo biológico	9
2.4 Epidemiología	12
2.5 Patogenia	18
2.6 Sintomatología	20
2.7 Diagnóstico	22
2.7.1 Métodos directos	23
2.7.2 Métodos indirectos	23
2.7.2.1 Prueba de Sabin y Feldman o dye test	23
2.7.2.2. Prueba de inmunofluorescencia	24
2.7.2.2.1 Inmunofluorescencia indirecta (IFI)	24
2.7.2.2.2 Inmunofluorescencia directa	25
2.7.2.2.3 Inmunofluorescencia tipo sándwich	25
2.7.2.3 Prueba de hemaglutinación indirecta (HAI)	25
2.7.2.4 Aglutinación de látex	26
2.7.2.5 Fijación de complemento	26
2.7.2.6 ELISA	27
2.8 Inmunidad	27
2.9 Tratamiento	29
2.10 Control y prevención	30
III. MATERIALES Y MÉTODOS	32
3.1 Área geográfica del estudio	32

3.2	Procedencia de las muestras.	32
3.3	Materiales empleados	33
3.31	Reactivos e insumos de laboratorio	33
3.4	Diseño estadístico	34
3.4.1	Tamaño muestral	34
3.4.2	Recolección de las muestras	35
3.4.3	Procesamiento de las muestras	35
3.4.3.1	Detección de anticuerpos contra <i>T. gondii</i>	35
3.4.3.1.1	Prueba de hemaglutinación indirecta	35
3.4.3.1.2	Prueba de inmunofluorescencia indirecta	36
3.5	Análisis de datos	37
IV.	RESULTADOS	40
V.	DISCUSIÓN	42
VI.	CONCLUSIONES	45
VII.	BIBLIOGRAFÍA	48
VIII.-	ANEXOS	55

LISTA DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1. Distribución de los sueros de borregas de acuerdo a los resultados de las técnicas de HAI e IFI para la detección de anticuerpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> en el Fundo Santa María, Puno, 2002.	42
Cuadro 2. Comparación de la seroprevalencia de <i>Toxoplasma gondii</i> mediante las técnicas de HAI e IFI, en borregas del Fundo Santa María, Puno, 2002.	43

LISTA DE ANEXOS

1. Ciclo biológico del <i>Toxoplasma gondii</i>	54
2. Análisis estadístico computarizado (Stata 8).	57
3. Seroprevalencia de <i>T. gondii</i> mediante los métodos de HAI e IFI en borregas del Fundo Santa María, Puno, 2002.	61
4. Comparación de las seroprevalencias halladas en las pruebas de HAI e IFI expresado en categorías de edades, en borregas del Fundo Santa María, Puno, 2002.	62

RESUMEN

La toxoplasmosis es una zoonosis de amplia distribución mundial, causante de problemas de abortos y reabsorción embrionaria. En las explotaciones ovinas es importante desde el punto de vista económico, por las pérdidas que conlleva, tiene manifestaciones clínicas diversas e inespecíficas, por lo tanto es difícil poder precisar el diagnóstico con certeza, el diagnóstico debe contar con el apoyo de las pruebas inmunológicas adecuadas, actualmente existen dos pruebas la hemaglutinación indirecta (HAI) y la inmunofluorescencia indirecta (IFI) utilizadas con frecuencia. Es por esto que el objetivo del presente estudio fue medir el grado de concordancia entre las técnicas de HAI e IFI para la detección del *Toxoplasma gondii* en ovinos. Se colectaron 310 sueros de ovinos hembras de diferentes edades del Fundo Santa María, Distrito de Nuñoa, Provincia de Melgar, Departamento de Puno, los cuales fueron almacenados a -20°C para su posterior análisis serológico. Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Al evaluar el grado de concordancia entre ambas técnicas se halló un valor de Kappa (K) igual a 24% indicando que el grado de asociación entre ambas técnicas fue del tipo regular y mediante la prueba de Mc Nemar se encontró que existen diferencias significativas entre ambas, no siendo reemplazable una por la otra. Adicionalmente se halló una seroprevalencia para *Toxoplasma gondii* de $50.3 \pm 5.56\%$ por el método de HAI y $88.1 \pm 3.6\%$ por el método de IFI. La frecuencia por edades en animales menores de 1 año, mayores de 1 año y menores de 2 años, mayores de 2 años y menores de 3 años y mayores de 3 años fue de 23.2 %, 33.3 %, 52.1 % y 58.7 % respectivamente por el método de HAI y de 72.01 %, 90,0 %, 91.2 % y 90.5 % por el método de IFI. Estos resultados confirmarían que la concordancia entre las pruebas de HAI e IFI en el diagnóstico de la toxoplasmosis ovina fue de tipo regular no siendo reemplazables entre ellas.

Palabras claves: HAI, IFI, ovinos, toxoplasmosis, Puno.

SUMMARY

The toxoplasmosis is a zoonosis of worldwide distribution, which causes problems as abortions and embryonic reabsorption. In the sheep developments, it is very important from the economic point of view for the losses that it bears. The *Toxoplasma gondii* infection has clinical diverse and unspecific declarations, therefore it is hard to certainly precise the diagnosis, that's why the diagnosis must count on the support of the suitable immunological tests, at the moment two test exist indirect hemagglutination (HAI) and indirect immunofluorescence (IFI) which are used frequently. The present work takes as a target measuring the grade of congruity between the skills of immunofluorescence inuendo and hemagglutination inuendo for the detection of the *Toxoplasma gondii* in sheep. For the study there were collected 310 wheys of sheep females of different ages from the farm Santa Maria, District of Nuñoa, County of Melgar, and Department of Puno. After collected the wheys were stored to 20° C for his later serologic analysis. The samples were analyzed in the laboratory of parasitology of the faculty of veterinary medicine of the University of San Marcos. The results were submitted to statistical analysis, being a grade of congruity between these two tests determined by the value of Kappa (K) equal to 0.24 what corresponds to a grade of affiliation of regular type and by means of the test of Mc Nemar it was found that significant differences between both exist not being replaceable one for other one, also the study found a seroprevalence for *Toxoplasma gondii* of 50.3±5.6% for the method of HAI and 88.1±3.6% for the method of IFI. The seroprevalence for ages which was categorized for practical ends in animals of until one year, up to two, up to three and bigger than 3, it was of 23.3, 33.3, 52.1 and 58.7 respectively for the method of HAI and of 72.1, 90.1, 91.7 and 90.5 for the method of IFI. These results confirm that the congruity between the tests of HAI and IFI in the diagnosis of the sheep toxoplasmosis is of regular type and both tests are not replaceable.

Keywords: HAI, IFI, ovine, toxoplasmosis, Puno

I. INTRODUCCIÓN

El Perú cuenta aproximadamente con una población ovina de 12,1 millones, de las cuales alrededor del 92.5 % se encuentra en la Sierra (INEI, 1996), esta actividad pecuaria se encuentra sujeta a factores limitantes, uno de ellos es la baja eficiencia reproductiva. Tales fallas pueden ser debidas a causas muy variadas que actúan en distintas fases y llegar a identificarlas requiere de un estudio y una observación exhaustiva del estado y comportamiento del rebaño. Entre las enfermedades parasitarias tenemos a la toxoplasmosis como una de las principales causas de aborto y reabsorción embrionaria en esta especie, sin dejar de olvidar su carácter zoonótico y por lo tanto, su importancia para la salud pública (Ortega-Mora, 1997). El problema de los abortos en las explotaciones ovinas tiene una gran importancia desde el punto de vista económico, por las pérdidas que conlleva (Barandika *et al.*, 2002).

La toxoplasmosis es una zoonosis de amplia distribución mundial (Braselli, 2003) producida por un protozoario denominado *Toxoplasma gondii*, que afecta un alto porcentaje de animales de sangre caliente, incluyendo al hombre (Amato Neto, 1995). La infección en los felinos tiene particular importancia debido a que sólo ellos, ya sean domésticos o salvajes, son los hospederos definitivos y por lo tanto los principales difusores de la enfermedad, no mostrando sintomatología aparente (Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999).

En el caso de los hospederos intermediarios, los animales jóvenes presentan ocasionalmente síntomas tales como: fiebre, anorexia, tos, disnea, diarrea e ictericia. Entre las lesiones figuran neumonitis, linfadenitis y hepatitis. En los humanos y en los ovinos, la transmisión congénita sólo sucede cuando ocurre la primo infección durante la gestación. La toxoplasmosis congénita es una causa frecuente de abortos en las ovejas, cabras y a veces en los cerdos. En los humanos las secuelas más graves pueden ser la ceguera o abortos en las mujeres embarazadas.

La toxoplasmosis causa en la ganadería problemas reproductivos a través de los signos clínicos que incluye esterilidad, aborto, muerte fetal, momificación y mortalidad neonatal, que ocurren típicamente como incidentes esporádicos, en los cuales una proporción importante de las hembras gestantes pueden estar afectadas (Rojas, 1990).

La infección por *Toxoplasma gondii* tiene manifestaciones clínicas diversas e inespecíficas, por lo tanto es difícil poder precisar el diagnóstico con certeza, por tal razón se debe tener cuidado con el diagnóstico diferencial por la variedad de presentaciones clínicas. De este modo, el diagnóstico de la toxoplasmosis debe apoyarse en las pruebas inmunológicas. Sin embargo, la infección aguda se diagnostica por el aislamiento del parásito de la sangre o los líquidos corporales.

A la fecha se cuentan con diversas pruebas inmunológicas disponibles para el diagnóstico de la toxoplasmosis, las mismas que detectan Ig G o Ig M. Los títulos elevados de Ig G, indican la presencia de infección previa, mientras que la determinación de Ig M demuestra toxoplasmosis aguda.

La técnica de hemaglutinación indirecta (HAI) es poco específica, ya que presenta reacciones cruzadas con otros parásitos (Blood y Radostits, 1992), detecta anticuerpos en suero (Ig G), su principal limitación es que no detecta anticuerpos en etapas tempranas, pues se alcanzan títulos diagnósticos a los 30

días (Rojas, 1990), y es una de las más usadas comercialmente, mientras que la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI), la cual requiere equipo sofisticado, es sensible, específica y reproducible (Soulsby, 1987) detecta anticuerpos en suero desde los 10-14 días (Ig G e Ig M) (Rojas, 1990). Estas dos pruebas son las más usadas por los laboratorios, siendo por lo tanto meritorias de nuestra atención y motivo por el cual se realiza el presente trabajo cuyo objetivo es determinar la concordancia que existe entre los resultados de la prevalencia del *Toxoplasma gondii* en ovinos mediante el uso de la técnica de HAI e IFI.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Etiología

La toxoplasmosis es una infección protozoaria causada por el *Toxoplasma gondii* que afecta a la mayoría de las especies animales de sangre caliente, incluso al hombre (Greene, 2000; Soulsby, 1987). Los hospederos definitivos son los gatos domésticos y otros felinos, todos aquellos hospederos no felinos son intermediarios (Greene, 2000). Se caracteriza por ser una infección común que en sólo raras ocasiones se manifiesta como una enfermedad clínica (Carmona, 2003; Atias, 1994). En ovinos es una causa importante de abortos y mortalidad neonatal (Ortega-Mora, 1997).

La toxoplasmosis es una protozoonosis entérica y sistémica producida por un parásito de localización intracelular: *Toxoplasma gondii*, incluso capaz de invadir y multiplicarse en cualquier célula nucleada, incluso en hematíes de aves (Ortega-Mora, 1997; Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999).

Este parásito fue descubierto en 1908 por Nicolle y Manceaux, en forma casual en roedores africanos que estaban siendo investigados como posibles reservorios del género *Leishmania*. Posteriormente, debido al especial comportamiento de este parásito en cultivos, lo descartaron como una especie de *Leishmania* y por su forma de arco, del griego “toxon”, lo red denominaron en 1909

como *Toxoplasma gondii* (Ortega-Mora, 1997; Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999). En 1908 en Brasil, Splendore lo describe en conejos (Suárez *et al.*, 1998), y en los siguientes 50 años, fue encontrado en numerosas especies de vertebrados, pero el hospedero definitivo se mantuvo desconocido hasta que en 1965, se halló una forma quística de *Toxoplasma gondii* en heces de gato. Finalmente en 1970 y 1972 se demostró la naturaleza coccidiana del parásito y se descubrió el ciclo del parásito estableciéndose a los hospederos intermediarios, que incluyen a una gran cantidad de aves y mamíferos, incluyendo al hombre, y a los miembros de la familia felidae, como hospederos definitivos (Ortega-Mora, 1997).

Clasificación según Levine (1973) y Frenkel (1977):

Reino: Protozoa.

Phylum: Apicomplexa (Levine, 1970).

Clase: Sporozoea (Leuckart, 1879).

Subclase: Coccidia (Leuckart, 1879).

Orden: Eucoccidiida(Eucoccida) (Léger y Dubosq, 1910).

Suborden: Eimeriina (Léger, 1911).

Familia: Sarcocystidae Poche, 1913.

Subfamilia: Toxoplasmatinae (Biocca, 1956).

Género: *Toxoplasma* (Nicolle y Manceaux, 1909).

Especie tipo: *T. gondii* (Nicolle y Manceaux, 1908, 1909) (Ortega-Mora, 1997).

El *Toxoplasma gondii* presenta ooquistes con dos esporoquistes, cada uno de los cuales tiene cuatro esporozoítos. Son parásitos heteroxenos facultativos u obligados (Soulsby, 1987). Es un parásito eurígeno por excelencia, que afecta a casi todas las células de los órganos blandos (panhistotrópico), pero especialmente a las neuronas, células retínales y fibras musculares (Rojas, 1990). Los ooquistes son entre esféricos y subesféricos, de 11 a 13 μm x 9 a 11 μm . La esporulación se realiza a los dos a tres días a 24° C. Los ooquistes esporulados

miden de 12 a 15 μm x 10 a 13 μm . Los esporoquistes son elipsoidales, de 8,5 μm por 6 μm , cada uno con cuatro esporozoítos, de 8 μm x 2 μm (Soulsby, 1987).

Los taquizoítos y los bradizoítos son morfológicamente similares, con forma de “coma” o de media luna, como todos los protozoos pertenecientes al Phylum Apicomplexa, y miden, aproximadamente, 6 μm de longitud y 2 μm de grosor máximo (Ortega-Mora, 1997). Biológicamente los bradizoítos pueden resistir el proceso digestivo en el estómago, mientras que los taquizoítos no lo resisten (Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999).

En el género toxoplasma sólo se acepta una especie, *Toxoplasma gondii* (Soulsby, 1987).

En general, existe una baja diversidad genética entre los *T. gondii* aislados de los hasta ahora examinados. Vienen siendo clasificados en tres tipos genéticos I, II y III basados en la duración de la restricción del fragmento de polimorfismo (RFLP) (Howe y Sibley, 1995; Howe *et al.*, 1997).

Entre los hospederos definitivos tenemos al gato doméstico (*Felis catus*), jaguar (*F. yagouaroundi*), ocelote (*F. pardalis*), león de la montaña (*F. concolor*), leopardo (*F. bengalensis*), lince (*Lynx rufus*) (Soulsby, 1987; Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999). Entre los hospederos intermediarios existe muy poca especificidad, y casi todos los animales de sangre caliente, incluyendo al hombre, pueden estar infectados (Soulsby, 1987).

2.2 Transmisión

La toxoplasmosis puede ser adquirida: por vía oral a lo largo de la vida pos natal, y congénita: es la infección transmitida al feto por vía transplacentaria cuando la madre se infecta durante la gestación (Ortega-Mora, 1997) La infección es de distribución cosmopolita y puede afectar a numerosas especies de mamíferos y aves, con repercusiones diversas y de intensidad muy variable, en función de la especie animal, la edad y el estado inmunitario individual (Ortega-Mora, 1997; Rojas, 1990).

En la oveja, la toxoplasmosis adquirida cursa de forma subclínica, pero la congénita, constituye una de las principales causas de abortos y de mortalidad neonatal en algunos países (Ortega-Mora, 1997). La oveja es un hospedero receptivo a cualquier edad, siempre que se trate de una primoinfección. Puesto que la forma adquirida suele proceder de la ingestión de alimentos contaminados con ooquistes, puede tener lugar desde el momento del destete (Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999). Se dice que la toxoplasmosis ovina no se transmite ni del carnero a la oveja, ni de ésta a su cordero a través de la leche. Tampoco se puede transmitir de una oveja que aborta a otra sana, en forma directa, de modo que la única vía de transmisión es a través de la ingestión de pastura, forrajes o ración contaminada con ooquistes de gatos (Freyre *et al.*, 2003).

En caprinos, la infección suele ser más grave que en ovinos, aunque las principales repercusiones clínicas de la infección en las cabras adultas también son los abortos (Ortega-Mora, 1997). Además de la infección por ingestión de ooquistes, en el ganado caprino está demostrada la posibilidad de transmisión de taquizoítos a través de la leche materna y del semen, aunque se desconoce la importancia relativa de estas dos vías de transmisión entre los animales y la implicancia de la transmisión lactogénica en la salud pública (Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999).

Está demostrada en ovinos y caprinos, la persistencia de quistes durante toda la vida animal (Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999).

En el gato la infección se produce cuando éste ingiere tejidos animales contaminados u ooquistes esporulados de *Toxoplasma gondii* del medio ambiente. Es muy probable que el gato hogareño que defeca en la bandeja sanitaria pueda transmitir el parásito porque los ooquistes necesitan estar por lo menos 24 horas a medio ambiente para madurar. Es decir, se contamina por la ingestión de carnes o vísceras con quistes tisulares en animales de consumo como ovinos, caprinos,

porcinos, bovinos, etc. (éstos, adquieren el parásito por las pasturas contaminadas) y en presas vivas como roedores, pájaros, cucarachas, etc., también por la ingestión de ooquistes maduros del suelo, eliminados por otro gato enfermo (Gatti, 2003).

En el humano la infección es frecuente, pero pocas veces produce síntomas. Cuando ocurre en la mujer embarazada existe el riesgo de transmisión al feto con diferentes consecuencias; con el aumento de la población de inmunodeprimidos (especialmente SIDA) las formas graves son más frecuentes (Braselli, 2003). Las dos principales vías de transmisión son la oral y la materno fetal. El hombre adquiere la infección al comer carne cruda o insuficientemente cocida que contienen quistes tisulares (carne ovina, porcina, caprina, bovina y aves) (Braselli, 2003; Gatti, 2003) ingerir agua o alimentos contaminados con heces de gatos infectados que contienen ooquistes o comer sin lavarse las manos contaminadas. Es decir, la transmisión de esta zoonosis es principalmente por la ingestión de carne, leche, huevos crudos o insuficientemente cocidos (Silva *et al.*, 1981) y también por medio de la manipulación de carcasas infectadas de cerdos (Ishizuka, 1978). La transmisión vertical es posible cuando la embarazada padece la infección aguda durante la gestación (Braselli, 2003). También se puede producir la ingestión de ooquistes infectantes en niños que comen tierra o arena contaminada (Gatti, 2003). Aunque posible, es rara la transmisión transfusional o a través de transplantes de órganos (Dubey y Beattie, 1988) o por accidente ocupacional en los trabajadores de laboratorio (Braselli, 2003).

Podemos asumir así que la forma activa de transmisión la encontramos en la orina, lágrimas, semen, saliva, heces y líquidos corporales, sobrevive pocas horas en el medio ambiente. La forma vegetativa que está presente en infecciones congénitas y adquiridas, crónicas o asintomáticas, se la encuentra bajo la forma de quistes en cerebro, ojo, hígado y músculo, es de tamaño microscópico y se destruyen a 66° C. La forma que se excreta en las heces del gato, ocurre luego de la ingestión de cualquiera de las tres formas, aparecen ooquistes infectantes al

cabo de 3 a 20 días y éstos resisten en el medio ambiente hasta un año, se destruyen con agua hirviendo, yodo concentrado y amoniaco (Herrera, 2003).

2.3 Ciclo biológico

En el desarrollo del *T. gondii* se pueden distinguir dos tipos de ciclos: enteroepitelial y extraintestinal. El ciclo enteroepitelial se desarrolla exclusivamente en el tejido intestinal del hospedero definitivo (gato y otros felinos). La infección puede producirse por ingestión de cualquiera de los tres estadios infectantes del parásito:

- Quistes tisulares con bradizoítos, a partir de tejidos de animales con toxoplasmosis crónica o latente.
- Taquizoítos, procedentes de tejidos de animales con toxoplasmosis aguda o activa.
- Ooquistes esporulados (con esporozoítos), por consumo de agua o alimentos contaminados con heces de gatos con infección patente.

El consumo de quistes tisulares con bradizoítos es la forma de infección más común en el gato. Los bradizoítos son liberados de los quistes tisulares por la acción de las enzimas proteolíticas gastrointestinales, penetrando en las células epiteliales del intestino delgado, aquí inician fases de multiplicación asexual (esquizogonias) que dan lugar a sucesivas generaciones predeterminadas genéticamente, de estadios asexuales equivalentes a los esquizontes de otros coccidios. Tras un determinado número de esquizogonias, los merozoítos liberados de los esquizontes penetran en nuevas células, transformándose unos en microgamontes (masculinos) y otros en macrogamontes (femeninos), comenzando así la fase sexual del ciclo (gametogonia). Los microgamontes originan en su interior microgametos biflagelados (gametos masculinos) y los macrogamontes se transforman por maduración en macrogamontes esféricos (gametos femeninos). Los microgametos son finalmente liberados por rotura celular para penetrar en las células que alojan a los macrogametos, fecundándolos

dentro la célula hospedera formándose el huevo o cigoto, que se rodea de una pared, transformándose en un ooquiste que es liberado a la luz intestinal mediante la rotura de las células hospederas, alcanzando el medio externo a través de las heces del gato. Estos ooquistes son excretados sin esporular, careciendo por lo tanto de capacidad infectante. En el medio esporulan en 1 a 5 días, según las condiciones ambientales, desarrollándose en su interior dos esporoquistes con cuatro esporozoítos cada uno. Cuando el gato adquiere la infección por ingestión de quistes tisulares, la prepatencia (periodo transcurrido hasta la eliminación de los primeros ooquistes en las heces) puede durar entre 3 y 10 días, según la dosis infectantes, y la patencia (período de eliminación de ooquistes) suele durar de 7 a 10 días, con una intensidad máxima del orden de millones de ooquistes hacia la mitad de este periodo. Cuando la infección del gato se produce por ingestión de taquizoítos u ooquistes hay un retraso en el desarrollo del ciclo enteroepitelial, prolongándose el período prepatente hasta 20-40 días pos infección, y el número de ooquistes eliminados es mucho menor. No se conoce con exactitud la evolución de estas formas infectantes en el gato. Según la hipótesis postulada por Dubey y Frenkel en 1976, los taquizoítos y esporozoítos experimentan primero un ciclo extraintestinal, con la producción final de quistes tisulares con bradizoítos. Algunos quistes tisulares se rompen en un determinado momento y los bradizoítos liberados vuelven al intestino, iniciando el ciclo enteroepitelial como si hubiesen accedido al hospedero por vía oral (Ortega-Mora, 1997).

El ciclo extraintestinal o asexual puede desarrollarse en un amplio espectro de animales, incluido el gato los cuales serían hospederos intermediarios, se forman dos estadios sucesivos: los taquizoítos y los bradizoítos en el interior de quistes tisulares puede ser consecuencia de la infección oral de un animal a lo largo de su vida, o bien producirse en la etapa fetal debido al paso del parásito, a través de la placenta materna, cuando la madre adquiere la infección durante la gestación. En el primer caso se habla de toxoplasmosis adquirida y en el segundo de toxoplasmosis congénita. La primera puede producirse por ingestión de

ooquistes (en ovinos y hervívoros en general) o de quistes tisulares (en carnívoros). Tras la ingestión, los zoítos respectivos (esporozoítos o bradizoítos) son liberados de la pared quística en el intestino delgado por la acción de diversas enzimas proteolíticas. Los zoítos liberados penetran sucesivamente en las células del epitelio intestinal y de los ganglios linfáticos adyacentes. En el interior de cada célula, el parásito se rodea de una vacuola parasitófora y se multiplica activamente por endogemación rápida (cada zoíto origina dos nuevos zoítos que continúan el proceso de división dentro de la vacuola), produciendo múltiples taquizoítos. La multiplicación origina al cabo de unas 24 horas la distensión y rotura de las células parasitadas, con la liberación de los taquizoítos e invasión de nuevas células. Tras un período de multiplicación en los ganglios mesentéricos, los taquizoítos son liberados al torrente circulatorio, comenzando la fase de parasitemia. En la especie ovina esta fase empieza hacia el quinto día pos infección.

En la toxoplasmosis congénita la infección se produce por el acceso directo de los taquizoítos a la circulación fetal cuando atraviesan la placenta durante la fase de parasitemia materna.

En ambas formas, los taquizoítos arrastrados por la corriente sanguínea y linfática, invaden los diversos tejidos, diseminándose el parásito por todo el organismo. Se considera que la penetración de los taquizoítos en las células es un complejo proceso que combina mecanismos de fagocitosis con otros de invasión activa. La parasitemia afecta a cualquier órgano o tejido y los taquizoítos se multiplican en cualquier célula hospedera (sea o no fagocítica). El proceso de invasión continúa hasta que las células hospederas mueren o, más frecuentemente, hasta que el hospedero desarrolla inmunidad frente a la infección. Como consecuencia de la respuesta inmunitaria se eliminan los taquizoítos extracelulares y se hace más lenta la multiplicación intracelular del parásito.

Dentro de las células hospederas los parásitos se rodean de una membrana elástica, y se transforman en bradizoítos (quedando aislados del tejido

circundante). Los bradizoítos siguen multiplicándose, por endogemación lenta (fase de multiplicación más lenta), en el interior del quiste, que tarda uno tres o cuatro meses en alcanzar su tamaño definitivo (unos 100 μ m de diámetro). Los quistes se localizan principalmente en la musculatura esquelética, cardíaca y en el cerebro (tejidos muy oxigenados). Los quistes tisulares con bradizoítos representan la fase de resistencia endógena de *Toxoplasma*. El parásito persiste así de forma latente en los tejidos del animal durante períodos prolongados, probablemente de por vida en muchas especies, entre ella la ovina. La persistencia del parásito de forma latente confiere a la mayoría de los animales una eficaz resistencia frente a futuras reinfecciones, como manifestación típica de premunición (Ortega-Mora, 1997).

2.4 Epidemiología

La toxoplasmosis es la zoonosis parasitaria más difundida en la naturaleza. Se ha demostrado en todas las latitudes, tanto en poblaciones humanas como en más de trescientas especies de mamíferos domésticos y silvestres y en alrededor de 30 especies de aves de corral y silvestres (Atias, 1994). Su distribución es mundial, aunque las zona más afectadas son aquellas más cálidas y húmedas (Castro, 2000).

En algunos países, *Toxoplasma gondii* es uno de los principales agentes causantes de abortos infecciosos en la ganadería ovina (Ameghino, 1988). Se considera como una de las causas más importantes de aborto ovino en Nueva Zelanda, Australia, Inglaterra, Noruega, Francia y Estados Unidos; en este último se determinó que *Toxoplasma gondii* fue el agente que más abortos provocó en ovinos durante el decenio 1983-1993, superando a la clamydiosis y la campylobacteriosis, las cuales se consideraban hasta ese momento en primer término (Venturini, 1997). La mayor parte de los datos publicados sobre la prevalencia de la infección por *Toxoplasma gondii* en el ganado ovino proceden de

encuestas seroepidemiológicas, dada la dificultad del aislamiento pos mortem por los métodos convencionales (Ortega-Mora, 1997).

En nuestro país se reportan tasas de 39 % en borregas, 23 % en caprinos, 70 % en alpacas, 45 % en llamas, y 27 % en vicuñas (Rojas, 1990). En países ovejeros como en Nueva Zelanda y Australia, se ha estimado entre 5 % a 50 % las pérdidas de corderos debido a la toxoplasmosis (Rojas, 1990). En rebaños infectados, con aparente performance reproductiva saludable, 1-2 % de las borregas gestantes presentan, esterilidad, aborto o muerte de la cría al nacer. Los problemas reproductivos son más altos entre 39-42 % en borregas seropositivas, que en las seronegativas que frisan entre 9-33 % (Rojas, 1990). En una encuesta serológica realizada en 160 alpacas distribuidas al azar en grupos etarios estratificados, por medio de la prueba de hemaglutinación indirecta, la prevalencia general fue de 50% (80 de los animales) (Leguía *et al.*, 1988). En cerdos se reportan tasas de 68% (Vásquez, 1985).

La seroprevalencia de la infección por *T. gondii* en caballos de Europa y de América del Norte es de un 15% a 30% (Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999).

La infección humana es accidental y punto final del ciclo vital. Es muy frecuente en la población general, estimándose que a nivel mundial el 60 % de las personas tienen anticuerpos séricos, lo que indica que en algún momento tuvieron la infección (Braselli, 2003; Gatti, 2003; Castro, 2000). Las encuestas serológicas efectuadas en diferentes países, indican una infección del 40 al 50 % de los adultos sanos entre los 30 y 40 años de edad. Estas cifras varían de un lugar a otro, lo que se atribuye a factores geográficos y climáticos, hábitos alimentarios, tipo de trabajo, a la higiene ambiental y a la presencia de gatos infectados. La tasa de prevalencia es relativamente baja en niños y aumenta en forma paulatina con la edad (Atias, 1994). En estudios realizados en Estados Unidos se demostró que la transmisión se realiza principalmente a adultos debido al consumo de carne mal

cocida, mientras que en Centro América más del 50 % de niños se encuentra infectado a la edad de 10 años por la ingestión de ooquistes de suelos contaminados con heces de gato (Carmona, 2003; Morris, 1996). La incidencia de toxoplasmosis materna durante el embarazo es aproximadamente 1:1000 partos, presentando variaciones geográficas y socio culturales. Un estudio en Sao Paulo al analizar 303 sueros de cerdos beneficiados en un camal, dieron como resultado un 9,57 % de reactores positivos al *Toxoplasma gondii*, confirmándose la importancia de esta carne como fuente de infección (Suárez *et al.*, 1998). En Francia se reporta una incidencia de toxoplasmosis congénita de 1:4000 partos. Estudios practicados en EE.UU por el National Institute of Neurological and Communicative Disorders, muestran que de 23 000 embarazadas, el 38 % tenía anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*. En nuestro país se reportó una enucleación por *T. gondii* en un niño de 28 días de nacido (Doria, 1984); en un estudio realizado entre 1970 al 2000 en el Instituto de Medicina Tropical de San Marcos de 7220 casos de sospecha de toxoplasmosis, el 56 % fue positivo por medio de la prueba de HAI y el 3,8 % por medio de la fijación del complemento (Tejada y Zorrilla, 2000). Se considera que un 50 % de la carne europea de ovino y porcino contiene *Toxoplasma gondii*. Un estudio en el Instituto Nacional del Ojo de Lima, que abarcó protocolos de muestra de los años de 1985 a 1999, de 6520 casos se encontró dos casos de microftalmia por toxoplasmosis congénita y de 1306 casos en el Servicio de Úvea, 258 fueron de toxoplasmosis (García, 2002).

En la mayoría de los países menos del 2 % de los gatos excretan ooquistes en un momento dado, pero un sólo gato puede excretar millones de ellos en un día (Braselli, 2003). El hallazgo de escasa o nula correlación entre la prevalencia de anticuerpos en el hombre y el contacto con gatos caseros, sugiere que sólo hay un peligro ligero (Gatti, 2003). Según estadísticas de EE.UU, entre un 30 % y 80 % de gatos de vida libre de ese país han sufrido la infección, lo cual estaría incrementando por el consumo de presas vivas y la presencia creciente en este medio del virus de la inmunodeficiencia felina que predispone a infecciones y parasitosis secundarias (Gatti, 2003).

La prevalencia de anticuerpos en gatos oscila entre 0 % y 96 % con valores de referencia en Brasil de 51 %, Colombia 62 %, Costa Rica 46 %, Ecuador 64 %, y México 52 %. En Cajamarca se realizó un estudio serológico y coprológico en 100 gatos donde el 13 % resultaron positivos a ooquistes de *T. gondii* y 47 % positivos por medio de la prueba de HAI (Izquierdo, 1986). En Chiclayo se encontraron 74 muestras positivas en gatos por HAI (Vigo *et al.*, 1997).

Entre la gran variedad de hospederos intermediarios de *Toxoplasma gondii*, los herbívoros y los omnívoros son los más importantes desde el punto de vista epidemiológico. En el medio natural, la infección se presenta, principalmente, en las aves silvestres y en los roedores, y, en el entorno doméstico, el ganado ovino, el caprino y el porcino, además de los lagomorfos, son también importantes como hospederos intermediarios. En todos ellos la ingestión de ooquistes esporulados representa la principal o única fuente de infección. Sólo los felinos son los eliminadores de ooquistes, por lo que en el entorno doméstico los gatos juegan un papel epidemiológico primordial (Ortega-Mora, 1997). La ingestión de quistes tisulares con bradizoítos, normalmente por caza de ratones o de aves silvestres, es la forma de infección más frecuente en el gato y la que origina una propagación más rápida e intensa. En cada gato infectado por esta vía, el parásito es capaz de multiplicarse logarítmicamente en pocos días (3-10 días) y, a través de la excreción de ooquistes, de propagarse a grandes distancias durante la semana o semana y media que dura el periodo pre patente. Dado que la primo infección por *T. gondii* suele conferir resistencia en los gatos, el número de gatos con toxoplasmosis activa disminuye con la edad, por lo que son los gatos jóvenes los de mayor importancia epidemiológica, especialmente los gatos vagabundos o de la propia explotación que se alimentan de aves y roedores (Ortega-Mora, 1997). También juegan un rol importante los vectores cucarachas y moscas (Rojas, 1990, Gatti, 2003).

Se considera que la contaminación de los alimentos almacenados con heces de gatos conteniendo ooquistes de *T. gondii*, sería una de las principales

fuentes de infección para el ganado ovino y caprino. Los gatos defecan con frecuencia sobre el ensilado, el grano o el forraje almacenado y por sus hábitos silenciosos y la costumbre de ocultar sus heces no suelen ser detectados (Ortega-Mora, 1997). Un gato infectado elimina ooquistes durante una a dos semanas y una sola deyección puede contener millones de ellos. Si estos elementos encuentran condiciones favorables en el ambiente externo (agua, terreno húmedo, temperatura de alrededor de 25° C y suficiente oxígeno), alcanzan su estado infectante en un lapso de 1 a 3 días (Rojas, 1990). Aunque se considera que 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 (Dubey, 1995). Por debajo de 4° C o por encima de 37° C, no se produce esporulación y los ooquistes no son infectivos. Los ooquistes esporulados son muy resistentes a los desinfectantes comunes y pueden permanecer viables por períodos muy prolongados en un ambiente que les sea muy favorable. Se ha demostrado una supervivencia de hasta dos años en el agua y de más de seis meses en tierra húmeda, otros autores consideran que en tierra jardín el ooquiste se mantiene viable por 18 meses (Rojas, 1990).

En lo que respecta al ganado ovino, se estima que la dosis mínima infectante se halla alrededor de 200 ooquistes y se ha calculado que 50 gramos de heces de gato repartidos en una 10 toneladas de pienso equivaldrían a unas 25 dosis infectantes por kg para esta especie animal. Se ha señalado que el abonado natural de los pastos con estiércol procedente de granjas y apriscos puede ser también una fuente común de infección para las ovejas adultas (Ortega-Mora, 1997).

Además de las infecciones por ingestión de ooquistes, en el ganado caprino esta demostrada la posibilidad de transmisión de taquizoítos a través de la leche materna y del semen, aunque se desconoce la importancia relativa de estas dos vías (Ortega-Mora, 1997).

Entre los factores de riesgo que pueden influir en la transmisión de la toxoplasmosis ovina, se ha considerado de especial interés el régimen de explotación. Los estudios serológicos realizados al respecto en Australia, el Reino Unido y España han detectado tasas de infección significativamente mayores en las granjas de manejo intensivo que en las de extensivo, lo que se atribuye a una mayor exposición de los animales en intensivo a alimentos contaminados. También se ha relacionado el riesgo de infección con la estacionalidad, a raíz de diversas investigaciones llevadas a cabo en Noruega y Nueva Zelanda, donde se detectan mayores tasas de seroprevalencia de toxoplasmosis ovina durante los meses de otoño e invierno que durante el verano debido, probablemente, a una mejor conservación de los ooquistes en las épocas frías y a que la menor longitud de la hierba en dicha época obliga a los animales a pastear más cerca del suelo. En nuestro país un estudio nos confirma esta aseveración, fue realizado con 1271 borregas procedentes de los departamentos de Ancash, Junín y Puno, en dos épocas del año: la lluviosa y la seca, por medio de la prueba de hemaglutinación indirecta, los resultados que se obtuvieron fueron de 68,4 % de positivos en la época lluviosa y 55,8 % de positivos en la época seca (Samamé *et al.*, 1983).

En relación con la edad, las ovejas jóvenes y adultas son igualmente receptivas a *T. gondii*, siempre que se trate de una primoinfección y, dado que la forma adquirida suele proceder de la ingestión de alimentos contaminados con ooquistes, puede tener lugar ya desde el momento del destete. Sin embargo, todos los estudios sobre seroprevalencia realizados sobre ganado ovino y caprino muestran las mayores tasas de infección en adultos que en jóvenes, por el simple hecho de que el transcurso del tiempo aumenta las oportunidades de infección de los animales (Rojas, 1990).

La primoinfección en la especie ovina le confiere una fuerte inmunidad protectora que impide en ovejas preñadas la infección del feto en futuras gestaciones. La respuesta inmune evita asimismo la repetición del aborto toxoplásmico en las ovejas que ya lo han padecido, por lo que pueden mantenerse

como reproductoras. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre en la oveja, existen evidencias que indican que en el ganado caprino el aborto puede repetirse en gestaciones sucesivas (Rojas, 1990).

Los ooquistes pueden sobrevivir en el medio ambiente más de un año. Es resistente a todos los desinfectantes, pero mueren con el calor y el amoníaco al 10% (Rojas, 1990). Los ooquistes tienen mayor capacidad infectiva que los bradizoítos y taquizoítos a través de la infección oral. Los bradizoítos en el quiste, se han encontrado hasta tres años de la infección inicial, pues la membrana no provoca reacción inflamatoria en los tejidos adyacentes, que debería destruirlos. La fase más patógena es la reproducción rápida, en la reproducción lenta el quiste está en el interior de la célula hospedera, evadiendo de esta manera la respuesta inmune del hospedero (Rojas, 1990). La cadena más frecuente es la de ratón-gato y ratón-ratón. Los animales vírgenes y los inmunodeprimidos son los más susceptibles a sufrir la enfermedad, es casi nulo el contagio entre hospederos intermediarios convivientes (Rojas, 1990).

2.5 Patogenia

La penetración del *Toxoplasma*, por medio de cualquier vía produce rápidamente una infección generalizada. Los procesos de multiplicación inicial determinan un daño tisular localizado. A partir de estos focos iniciales, los zoítos libres o incluidos en los leucocitos son transportados a todos los órganos por la sangre y la linfa, penetran en nuevas células y continúan su multiplicación. Las lesiones se deben a la destrucción de las células parasitadas por los endozoítos y a la reacción inflamatoria que se produce a base de linfocitos, monocitos y macrófagos; estas lesiones curan por fibrosis y, a nivel del SNC, por gliosis. La sintomatología clínica de estas fases dependen de la intensidad de la infección y de la susceptibilidad de los tejidos invadidos (Atias, 1994). La fase aguda de la infección o reproducción rápida, es la que ocasiona las áreas de necrosis tisular con altos niveles de parasitemia que pueden llevar a la muerte (Rojas, 1998).

El *Toxoplasma gondii* es un parásito intracelular obligado, el taquizoíto se multiplica en el interior de las células, cuando el número de microorganismos intracelulares se vuelve excesivo, la célula infectada se rompe y los protozoarios liberados invaden otras células, penetrando en ella por un mecanismo todavía mal comprendido, que se parece a la fagocitosis. Cuando los taquizoítos invaden a los macrófagos normales, no quedan destruidos. En el proceso normal de fagocitosis, una vez que una partícula esté incluida en un fagosoma, lo habitual es que los lisosomas se muevan a través del citoplasma y vacíen sus enzimas hidrolíticas en un espacio que rodea la partícula, esto no sucede en las células que han fagocitado al *Toxoplasma*. Los lisosomas pueden desplazarse hacia el fagosoma, pero no se fusionan con él. Así, los taquizoítos de *Toxoplasma gondii* son capaces de reproducirse y sobrevivir en el interior de la célula, en un ambiente en que no hay ni anticuerpos ni enzimas lisosómicas.

En condiciones normales, después de una infección con *Toxoplasma gondii* se producen anticuerpos y sobreviene una respuesta inmunitaria mediada por células. Los anticuerpos, al actuar en conjunto con el complemento, pueden eliminar a los microorganismos libre en los líquidos corporales, y así disminuyen la diseminación del microorganismo entre las células, pero naturalmente tendrán poca influencia (o ninguna) sobre las formas intracelulares del parásito.

La severidad clínica esta determinada por la tasa infectiva y por el grado de necrosis celular, ya sea debido a los taquizoítos proliferativos, o a la hipersensibilidad, o a ambos. En esta etapa se pueden hallar parásitos en la orina, heces, lágrimas; pero de escasa sobrevivencia en el medio ambiente.

Experimentalmente, se ha comprobado la diferencia de susceptibilidades entre especies de roedores, por ejemplo un animal como la rata blanca resiste altos inóculos del parásito, mientras que ratones y hámsters mueren rápidamente al inoculárseles concentraciones mucho menores, también esa diferencia en susceptibilidad depende de la cepa de *Toxoplasma gondii* (como TCR-2 y TCR-3) (Guerrero *et al.*, 1991).

2.6 Sintomatología

En ovinos: La infección suele cursar de forma leve en individuos adultos y sanos, en los que, tras un período de multiplicación activa, el parásito puede sobrevivir de por vida en forma latente, fundamentalmente en cerebro y musculatura estriada. Sin embargo, la infección puede tener graves consecuencias en individuos inmunodeficientes e inmunológicamente inmaduros (Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999). La enfermedad se caracteriza por placentitis, abortos, encefalitis y lesiones oculares. Las ovejas con placentitis abortan en el último mes de la preñez o paren corderitos muertos o débiles. En los cotiledones se pueden encontrar focos grises de necrosis. Los corderitos infectados en forma congénita sufren de incoordinación muscular, son físicamente débiles y no pueden alimentarse. Cuando la infección se produce entre los 45 y 55 días de la gestación, el feto generalmente muere, sí la infección es a los tres meses de la preñez, los corderitos nacen vivos pero enfermos y sí la infección es a los cuatro meses, los corderitos pueden nacer infectados pero asintomáticos. La enfermedad en los ovinos adultos es excepcional (Acha y Szyfres, 1986).

En bovinos y equinos: En los bovinos, la toxoplasmosis sintomática es poco frecuente. Se han descrito brotes de curso agudo, caracterizados por fiebre, disnea y signos nerviosos. En los equinos la infección asintomática es común, pero la enfermedad sólo ocurre de modo ocasional. Se han descrito varios casos de mielomalacia que se atribuyen a *Toxoplasma gondii* sobre la base de los caracteres morfológicos del parásito, pero su identificación esta en duda (Acha y Szyfres, 1988).

En cerdos: La hembras que adquieren la infección durante la gestación pueden presentar aborto, maceración o momificación de fetos (Vidotto *et al.*, 1987). Puede haber nacimiento de lechones con problemas pulmonares, nervioso y devenir la muerte en pocas horas (Freyre, 1989).

Gatos y perros: La infección asintomática es muy común en el gato. La toxoplasmosis clínica se ha descrito en la forma generalizada, intestinal, encefalítica y ocular. La infección sintomática se presenta sobre todo en gatos de poca edad (Acha y Szyfres, 1988). La toxoplasmosis clínica es mucho más grave en gatitos infectados por vía transplacentaria. Cuando el gato adquiere el papel de hospedero intermediario puede manifestar una sintomatología más o menos aguda, con linfadenomegalia, enteritis, hepatitis, miocarditis, neumonía, miositis, lesiones perivasculares y degenerativas del SNC, encefalitis y nefritis intersticial crónica. El 75% de los gatos con toxoplasmosis clínica, presentan lesiones oculares más o menos graves (Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999). En perros la tasa de seropositivos es alta. La toxoplasmosis sintomática ocurre sobre todo en cachorros con resistencia disminuida por el virus del moquillo u otras causas. Los signos más típicos son trastornos respiratorios, digestivos, nerviosos. En relación a la toxoplasmosis transplacentaria en perros y gatos se tiene poco conocimiento, sin embargo, se cree que su prevalencia es menos común que en los ovinos y caprinos(Acha y Szyfres, 1988).

Conejos y cobayos: La toxoplasmosis ocurre en todo el mundo en conejos domésticos y silvestres. Se han descrito varios brotes de la enfermedad aguda con alta mortalidad. La enfermedad sintomática ocurre con más frecuencia en animales jóvenes. La enfermedad se ha descrito también en cobayos. En algunos institutos científicos se han comprobado altas tasa de reactores. Recientemente se ha señalado la importancia que podría tener la toxoplasmosis en animales de laboratorio. El *T. gondii* induce la producción de interferón por unos cuatro días, hecho que puede desvirtuar los resultados de los ensayos realizados en animales de experimentación.

Aves: La toxoplasmosis clínica en aves es poco frecuente. La enfermedad se ha descrito en varias especies de aves domésticas (pollos, patos, palomas) y en aves silvestres mantenidos en cautiverio. En los casos agudos pueden

observarse focos necróticos en hígado, bazo, pulmones y ganglios. La infección asintomática en pollos puede ser muy frecuente (Acha y Szyfres, 1988).

2.7 Diagnóstico

El diagnóstico de esta protozosis no es fácil. Por tratarse de la parasitosis más diseminada en el mundo, la toxoplasmosis puede coexistir con cualquier otra enfermedad, sin relación de causa-efecto entre la parasitosis y la sintomatología del paciente (Atias, 1994).

En el gato, los típicos ooquistes se detectan en el análisis coprológico utilizando métodos de sedimentación (método de Telemann) o de flotación (solución Seather o con sulfato de zinc). En todos los casos es necesario el diagnóstico diferencial con el resto de los coccidios propios del gato (Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999).

Como diagnóstico de campo, en ovinos, orientativo, en muchos casos las lesiones macroscópicas de la placenta son fácilmente reconocibles y la ausencia de placentitis generalizada permite diferenciar este proceso del aborto por clamidiosis o brucelosis. El examen macroscópico se facilita con la inmersión de la placenta en solución salina, que produce la separación de las vellosidades sanas, dejando al descubierto los focos de necrosis (Cordero de Campillo y Rojo-Vásquez, 1999).

Resulta muy difícil, si no imposible, establecer el diagnóstico sin ayuda del laboratorio, mediante métodos directos, que demuestren la presencia del parásito y por métodos indirectos que detecten anticuerpos específicos (y la demostración de antígenos circulantes en casos agudos).

2.7.1 Métodos directos

El *Toxoplasma gondii* se puede reconocer por medio del examen microscópico de muestras al fresco o teñidas y en cortes histológicos (Atias, 1994). El aislamiento del parásito, mediante la inoculación experimental de la muestra en animales de laboratorio, es más eficaz, (Atias, 1994, Soulsby, 1987). La inoculación en ratón es probablemente el animal más útil ya que es muy sensible a la infección y raramente la padece (Soulsby, 1987), aunque esta prueba demora mucho tiempo, es engorrosa y su rendimiento es escaso. Actualmente se recomienda la demostración del parásito en cultivo de tejidos (Atias, 1994).

Alternativamente, para atenuar los problemas de visualización e identificación de *T. gondii*, los cortes histológicos pueden teñirse por métodos inmunohistoquímicos, mediante el empleo de anticuerpos específicos marcados con enzimas. La tinción histoquímica con la técnica de la peroxidasa-inmunoperoxidasa permite la detección del parásito en los tejidos con una gran sensibilidad y especificidad, su visualización sólo requiere de microscopía óptica ordinaria (Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999).

2.7.2 Métodos indirectos

2.7.2.1 Prueba de Sabin y Feldman o Dye Test: Mide preferentemente anticuerpos de tipo Ig G (Atias, 1994, Rojas, 1990), es una prueba serológica altamente específica y sensible, de indiscutible valor pero cuyas dificultades técnicas limitan su empleo a un reducido número de laboratorios especializados. Se la utiliza preferentemente como prueba de referencia para evaluar nuevos métodos (Atias, 1994; Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999; Rojas, 1990). Se basa en el hecho que los taquizoítos libres no se tiñen por el azul de metileno básico, si se ponen en presencia de un suero con anticuerpos específicos, requiere el empleo de ratones y toxoplasmas vivos (Acha y Szyfres, 1988). Es usada preferentemente en humanos (Greene, 2000).

2.7.2.2 Prueba de inmunofluorescencia: La inmunofluorescencia es una técnica muy utilizada para detectar autoanticuerpos o anticuerpos frente a antígenos tisulares y celulares, es laboriosa pero ofrece ventajas al determinar cuantitativamente la detección de anticuerpos (Roitt *et al.* 2001). La técnica de inmunofluorescencia fue introducida en 1941 por Coons, el cual empleaba B-antraceno, un compuesto fluorescente de color azul, conjugado con antisuero antineumocócico para describir los antígenos bacterianos en los cortes de tejidos. Poco después se usaron antisueros conjugados con fluorescencia, la cual emite una luz verde que permite una mayor diferenciación (Roitt *et al.* 2001).

2.7.2.2.1 Inmunofluorescencia indirecta: Se puede usar para la detección de anticuerpos en suero o para la demostración e identificación de antígenos en tejidos o cultivos celulares (Tizard, 1996). Es una técnica simple y rápida, que proporciona resultados equivalentes a la prueba de Sabin y Feldman, en todas las fases de la infección, mide el mismo tipo de anticuerpos, los cuales reaccionan con antígenos de membrana y citoplasmáticos, los anticuerpos aparecen una o dos semanas después de la infección, alcanzan sus niveles máximos en 6 a 8 semanas, descienden gradualmente durante meses o años y persisten por lo general, por toda la vida. Puede dar resultados positivos falsos por anticuerpos antinucleares (Atias, 1994). El antígeno procede de un frotis tisular, un corte o un cultivo de tejidos colocado en un portaobjetos. Se incuba en un suero problema, que se sospecha que tiene los anticuerpos para ese antígeno, y luego se lava el suero, dejando únicamente los anticuerpos específicos unidos al antígeno. Esos anticuerpos unidos se visualizan después de incubar el frotis en un suero que tenga antiglobulinas marcadas con el isotiocianato de fluoresceína. Cuando la antiglobulina se extrae mediante lavado y cuando se examina el portaobjetos, la fluoresceína indica que el anticuerpo existía en el suero que se ensayó. La cantidad de anticuerpos en el suero problema se estima examinando las diluciones crecientes del suero sobre diversas preparaciones de antígenos, se deben de usar siempre controles adecuados (Tizard, 1996). Cierta tinción polar positiva, se ha atribuido a receptores Fc en la superficie de los taquizoítos de

Toxoplasma gondii que fijan inespecíficamente inmunoglobulina. También se suelen usar los taquizoítos como antígenos previamente formalizados y fijados en portaobjetos de inmunofluorescencia que posteriormente se enfrentan a diluciones crecientes del suero problema. En caso de que existan anticuerpos específicos, éstos se fijan a los taquizoítos y la unión se pone de manifiesto al añadir un conjugado compuesto de inmunoglobulina anti-especie, unida a un fluorocromo (isotiocianato de fluoresceína) (Ortega-Mora, 1997).

2.7.2.2 Inmunofluorescencia directa: Esta técnica se utiliza con dos propósitos fundamentales: tipificar microorganismos o determinar la localización, en cortes histológicos (o en cultivos de tejidos), de distintos elementos, ya sean propios del tejido o extraños a él. En el segundo caso que es la aplicación más frecuente, el elemento a localizar puede ser tanto una sustancia antigénica, como anticuerpos dirigidos hacia algún componente del tejido, o inclusive a complejos antígeno-anticuerpo con o sin el agregado del complemento. Esta técnica permite que el antígeno sea detectado de manera inmediata al unirse a un anticuerpo marcado con un fluorocromo (conjugado) (Tizard, 1996).

2.7.2.3 Inmunofluorescencia tipo sandwich: Esta técnica permite que el complejo anticuerpo-antígeno sea detectado por la unión de un antígeno marcado, esta vez a la porción del antígeno y no al anticuerpo como en el caso de la inmunofluorescencia indirecta (Tizard, 1996).

Esta prueba no discrimina la toxoplasmosis congénita a partir del hallazgo de Ig M en el feto en caso de placenta intacta; dando por lo tanto falsos positivos y falsos negativos (Rojas, 1990).

2.7.2.3 Prueba de hemaglutinación indirecta: Fue diseñada por Goldman en 1962 y modificada por Fletcher en 1965 .Detecta Ig G. Su principal limitación es no detectar infecciones recientes, pues se alcanzan títulos diagnósticos a los 30 días, mientras que Sabin y Feldman e IFI lo hace desde los 10 a 14 días (Rojas, 1990). Esta prueba no sustituye totalmente a las otras

técnicas, y no es aconsejable su empleo, como método único, en el diagnóstico de la toxoplasmosis congénita ni en aquellas formas adquiridas en que se sospecha una infección reciente. Sin embargo, durante las etapas más tardías de la infección, esta prueba es específica y proporciona resultados equivalentes a las pruebas anteriores mencionadas; por lo tanto es una prueba útil cuando se emplea conjuntamente con otros métodos diagnósticos, su aplicación aislada sirve para el control de los casos crónicos de la toxoplasmosis y para las encuestas seroepidemiológicas (Atias, 1994).

2.7.2.4 Aglutinación de látex: Detecta Ig M en infecciones recientes y especialmente en la infección congénita (Rojas, 1990). Usa antígenos solubles de *Toxoplasma gondii*, preparado a partir de taquizoítos del parásito, unido a partículas de látex. En presencia de un suero positivo se produce aglutinación de las partículas de látex que puede observarse microscópicamente. Esta técnica tiene la ventaja de no requerir ningún reactivo específico, se encuentra disponible en el mercado (Ortega-Mora, 1997). Es un método diagnóstico relativamente simple, cuyos ingredientes se pueden adquirir en el comercio. Sin embargo, no cuenta de aceptación universal, puesto que el valor de los resultados depende de la calidad de los antígenos incluidos en los kits. Algunos de éstos antígenos no presentan una sensibilidad adecuada y, además, los resultados carecen de especificidad (Atias, 1994).

2.7.2.5 Fijación del complemento: En esta prueba el valor diagnóstico 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, indica infección reciente. Un resultado positivo, obtenido en forma aislada no permite diagnosticar infecciones agudas. Asimismo, un resultado negativo no excluye el diagnóstico de toxoplasmosis (Atias, 1994).

2.7.2.6 ELISA: A través de sus variantes y combinaciones. Aquí por ejemplo, Elisa indirecta por captación invertida o reversa, permite resolver el problema de la determinación de la Ig M, tanto en la toxoplasmosis adquirida como en la congénita, pues, no presenta falsos positivos, debido a los anticuerpos antinucleares y factor reumatoideo; ni falsos negativos en la toxoplasmosis congénita, debido al exceso de Ig G de la madre.

La protección de la infección por *Toxoplasma* depende generalmente de la inmunidad mediada por células (Tizard, 1996).

2.8 Inmunidad

La inmunidad que se adquiere por la toxoplasmosis es de tipo humoral y celular, sin embargo no es completa, debido a que la infección persiste en forma latente (Atias, 1994)

La demostración de anticuerpos específicos en suero fetal y en animales recién nacidos que no hayan ingerido calostro, es un diagnóstico de gran fiabilidad, puesto que en los rumiantes los anticuerpos maternos no atraviesan la placenta.

En fetos mayores de 60 días pueden detectarse Ig M e Ig G específicas a partir del día 30 pos infección materna. Dado que la infección en este período puede producir abortos tardíos o partos prematuros, la respuesta humoral podrá ser detectada en la mayoría de los casos, no así, cuando se trate de fetos inmunológicamente inmaduros (menores de 60 días) o muertos antes de los 30 días de la infección materna. En la especie ovina la seronegatividad de las madres permite descartar definitivamente la toxoplasmosis como causa del aborto, puesto que las respuestas humorales se manifiestan en la madre antes de producirse el mismo. Sin embargo, la seropositividad no debe ser necesariamente interpretada como infección reciente pues los títulos de Ig G específica se mantienen elevados

durante varias parideras consecutivas. Sólo la detección de Ig M en las madre permite confirmar la existencia de infección reciente.

La Intrademorreacción con toxoplasmina constituye una prueba cualitativa que 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 intrademorreacción (Atias, 1994).

La utilidad diagnóstica del estudio serológico de la toxoplasmosis aumenta con la demostración de anticuerpos de tipo Ig M específico para *Toxoplasma gondii*, cuya aparición precoz y persistencia limitada, caracterizan la fase inicial de la infección (Atias, 1994).

En ausencia de lesión placentaria de rumiantes no hay pasaje de Ig G de la madre al feto, por lo que una incrementada tasa de anticuerpos en la cría será evidencia de toxoplasmosis congénita. La Ig G está ausente en la cría al momento de nacer, la misma que luego se incrementa inmediatamente por la adquisición del calostro (Rojas, 1990).

La tasa de calostro/leche decrece súbitamente dentro de los cuatro días después del parto. En tanto que los títulos en la madre se mantienen prácticamente estables antes y después del parto (Rojas, 1990).

En lo referente a vacunas se han ensayado por ejemplo la protección en ratones con la mutante vaccinal de *Toxoplasma gondii* Ts-4; en gatos la mutante de *Toxoplasma gondii* T-263, impidiendo que éstos eliminen ooquistes cuando se infectan naturalmente (vacunación altruista). En 1988 se lanzó al mercado neozelandés una vacuna para prevenir los abortos en ovinos, en 1992, la misma vacuna (Toxovax) se comenzó a usar en Gran Bretaña, está hecha con taquizoítos de la cepa S48 de *Toxoplasma gondii*, una cepa "incompleta" aislada en ratones a

partir de inoculación de material extraído de membranas fetales de corderos abortados, después de 3000 pasajes en ratón ha perdido la capacidad de desarrollar quistes tisulares e infecciones persistentes y sí se administra a gatos no se forman ooquistes, la protección adquirida luego de la administración parece ser muy buena durante 18 meses.

Las investigaciones se orientan a la producción de una vacuna muerta ya que las vivas tienen problemas para su comercialización (conservación, viabilidad) y además, dado el carácter zoonótico de la infección, exige precauciones especiales para evitar inoculaciones accidentales.

2.9 Tratamiento

El tratamiento en la ganadería (presas), no es recomendable por ser impráctico (Rojas, 1990), ya que la mayoría de casos son asintomáticos y las drogas empleadas no eliminan completamente la producción de ooquistes (Leguia *et al.*, 1987). La Pirimetamina o la Sulfadiacina poseen valor limitado en el tratamiento, ya que curan el 50% de los animales afectados cuando se emplean solas. Sin embargo son muy eficaces en humanos y ratones cuando se administran juntas. Entre las Sulfonamidas las más eficaces son la Sulfapirimidina y la Sulfapiracina. Se obtienen mejores resultados cuando se combinan con Pirimetamina. Estos parásitos son eficaces contra el parásito proliferante y no contra pseudoquistes. (Blood *et al.*, 1992). Es posible tratar las ovejas durante la fase aguda de la enfermedad, pero este resulta caro (Arthur, 1991).

La Clindamicina es el medicamento de elección para el tratamiento de la toxoplasmosis clínica en perros y gatos (Greene, 2000; Couto y Nelson, 1999). Debido a su absorción intestinal adecuada, las dosis orales y parenterales son similares (Greene, 2000). La dosis de Clindamicina varia a razón de 25 – 50 mg/Kg/día repartidos en dos o tres dosis. Después de la desaparición de los signos clínicos, el tratamiento se debe prolongar durante dos semanas. No existen

pruebas que sugieran que este medicamento elimine por completo los microorganismos del cuerpo (Kirk, 1997). Trabajos recientes sugieren que la administración de monensina en una cantidad de 10 a 20 mg/día a hembras gestantes previene el aborto, dicha droga no fue aprobada en los Estados Unidos y es usada en el Reino Unido y Australia.

El tratamiento en humanos durante la gestación no ha probado ser eficaz para la infección congénita. La espiromicina es la droga que se puede indicar durante el embarazo y hasta ahora no se han encontrado efectos indeseados en el feto. Al nacer el neonato debe ser tratado a la brevedad, porque los parásitos continúan provocando daño al cerebro y a los ojos. En la mayoría de los casos se da una combinación de pirimetamina con ácido fólico y sulfonamida. Desafortunadamente, estas drogas son teratogénicas por lo que no deben prescribirse durante el embarazo.

Finalmente ya que constituye un problema de salud pública, las medidas acogidas deben tender a proteger fundamentalmente al humano, especialmente a la mujer gestante, y a través de tales medidas proteger también al ganado (Rojas, 1990).

Para lograr cualquier reducción en la frecuencia del *Toxoplasma gondii* es esencial eliminar la convivencia de gatos con animales de granja, o la contaminación del alimento de dichos animales con heces de gato. Los cadáveres de animales infectados o sospechosos deberán destruirse totalmente, o por lo menos hacerse inaccesible a los carnívoros. La exclusión de animales salvajes del entorno de los animales domésticos sería también deseable (Blood *et al.*, 1992).

2.10 Control y Prevención

- Hasta donde sea posible, controlar o evitar la fauna félica silvestre: puma, gato montés, etc., en zona ganadera.

- Extremar las medidas higiénicas, al manipular los animales abortados, especialmente las membranas fetales. Hay evidencias de títulos serológicos elevados en personas que han manipulado materiales de aborto.
- No acoger a gatos techeros y controlar esta población.
- Acostumbrar a los gatos a usar lugares definidos para sus necesidades fecales.
- Alimentar a los animales con carne cocida.
- Gatos con problemas oculares, malformaciones congénitas, frecuentes alteraciones respiratorias, signos nerviosos, partos distócicos, diarreas intermitentes; deben considerarse sospechosos de toxoplasmosis.
- Lavarse las manos luego de manipular tierra de jardines y carnes crudas.
- Antes de la gestación es conveniente que la mujer se realice la prueba de diagnóstico, y durante la gestación debe de extremar las medidas preventivas.
- Niños de madres con alteración de títulos de anticuerpos durante la gestación, deben de ser controlados en su desarrollo psicomotriz.
- Consumir carnes suficientemente cocidas (a más de 66° C).
- Controlar el acceso de vectores como cucarachas y moscas a los alimentos (Rojas, 1990).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ÁREA GEOGRÁFICA DEL ESTUDIO

El estudio se realizó en el Fundo Santa María, Distrito de Nuñoa, Provincia de Melgar, Departamento de Puno, en una zona eminentemente ganadera, siendo el centro de la producción de ovinos y alpacas del altiplano, durante el mes de Marzo del 2002; la zona de estudio presenta una altitud media de 4000 m.s.n.m., correspondiendo a una región de clima seco y muy frío, con una estación seca que va desde el mes de mayo al mes de agosto, una temperatura con rangos que van desde los 0 – 15 °C .

3.2 PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS

Se recolectaron muestras de sangre (suero) de ovejas hembras de la Raza Merino, criadas en pasturas naturales tales como gramíneas de los géneros: *Festuca*, *Calamagrostis*, *Poa*, *Carex*, *Bromas* entre otras. La toma de muestras se realizó de forma aleatoria.

El procesamiento de la muestras se realizó en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en Lima.

3.3 MATERIALES EMPLEADOS

Se requirió de los siguientes materiales:

- Tubos vacutainers (10 ml de capacidad).
- Aguja (venoject) de doble vía N° 20 x 1 ½.
- Material de escritorio.
- Caja térmica y refrigerantes.
- Microtubos plásticos de 2 ml.
- Bombillas de succión.
- Centrífuga de 5000 rpm.
- Microdilutores de 25 ul.
- Micropipetas graduadas y sus respectivas puntas.
- Guantes y papel toalla.
- Timer.
- Material de vidrio (tubos, placas, etc.).
- Caja criogénica.
- Aros de jebe.
- Pinza plana de metal.
- Refrigeradora (3-5° C), congeladora (-20° C).
- Estufa Gallenkamp a 37° C.
- Agitador eléctrico.
- Microscopio de fluorescencia (Leica).

3.3.1 Reactivos e insumos de laboratorio

- TOXOTEST (Wiener lab.)
- En IFI: Taquizoítos fijados en porta objetos de IFI, solución tampón de dilución, solución tampón de lavado, conjugado anti-ovino unida a fluorocromo (anti-sheep ig-SIGMA), glicerina tampón de montaje (50 % glycerol – 50 % pH 9 buffer), suero ovino negativa y positivo a *Toxoplasma gondii*.

3.4 DISEÑO ESTADÍSTICO

3.4.1 TAMAÑO MUESTRAL

Se tomó una muestra representativa al azar de la población (exclusivamente hembras), debido a que los animales no se encuentran organizados en puntas y la obtención de los sueros resultaría muy dificultosa.

El número de animales muestreados fue determinado usándose la fórmula de poblaciones finitas (Daniel, 1996).

$$n = \frac{N z^2 pq}{e^2 (N-1) + z^2 pq}$$

Donde:

n = Tamaño de la población a muestrear.

N = Tamaño de la población = Aprox. 1500 ovinos.

z = Nivel de confianza estandarizada 95%= 1,96

p = Proporción referencial = 0,5 (Leguía *et al.*, 1988)

q = 1-p

e = Precisión 0,05.

Se obtuvo un tamaño muestral mínimo de 306 borregas.

Agrupación de animales:

Para fines prácticos los animales del presente estudio fueron categorizados en menores de 1 año, mayores de 1 año y menores de 2 años, mayores de 2 años y menores de tres años y mayores de 3.

3.4.2 Recolección de las muestras

Se realizó por punción de la vena yugular, la toma de muestras de sangre, en una cantidad de 2 a 4 ml, colocadas en tubos vacutainers sin anticoagulante dejándose en reposo e inclinados para su coagulación y posteriormente centrifugarlos para obtener el suero y luego se colocaron en microtubos (2 ml) y se almacenaron a -20 °C, hasta su procesamiento.

3.4.3 Procesamiento de las muestras

3.4.3.1 Detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*

Se realizó mediante las siguientes técnicas:

3.4.3.1.1 Prueba de hemaglutinación Indirecta (HAI) para la detección de anticuerpos (Ig G) contra *Toxoplasma gondii*:

- 1.- Las policubetas fueron pasadas con un paño húmedo por la base para eliminar la carga electrostática.
- 2.- Con una micropipeta de 25 ul se colocó una gota de 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 para cada muestra, colocándose en los pocillos de la fila 1.
- 4.- Enseguida se realizaron las diluciones a partir de la fila 1 (dilución $\frac{1}{2}$) pasando a los microdilutores a la fila 2 (dilución $\frac{1}{4}$) y así sucesivamente hasta la fila 6 (dilución $\frac{1}{64}$).

- 5.- Se colocaron en las filas 1 y 2 (diluciones $\frac{1}{2}$ y $\frac{1}{4}$) 25 ul de glóbulos rojos no sensibilizados para el control de la 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 en reposo al resguardo de vibraciones durante 90 min.
- 9.- Se realizó la lectura a partir de los 90 min.
- 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 a 1/16 (punto de corte) de acuerdo al kit comercial Toxotest-HAI (Winer Lab, 2000).

3.4.3.1.2 Prueba de inmunofluorescencia indirecta

1. Para dar inicio a la prueba, las muestras y los reactivos debieron estar a medio ambiente.
2. Se colocó en tubos de ensayo con tapa, 10 ul de buffer dilución y 500 ul de suero problema (dilución 1:50), se repitió el procedimiento con cada suero problema, se homogenizó aproximadamente 2" en el agitador. Luego se procedió a colocar 10 ul de cada suero diluido en cada pozo de la lámina de inmunofluorescencia la cual contenía taquizoítos fijados de *T. gondii*, identificándolo, se usó una punta nueva para cada llenado. Previamente en los dos primeros pozos se colocaron controles positivos y negativos.
3. Se colocaron las láminas en una cámara húmeda y se llevó a la estufa por 37°C x 30 min.

4. Se retiró de la estufa y el exceso de líquido de cada lámina se desechó y se colocaron las láminas en un vaso Coplin que contiene buffer de lavado, luego se procedió a secar cada lámina x 5 ‘.
5. Se colocó 10 ul del conjugado anti-ovino dentro de cada pozo de la lámina, se coloca la lámina dentro de la cámara húmeda y fue llevada a estufa nuevamente.
6. Una vez retirada de la estufa se desechó el líquido sobrante y nuevamente se sometió a la acción del buffer de lavado.
7. Se procedió a colocar 10 ul de glicerina en cada pozo, se colocó la lámina cubreobjeto.
8. Luego fue llevada al microscopio de fluorescencia (Leica) para su evaluación, usando aceite de inmersión.
- 9.- Lectura: La fluorescencia completa del taquizoíto, se interpretó como un resultado positivo, mientras que la fluorescencia parcial o ausente del taquizoíto, nos indicó un resultado negativo.

3.5 ANÁLISIS DE DATOS

Para determinar el grado de concordancia entre las dos técnicas empleadas se usó la prueba de Kappa, para lo cual se elaboró una tabla de contingencia de 2 x 2 que se detalla a continuación. Para determinar si las pruebas son mutuamente reemplazables se usó la prueba de Mc Nemar (González y Falcón, 1999).

		Prueba A		
		Positivo	Negativo	Total
Prueba B	Positivo	a	b	n ₁
	Negativo	c	d	n ₂
	Total	f ₁	f ₂	N

Para luego aplicar la fórmula de Kappa:

$$K = \frac{N(a+d) - (n_1f_1 + n_2f_2)}{N^2 - (n_1f_1 + n_2f_2)}$$

Una vez determinado el valor de Kappa se usó la siguiente tabla para determinar el grado de concordancia entre las pruebas:

Valor de K	Grado de asociación
< 0	Muy pobre
0.00 - 0.20	Ligera
0.21 - 0.40	Regular
0.41 - 0.60	Moderada
0.61 - 0.80	Sustancial
0.81 - 1.00	Perfecta

Para la prueba de Mc Nemar se usó la siguiente fórmula:

$$X_{Mc}^2 = \frac{(b-c)^2}{b+c}$$

El estadístico calculado se comparará con un valor tabular de Chi Cuadrado utilizando un grado de libertad y al nivel del 5 %. Siguiendo estos valores:

$X_{Mc} < X_{Mt}$ las pruebas se pueden reemplazar mutuamente.

$X_{Mc} > X_{Mt}$ las pruebas no se pueden reemplazar mutuamente.

Prevalencia

Fue determinada adicionalmente para cada una de las pruebas serológicas. Además se halló la frecuencia de infección para cada categoría de edad.

$$p = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ Indv. Positivos a la prueba}}{\text{N}^{\circ} \text{ Anim. muestreados}}$$

Intervalo de confianza:

Los resultados se han acompañado de sus respectivos intervalos de confianza.

$$IC = p \pm z_{(95\%)} \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$$

IV. RESULTADOS

Para medir la concordancia entre los resultados de las técnicas de HAI e IFI se usaron las pruebas de Kappa la cual mide el grado de concordancia entre las técnicas evaluadas y además se empleó Mc Nemar para determinar si una prueba es reemplazable por la otra. En el cuadro 1 se presentan los resultados de los sueros de borregas hallados mediante las técnicas de HAI e IFI y agrupados de acuerdo a su concordancia. La prueba de Kappa arrojó un valor que indicaba una concordancia regular de 0,24 mientras que la prueba de Mc Nemar detectó una diferencia significativa entre las técnicas ya que el coeficiente calculado fue de 117 siendo mayor que el de tabla, demostrando que una prueba no puede ser reemplazada por la otra.

En el cuadro 2 se muestra que la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en ovinos del Fundo Santa María mediante las técnicas de HAI e IFI fue de 50.3 ± 5.6 % y de 88.1 ± 3.6 % para cada una de las técnicas respectivamente. Así mismo muestra la frecuencia de *Toxoplasma gondii* para los diferentes grupos de edades mediante las dos técnicas utilizadas, así la prueba de HAI mostró que la frecuencia se incremento conforme lo hizo la edad, observándose diferencia estadística significativa para el efecto de la variable edad ($p < 0.01$), obteniéndose estos resultados al hacer uso la prueba de chi cuadrado. Mientras que mediante la prueba de IFI se halló diferencia estadística significativa entre los animales menores de un año con el resto de grupos, además se puede observar que no existe diferencia estadística entre los animales de las demás edades.

Cuadro 1. Distribución de los sueros de borregas según los resultados de las técnicas de HAI e IFI para la detección de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii*, en el Fundo Santa María, Puno, 2002.

		IFI		Total
		Positivo	Negativo	
HAI	Positivo	156	0	156
	Negativo	117	37	154
Total		273	37	310

Cuadro 2. Resultados de la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* mediante las técnicas de HAI e IFI según grupos etareos, en borregas del Fundo Santa María, Puno, 2002.

Grupo Edad (años)	Total muestreado	HAI		IFI	
		Positivos	%	Positivos	%
< 1	43	10	23.3	31	72.1
1 < 2	30	10	33.3	27	90.0
2 < 3	48	25	52.1	44	91.7
> 3	189	111	58.7	171	90.5
Total	310	156	50,3±5.6	273	88.1±3.6

V.- DISCUSIÓN

Las técnicas utilizadas para el diagnóstico de la toxoplasmosis son variadas y su uso depende mucho de las facilidades de equipos y reactivos con los que cuente el laboratorio que los emplee, existiendo además diferencias entre la sensibilidad y especificidad que ellas ofrecen. Es así que para el presente estudio se eligieron dos de las pruebas más usadas en nuestro medio para la detección de toxoplasmosis en ovinos, la HAI y La IFI, con la finalidad de compararlas obteniéndose un índice Kappa de 0,24 y un Mc Nemar que presentó diferencia significativa, con lo cual asumimos que el grado de asociación de los resultados es regular y ambas técnicas no son reemplazables mutuamente. Estudios similares realizados en Brasil en cerdos mediante las pruebas de HAI e IFI encontraron un Kappa de 0,46 y Mc Nemar con diferencia significativa (Germani y Pacheco, 2002), otros autores también en cerdos mediante las técnicas de HAI e IFI para anticuerpos anti *Toxoplasma gondii* obtuvieron un índice de Kappa de 0,69 (Ishizuka, *et al.*, 1986), estos resultados aunque mayores a nuestro índice Kappa corrobora nuestros resultados con lo cual podemos asumir que el grado de concordancia entre las pruebas tiende de regular a moderado según sea la especie animal que se evalúe, existiendo en los estudios mencionados diferencia significativa entre las entre las técnicas.

En humanos se comparó el uso de HAI e IFI y test inmunoenzimático de captura de Ig M (CAP-M) para el diagnóstico de la toxoplasmosis, aquí la prueba

de HAI fue comparable a la prueba de IFI en cuanto a sensibilidad y especificidad, de los 350 sueros de dicho estudio, todos los reactores a IFI-Ig G (50,9 %) fueron también a HAI (52 %), los autores concluyeron que es viable el uso de HAI como prueba de selección de reactores y no reactores pero asociando la IFI-Ig G y la CAP-M para el diagnóstico de infecciones recientes (Camargo *et al.*, 1986). En otro estudio en humanos, se comparó las técnicas de ELFA (enzyme linked fluorescent assay), IFI y HAI en el diagnóstico de toxoplasmosis, obteniendo 38 positivos para ELFA, 48 en IFI y 39 en HAI, de un total de 100 muestras, aquí los resultados concuerdan con los nuestros ya que confieren una mayor positividad para IFI, y esto podía atribuirse a la falta de detección de antígenos de superficie, los primeros en ser formados, por parte de la prueba de HAI (Camargo *et al.*, 1998).

En caninos se comparó las técnicas de ELISA, IFI y HAI, siendo positivos 9 canes (22,5 %) en HAI, 14 (35 %) en IFI y 14 (35 %) en ELISA, hubo alta correlación entre IFI y ELISA y baja entre IFI y HAI (Silva *et al.*, 1981). En ovinos en un estudio se encontró 10 ovejas positivas con HAI ($\geq 1:128$) y 15 para IFI ($\geq 1:160$) de un total de 87 animales; de una segunda colecta de 36 ovejas, 8 fueron positivas a HAI ($\geq 1:32$) y 9 a IFI ($\geq 1:320$), estos resultados fueron considerados positivos para HAI y confirmados por IFI, dando una mayor confiabilidad del resultado, ya que pueden ocurrir falsos negativos en la HAI debido a la interferencia con Ig M (Silva, 2001).

La HAI es una técnica que se viene utilizando en clínicas y hospitales veterinarios, el antígeno es de fácil obtención en el comercio y ofrece resultados rápidos, requiere pequeña cantidad de sangre o suero y una mayor facilidad de ejecución e interpretación de los resultados (Suárez *et al.*, 2002), es así que su uso es práctico y recomendable (Camargo *et al.*, 1986; Ishizuka *et al.*, 1986). La prueba de IFI tiene el inconveniente de requerir equipo sofisticado (Suárez, 2002), pero es una prueba específica y sensible (Dubey, 1990; Frenkel, 1997 y Aráujo, 1999) pero la desventaja está dada básicamente por el alto costo del microscopio de inmunofluorescencia (Corcuera *et al.*, 1981), además de presentar

interferencias como luminosidad, objetivos del microscopio, filtros, sensibilidad del conjugado y del antígeno y la lectura es subjetiva (Camargo *et al.*, 1998).

La mayoría de autores concluyen en que la especificidad y sensibilidad varían según la prueba empleada, obteniendo los mejores resultados con IFI que con HAI y sería recomendable el uso de dos técnicas como mínimo para el diagnóstico (Camargo *et al.*, 1998; Silva *et al.*, 1997)

Adicionalmente al objetivo del presente estudio se pretendió estimar la seroprevalencia del *Toxoplasma gondii* en los ovinos hembras del Fundo Santa María, de la Provincia de Melgar, Departamento de Puno por las dos diferentes técnicas: HAI e IFI. La seroprevalencia para *Toxoplasma gondii* por el método de HAI para nuestro trabajo fue de 50.3 ± 5.6 %, lo cual confirma los valores serológicos encontrados por otros autores por el mismo método en nuestro país, por ejemplo Leguía y col. en 1987 al realizar un estudio en borregas con historial de aborto encuentra una prevalencia de 48 % por el método de HAI ; Samamé y col. en 1983, al realizar un estudio en ovinos en los departamentos de Ancash, Junín y Puno para época lluviosa y seca encuentra una prevalencia de 68.4 % y 53.8 % respectivamente; Rojas en 1990 reporta prevalencias para ovinos de 39 %.

Otros autores usando el mismo método diagnóstico para detección de toxoplasmosis en 250 ovinos faenados, reportan valores más altos como el dado por Contreras y Tejada en 1974, al realizar un estudio en seis departamentos encontrando prevalencias de 93.8 %, 72.7 %, 20 %, 100 %, 80.9 % y 100 % para Arequipa, Ayacucho, Cajamarca, Ica, Lima y Puno respectivamente por el método de HAI. A su vez otros autores reportan valores por debajo de nuestro promedio como Samamé y col. quienes en 1983 al realizar un muestreo anual en la zona de la sierra (norte, centro y sur) tanto para época seca y lluviosa encontró 17.6 % y 16.5 % de prevalencias respectivamente y a su vez no encuentra diferencia estadística entre estas épocas.

En lo que respecta a las frecuencias de *Toxoplasma gondii* por grupo de edades en el presente estudio mediante el método de HAI se encontró que éstas variaban desde 23.3 para animales menores de 1 año, hasta 58,7 para animales mayores de 3 años, estos resultados fueron similares a los encontrados por Leguía y col quienes en 1987 en un estudio en borregas con historial de aborto, encontrando en borregas de primer parto 25 %, de segundo parto 40 % y tercer parto 55 %, encontrando diferencia significativa entre los grupos.

En lo que respecta a las frecuencias de *Toxoplasma gondii* por el método de IFI para nuestro trabajo fue de 88.06 ± 3.61 , dando frecuencias que se encontraban desde 72,1 %, en animales menores de un año hasta 91,7 % en animales menores de tres años. Por el método de IFI se cuentan con escasos reportes, uno de los más recientes es el reportado por Caldas en el 2004 realizado en el departamento de Junín en borregas en edad reproductiva dando como prevalencia promedio 65.89 ± 4.7 %, así también reporta una prevalencia por rango de edades de 2 a 3 años, de 3 a 4 años y mayor de 4 años, las frecuencias variaron de 55.1 %; 65.9 % y 72.9 % respectivamente.

En otras especies en nuestro país se han reportado también alta prevalencia de este protozoario, así en Puno (INIA-Quimsachata) por medio de la técnica de HAI, de 200 alpacas el $44,5 \pm 6,9$ % fue positiva a *T. gondii* y de 136 llamas el $27,9 \pm 7,5$ % presentaron reacción. Se vió que el sexo y la edad pueden ser factores que afecten la prevalencia de la toxoplasmosis (Gómez, 2002), tal como se asume en nuestro trabajo, ya que el muestreo que se realizó fue sólo en hembras por que los mayores reportes de infección se hallan en ellas . En vicuñas se encontró que de 101 muestras de sangre procesadas por medio de HAI, se halló que el $14,85 \pm 5,86$ % eran positivas (Pastor, 2002).

Los estudios comprueban lo citado por la bibliografía de la alta dispersión de este protozoario a nivel mundial en todas las especies y el efecto que tiene en la economía pecuaria, es así por ejemplo, en un estudio en Uruguay se detectó

toxoplasmosis, en ovinos antes y después de la gestación, con la reacción de aglutinación directa, en 1613 ovejas de 18 establecimientos de diferentes departamentos, de 1992 a 1994, encontrándose prevalencias de 28,7 % antes de la gestación y 38,5 % luego de la misma, con una incidencia de 9,8 %, en este estudio se determinó que por esta enfermedad el sector lanero podría dejar de percibir entre 1,5 a 4,8 millones de dólares anuales (Freyre *et al.*, 1997).

VI. CONCLUSIONES

- I. El grado de asociación encontrado entre las técnicas de HAI e IFI para detectar anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en borregas del Fundo Santa María, Puno, fue de tipo regular al hallarse un valor de Kappa (K) igual a 0.24
- II. Por medio de la prueba de Mc Nemar se encontró que existe diferencia significativa entre las técnicas de HAI e IFI y que dichas pruebas no son mutuamente reemplazables entre sí, es decir, ambas técnicas son independientes en su uso.
- III. La estimación de la seroprevalencia para anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en ovinos hembras de la raza Merino hembras del Fundo Santa María, Distrito de Nuñoa, Provincia de Melgar, Departamento de Puno, fue considerablemente alta: 50.3 ± 5.6 % por el método de HAI y 88.1 ± 3.6 % por el método de IFI.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Acha, P.; B. Szyfres. 1988. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2ªed. p 646-658. OPS. Washington.
2. Amato Neto, V., E.A.S. Medeiros, G.C. Levi; M.I.S. Duarte, 1995. Toxoplasmose. 2ª ed. p.3. Ed. Sarvier, São Paulo.
3. Ameghino, E. 1988. Avances sobre investigación en salud animal-ovinos. UNMSM. Bol. Div. 21:50. Lima.
4. Araujo F. A. P. 1999. Avaliacao soroepidemiológica de anticorpos para *Toxoplasma gondii* Nicolle y Manceaux. 1909 em soros de suínos (*Sus scrofa*) da regioao da grande Erenchim, RS- Brasil, detectados através das técnicas de imunofluorescencia indireta e imunoenzimática. 125 p. Río de Janeiro-RJ. Tese (Doctorado). Instituto Oswaldo Cruz.
5. Arthur, G. 1991. Reproducción y obstetricia en veterinaria. 6ªed., p 498-500. Ed. Interamericana. Madrid.
6. Atías, A. 1994. Parasitología clínica. 3ª ed. p 269-282. Publicaciones Técnicas Mediterraneo. Santiago de Chile.
7. Barandika, J. F; G. Aduriz; B. Moreno; B. Oporto; A. Hurtado; A. L. García-Pérez. 2002. Avance en la etiología de diagnóstico de los abortos infecciosos ovinos: causas de aborto en la Comunidad Autónoma del País Vasco. Instituto Vasco Agrario de la Investigación y Desarrollo Agrario. Congreso de la CEOC. España. En <http://exopol.com/general/circulares/107circ.html>. Accesado: 25-02-03.

8. Braselli, A. Toxoplasmosis. Infecto. En <http://infecto.edu.uy/indicetana.html>. Accesado: 25-04-03
9. Borchert, A. 1981. Parasitología veterinaria. 3ª Reim. p 656-667. Ed. Acribia. España.
10. Bustamante, J. 1999. Estudio comparativo de frecuencia de toxoplasmosis en porcinos procedentes de crianza tecnificada y no tecnificada. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 61p.
11. Blood, D. C; O.M. Radostits. 1992. Medicina Veterinaria. 6ª ed. p 1083-1087. Ed. Interamericana. España.
12. Caldas, P. 2004. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en una empresa ganadera de la Sierra Central-Junin. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 77 p.
13. Camargo, A.; A. Silva; H. Marrocos; J. Rosenail; L. Olivera; R. Falcao. 1998. Estudio comparativo entre diferentes métodos para diagnóstico da toxoplasmosis humana. Newslab. 28:121-128.
14. Camargo, M.; A. Ferreira; A. Rocca; Z. Belem. 1986. Um test prático para a sorologia da toxoplasmosis: o teste de hemaglutinacao. Estudio comparativo com os testes de imunofluorescencia e imunoenzimático de captura de Ig M. Revista Brasileira de Patología Clínica. 22:196-201.
15. Carmona, G. 2003. Comentarios. Programa MCKEE. En: <http://programamckee.or.cr/comentarios/toxoplasmosis.htm>. Accesado: 15-02-03.
16. Castro, M. América Salud. 2000. Toxoplasmosis. En: <http://www.americasalud.com>. Accesado: 01-04-2002.
17. Contreras, O.; A. Tejada. 1974. Estudio serológico sobre toxoplasmosis en ganado ovino beneficiado en Lima-Perú. Parasit. Lima-Perú 147-153 p.
18. Corcuera, M. T.; J. Lozada; R-F, López. 1981. Estudio comparativo de las distintas técnicas serológicas utilizadas para el diagnóstico de la toxoplasmosis. Revista de Sanidad e Higiene Pública. 55: 1045-1059.

19. Cordero del Campillo, M; F. Rojo-Vásquez. 1999. Parasitología veterinaria. p 333-341, 583, 665-669. Ed. Interamericana. España.
20. Couto, G.; R.W. Nelson, 1999. Medicina interna de pequeños animales. P 830-832. Ed. Harcourt. Madrid.
21. Daniel, W. 1996. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud 5ª ed. p 205-207. Ed. Limusa. México.
22. Doria, D. 1984. Zoonosis parasitarias con localización ocular en Lima Metropolitana. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 27 p.
23. Dubey, J; C. Beattie, 1988. Toxoplasmosis of animals and man. CRC Press. Boca Ratón, Florida.
24. Dubey, J. 1990. Diagnosis of livestock abortion due to *Toxoplasma gondii*. In: Laboratory diagnosis of Livertock abortion. 3ª ed. Ames: Iowa State University Press, 260 p.
25. Dubey, J. 1995. Duration of inmunity to sheeding of *Toxoplasma gondii* oocyst in cats. J. Parasitol. 81: 410-415.
26. Frenkel, J. 1997. Toxoplasmosis. In: Veronesi, R.; Foccacia, (Eds). Tratado de infectología. Sao paulo: Atheneu, p 1290-1306.
27. Freyre, A.; J. Bonino; J. Falcón; D. Castells; A. Casaretto; C. Gedda; P. Seremini; D. Pereira; A. Amir; A. Caresani. 1997. Aborto ovino toxoplásmico: su significación económica en el Uruguay. Producción ovina, Uruguay 10: 29-41.
28. Freyre, A.; J. Falcón; O. Correa; J. Venzal; D. Morgades; J. Méndez; M. González. 2003. Línea de investigación: toxoplasmosis. En: <http://www.fvet.edu.uy/parasito/majada.htm>. Accesado el 15-02-03.
29. Freyre, A. 1989. Toxoplasmosis en las especies domésticas y como zoonosis. Montevideo: Departamento de Publicaciones de la Universidad de la República de Uruguay. 332 p.
30. García, M. 2002. Estudio de las zoonosis parasitarias de localización ocular en el Instituto de Oftalmología (INO) durante el período 1985-1999. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 65 p.

31. Gatti, R. Toxoplasmosis. Asociación Argentina de Medicina Felina. En: <http://www.aamefe.org.ar/toxoplasmosis.html>. Accesado el 31-01-03.
32. Germani, C.; F. Pacheco. 2002. Comparacao entre os testes de imunofluorescencia indirecta e hemaglutinacao indirecta para deteccao e anticorpos anti *Toxoplasma gondii* em soros de suínos. Acta Scientiae Veterinariae. 30(3):185-189.
33. González, A.; N. Falcón. 1999. Análisis de datos en Medicina Veterinaria. Pub. Tec. FMV. Lima, N° 49:57.
34. Greene, C. 2000. Enfermedades infecciosas en perros y gatos. 2da ed. p 542-554. Interamericana. México.
35. Gómez, F. 2002. Determinación de la seroprevalencia de toxoplasmosis en alpacas y llamas en la Estación Experimental INIA-Puno. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 51p.
36. Herrera, C. 2003. Toxoplasmosis. www.mundobebe.com.uy. Accesado el 16-05-03.
37. Howe, D.; I. Sibley. 1995. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineales correlation of parasite genotype with human disease. J. Infect Dis. 184, 633:639.
38. Howe, D., S. Honore; F. Derouin; I. Sibley. 1997. determination of genotypes de *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients with toxoplasmosis. J. Clin. Microbiol. 35, 1411:1414.
39. Ishizuka, M. 1978. Avilacao da frecuencia de reagentes ao *Toxoplasma gondii*, pela prova de imunofluorescencia indireta, em suínos de matadouros do municipio de Sao Paulo. Rev. Fac. Med. Vet. Zootecnia, Univ. Sao Paulo, 15(2):151-153.
40. Ishizuka, M.; J. D' Angelino; J. Souza. 1986. Toxoplasmosoe suína II. Estudo comparativo das provas de imunofluorescencia indireta e hemaglutinacao para avaliacao de anticorpos anti-toxoplasma em soros suínos. Boletín de la oficina Sanitaria Panamericana. 100:524-530.
41. Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). 1996. III Censo Nacional Agropecuario. Compendio Estadístico, p 24-26, 2241-2251. Dir. Tecn. de Censos y Encuestas.

42. Izquierdo, N. 1986. Estudio coproparasitológico y serológico sobre toxoplasmosis en gatos de Cajamarca. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional de Cajamarca. 71p.
43. Kirk, B. 1997. Terapéutica veterinaria de pequeños animales XII. 1^{ra} ed. En español. Ed. Interamericana. México.
44. Leguía, G.; C. Guerrero; P. Dionisio. 1987. *Toxoplasma gondii* en borregas abortadas y con mortalidad de crías. MV Rev. Cien. Vet. FMV-UNMSM, Lima, Vol. 3 N° 1: 23-25.
45. Leguía, G. 1999. Enfermedades parasitarias de camélidos sudamericanos. 1^a ed. p 31-34. Ed. De Mar. Lima.
46. Leguía, G.; H. Samamé; C. Guerrero; M. Rojas; A. Núñez. 1988. Prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en alpacas. Rev. Cam. Sud., Lima N° 6.
47. Lombardero, O. 1990. Lecciones de Parasitología. 60 ciclos biológicos de interés veterinario. 1^a ed. Hemisferio Sur. Argentina
48. Marín, W. 2002. Enfermedades de la oveja. 2^{da} ed. p 103-112. Ed. Acribia. España.
49. Mateus, N.; R. Weigel. 2000. Transmisión del *Toxoplasma gondii* en granjas porcícolas. Medicina Tropical, Memorias. XVII Congreso Panamericana de Ciencias Veterinarias. Atlapa, Panamá.
50. Morris, J. G. 1996. Food safety symposium: The safety of foods of animal origin. Journal of the American Veterinary Medical association. 209: 2045-2047.
51. Ortega-Mora, L. M. 1997. Toxoplasmosis y neosporosis. Rev. Ovis. Sep. Madrid, 52: 11-73.
52. Pastor, J. 2002. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en vicuñas de Puno. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 62p.
53. Rojas, M. 1990. Parasitismo de los rumiantes domésticos. 1^a ed. p. 326-334. Editorial Mijosa. Lima.
54. Rodríguez, M. 1992. Determinación de la prevalencia de toxoplasmosis en caprinos por un método de ELISA en el valle de

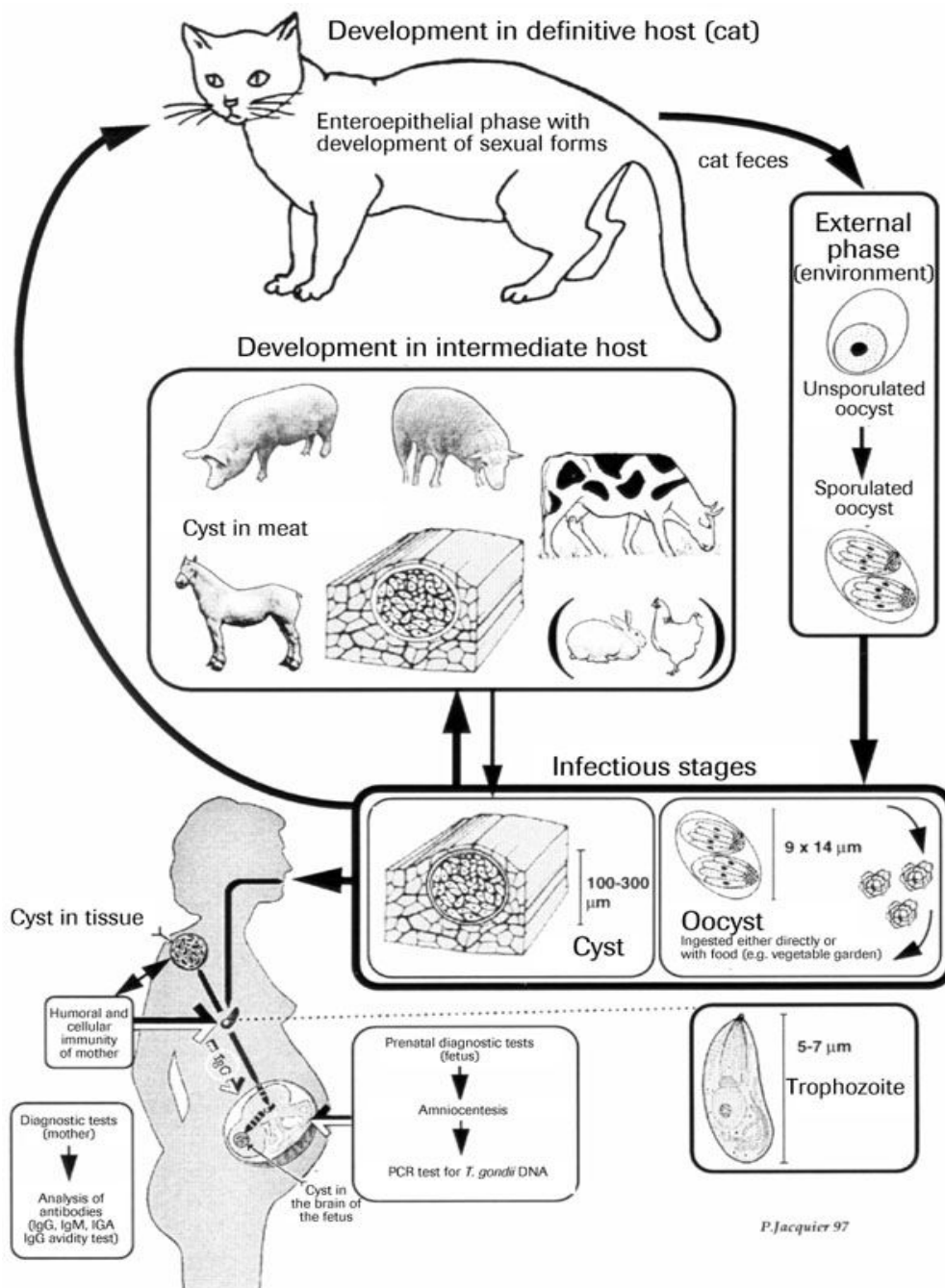
Cañete. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 62 p.

55. Roitt, I.; J. Brostoff; D. Male. 2001. *Inmunology*. 6th ed. Mosby, UK.
56. Samamé, H.; J. Reif; E. Ameghino; E. López. 1986. The relationship between infection with *Toxoplasma gondii* and reproductive outcome in sheep. En: *Toxoplasmosis en ovinos de la sierra del Perú*. Res. Proy. Inv. UNMSM. 3:52.
57. Samamé, H.; E. López; J. Reif. 1983. *Toxoplasmosis en ovinos de la sierra del Perú*. Res. Proy. Inv. UNMSM. 3:52.
58. Shuhaiber, S.; G. Koren; T. Einarson; O. Soldin; A. Einarson. 2003. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among veterinary staff in Ontario, Canada (2002): Implications for teratogenic risk. *BMC Infect May*. 23:3(1):8.
59. Silva, D.; D. Cabral; B. Bernardina; M. Souza; J. Mineo. Detection of *Toxoplasma gondii*- specific antibodies in dog. A comparative study of immunoenzymatic, immunofluorescent and haemagglutination titres. *Memórias do Instituto Oswaldo cruz*. 92:785-789.
60. Silva, N.; E. Chaplin; L. Méndez; F. Araujo. 1981. Determinação de anticorpos toxoplásmicos em soros de suínos abatidos em matadouros, na região do Alto Taquari, RS, Brasil. *Arq. Fac. Vet. UFRGS, Porto Alegre*, 9:33-38.
61. Silva, J. 2001. Análise de transmissão congênita de *Toxoplasma gondii* em ovinos em duas propriedades no município de Rosario do Sul. Santa Maria-Rs. 16p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Maria.
62. Soulsby, E. 1987. *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. 7^a ed. p 681-693. Ed. Interamericana. México.
63. Suárez, F.; J. Andrade; A. Jiménez; A. Hung; C. Huallanca. 1998. Frecuencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en cerdos destinados al consumo humano mediante la prueba de ELISA. XXI Reunión Científica Anual de la APPA, UNA, Puno.
64. Suárez, F.; H. Andrade; A. Galisteo. 1999. Evaluación serológica del *Toxoplasma gondii* en suínos mediante la prueba de ELISA. *Rev. Inv. Vet. Perú, Lima* 10(1): 11-17.

65. Suárez, F.; H. Andrade; A. Galisteo; O. Miguel. 2002. Concordancia de la pruebas de ELISA y hemaglutinación indirecta en el diagnóstico de la toxoplasmosis porcina. Rev. Investig. Vet. Perú, 13:1.
66. Tejada, A.; V. Zorrilla. Toxoplasmosis en el Perú. Experiencia en el Instituto de Medicina Tropical Daniel A. Carrión, UNMSM. IV Congreso Peruano de Parasitología- Set. 2000. Libro de Resúmenes. Lima.
67. Tizard, I. 1996. Inmunología veterinaria. 5ª Ed., p 243-245. Ed. Interamericana. México.
68. Thrusfield, M. 1990. Epidemiología veterinaria. p.42, 130,173 y 339. Editorial Acribia. España.
69. Vásquez, R. 1985. Estudio serológico sobre toxoplasmosis en ganado porcino beneficiado en Lima. Tesis Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima. 43 p.
70. Venturini, L.; M. Venturini; I. Omata; G. De Carolis. 1997. *Toxoplasma gondii* en gatos mediante las pruebas de Inmuno-flourescencia y de Aglutinación de látex. Vet. Argentina. 12 (111): 48-50.
71. Vidal, M. 1990. Prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en cabras de la Provincia de Lima. Tesis Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 46 p.
72. Vidotto, O.; A. J. Costa; M. R. S. Balarin; M. A. Rocha.1987. Toxoplasmosis experimental em porcas gestantes. Observacoes clínicas e hematológicas. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e zootecnia. 39: 623-639.
73. Vigo, M.; E. Gonzáles; C. Rojas; H. Samamé. 1987. Prevalencia de anticuerpos a *Toxoplasma gondii* en gatos domésticos (*Felix doméstica*) de la ciudad de Chiclayo. X Congreso Latinoamericano de Microbiología. Trujillo.
74. Wiener Lab. Toxotest HAI. 2000. Prueba de hemaglutinación indirecta (HAI) para la detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*. Argentina.

IX. ANEXOS

Anexo1. Ciclo biológico del *T. gondii*



Anexo 2. Análisis estadístico computarizado (Stata 8).

Crosstabs

HAI * IFI Crosstabulation

Count		IFI		Total
		negativo	positivo	
HAI	negativo	37	117	154
	positivo		156	156
Total		37	273	310

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error ^a	Approx. T ^b	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.241	.036	6.524	.000
N of Valid Cases		310			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Chi-Square Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		.000 ^a
N of Valid Cases	310	

a. Binomial distribution used.

Crosstabs

EDAD * HAI Crosstabulation

			HAI		Total
			negativo	positivo	
EDAD	dientes de leche	Count	33	10	43
		% within EDAD	76.7%	23.3%	100.0%
	2 dientes	Count	20	10	30
		% within EDAD	66.7%	33.3%	100.0%
	4 dientes	Count	23	25	48
		% within EDAD	47.9%	52.1%	100.0%
	boca llena	Count	78	111	189
		% within EDAD	41.3%	58.7%	100.0%
Total		Count	154	156	310
		% within EDAD	49.7%	50.3%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	21.469 ^a	3	.000	
Likelihood Ratio	22.229	3	.000	
Linear-by-Linear Association	20.899	1	.000	
McNemar Test				. ^b
N of Valid Cases	310			

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 14.90.

b. Computed only for a PxP table, where P must be greater than 1.

Crosstabs

EDAD * IFI Crosstabulation

			IFI		Total
			negativo	positivo	
EDAD	dientes de leche	Count	12	31	43
		% within EDAD	27.9%	72.1%	100.0%
	2 dientes	Count	3	27	30
		% within EDAD	10.0%	90.0%	100.0%
	4 dientes	Count	4	44	48
		% within EDAD	8.3%	91.7%	100.0%
	boca llena	Count	18	171	189
		% within EDAD	9.5%	90.5%	100.0%
Total		Count	37	273	310
		% within EDAD	11.9%	88.1%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	12.181 ^a	3	.007	
Likelihood Ratio	9.858	3	.020	
Linear-by-Linear Association	7.959	1	.005	
McNemar Test				. ^b
N of Valid Cases	310			

a. 1 cells (12.5%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.58.

b. Computed only for a PxP table, where P must be greater than 1.

Frequencies

Frequency Table

EDAD

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	dientes de leche	43	13.9	13.9	13.9
	2 dientes	30	9.7	9.7	23.5
	4 dientes	48	15.5	15.5	39.0
	boca llena	189	61.0	61.0	100.0
	Total	310	100.0	100.0	

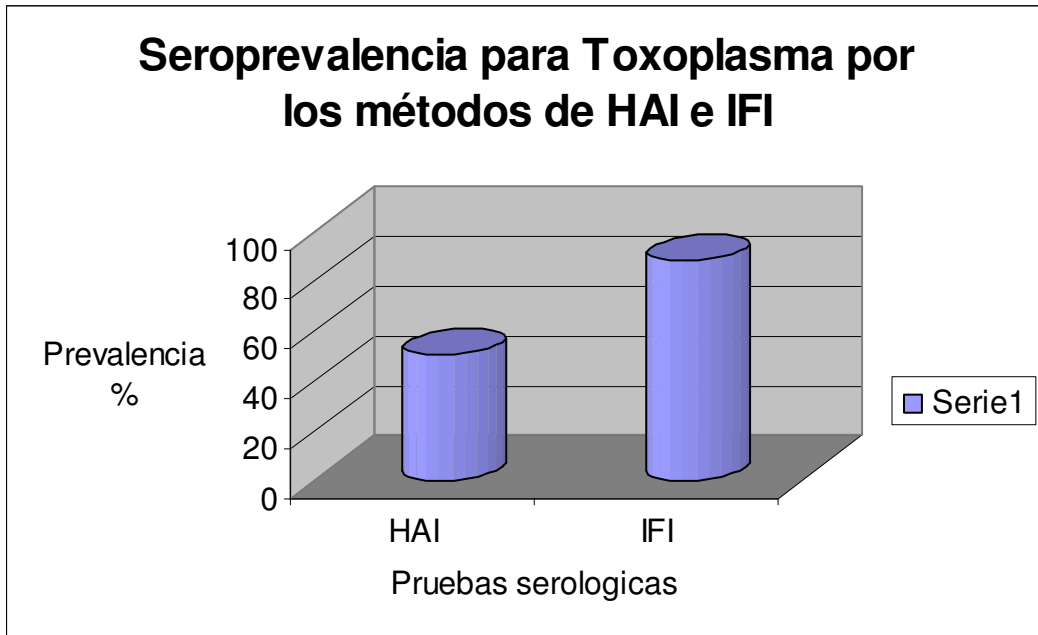
HAI

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	negativo	154	49.7	49.7	49.7
	positivo	156	50.3	50.3	100.0
	Total	310	100.0	100.0	

IFI

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	negativo	37	11.9	11.9	11.9
	positivo	273	88.1	88.1	100.0
	Total	310	100.0	100.0	

Anexo 3.



Anexo 4.

Comparación de las seroprevalencias encontradas para las pruebas de HAI e IFI expresado en categoría de edades

