

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(*Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA*)

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA  
VETERINARIA



**Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii*  
en alpacas (*Lama pacos*) de la Unidad de  
Producción de Cochabamba de la SAIS  
Túpac Amaru**

TESIS  
para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Edwin Clever Poma De La Cruz

Lima - Perú  
2003

**GRACIAS**

**A MIS PADRES : ROSA DE LA CRUZ GUTIERREZ Y  
TORIBIO POMA CONTRERAS**

**A MIS HERMANOS : MARIA, RONALD, MONICA, ROXANA**

**A LOS DOCTORES : AMANDA CHAVEZ, EVA CASAS,  
ENRIQUE SERRANO, FRANCISCO SUAREZ**

**A MIS AMIGOS : SERGIO, MARCO, DANIEL, JOSE,  
JUANCARLOS, JORGE**

**Y A TODOS AQUELLOS QUE DE UNA U OTRA MANERA ME  
BRINDARON SU APOYO Y AYUDA PARA LA CULMINACION DE MI  
TESIS**

## INDICE

<b>LISTA DE CUADROS</b>	
<b>RESUMEN</b>	
<b>SUMMARY</b>	
<b>I. INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>II. REVISION BIBLIOGRAFICA</b>	<b>3</b>
2.1 Etiología	3
2.1.1 Clasificación Taxonómica	4
2.1.2 Estadios de desarrollo	4
2.1.2.1 Taquizoito	4
2.1.2.2 Bradizoito	5
2.1.2.3 Quiste tisular	6
2.1.2.4 Ooquiste	7
2.1.3 Ciclo biológico	7
2.1.3.1 Fase enteroepitelial o sexual	7
2.1.3.2 Fase extraintestinal o asexual	9
2.2 Epidemiología	10
2.2.1 Del parásito	11
2.2.2 Del hospedero	11
2.2.3 Del medio ambiente	12
2.2.4 Importancia en salud pública	13
2.3 Patogenia	14
2.4 Inmunidad	17
2.5 Sintomatología y lesiones	20
2.5.1 Toxoplasmosis en el hombre	20
2.5.2 Toxoplasmosis en los animales	23
2.5.2.1 Toxoplasmosis en el gato	23
2.5.2.2 Toxoplasmosis en el ovino	25
2.6 Diagnostico	27
2.6.1 Técnicas diagnosticas	27
2.6.1.1 Aislamiento del parásito	27
2.6.1.2 Aislamiento en cultivo celular	27
2.6.1.3 Histopatología	28
2.6.1.4 Examen de Heces	28
2.6.1.5 Prueba de Toxoplasmina	28
2.6.1.6 Técnica de Peroxidasa – Antiperoxidasa	29
2.6.1.7 Prueba de Sabin y Feldman	29
2.6.1.8 Prueba de inmunofluorecencia indirecta (IFI)	30
2.6.1.9 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	30
2.6.2.0 Prueba de ELISA	31
2.6.2.1 Prueba de aglutinación en látex	31
2.6.2.2 Prueba de hemaglutinación indirecta (HAI)	32

2.7 Tratamiento	32
2.8 Prevención y Control	32
<b>III. MATERIALES Y METODOS</b>	<b>34</b>
3.1 Materiales	34
3.1.1 Lugar de estudio	34
3.1.2 Material para la colección de muestras	34
3.1.3 Material empleado para el análisis de las muestras	35
3.2 Metodología	35
3.2.1 Tamaño muestral	35
3.2.2 Procesamiento y análisis de las muestras	37
3.2.3 Técnica de laboratorio	37
3.2.3.1 Desarrollo de la técnica	37
3.2.4 Análisis de datos	38
3.2.4.1 Prevalencia	39
3.2.4.2 Intervalo de confianza	39
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSION</b>	<b>40</b>
<b>V. CONCLUSIONES</b>	<b>46</b>
<b>VI. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>47</b>

## LISTA DE CUADROS

		<u>Pag.</u>
Cuadro 1	Población total de alpacas de la Unidad de Producción de Cochas de la SAIS Túpac Amaru – Junín, 2000	36
Cuadro2	Tamaño muestral estratificado según el sexo y la edad de alpacas de la Unidad de Producción de Cochas de la SAIS Túpac Amaru – Junín, 2000	36
Cuadro 3	Seroprevalencia de <i>Toxoplasma gondii</i> en alpacas de la Unidad de Producción de Cochas de la SAIS Túpac Amaru – Junín, 2000	44
Cuadro 4	Seroprevalencia de <i>Toxoplasma gondii</i> en alpacas según el sexo, de la Unidad de Producción de Cochas de la SAIS Túpac Amaru – Junín, 2000	44
Cuadro 5	Seroprevalencia de <i>Toxoplasma gondii</i> en alpacas según grupo etéreo, de la Unidad de Producción de Cochas de la SAIS Túpac Amaru – Junín, 2000	44
Cuadro 6	Titulación serológica por HAI para la detección de anticuerpos contra <i>Toxoplasma gondii</i> en alpacas hembras (H) y machos (M) de la Unidad de Producción de Cochas de la SAIS Túpac Amaru – Junín, 2000	45
Cuadro 7	Evaluación del sexo y la edad como factor de riesgo para la infección de <i>Toxoplasma gondii</i> en alpacas la Unidad de Producción de Cochas de la SAIS Túpac Amaru – Junín, 2000	45

## RESUMEN

El *Toxoplasma gondii*, agente causal de la toxoplasmosis, es un parásito importante en la salud animal, por ser una de las principales infecciones parasitarias que ocasiona problemas reproductivos, y también constituye una zoonosis muy importante alrededor del mundo. El objetivo del presente estudio fue determinar la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en alpacas de la Unidad de Producción de Cochas de la SAIS Túpac Amaru, ubicada en el distrito de Canchayllo, Provincia de Jauja, Departamento de Junín. Para tal fin, se recolectaron sueros sanguíneos procedentes de 200 alpacas entre hembras y machos, en el mes de diciembre de año 2000, para la detección de anticuerpos mediante la técnica de Hemaglutinación Indirecta (HAI). Los resultados generales indicaron que el  $21 \pm 5.64$  % (42/200) de las muestras de alpacas presentaron anticuerpos con títulos que variaron desde 1/16 hasta 1/1024. La seroprevalencia hallada en machos  $26.47 \pm 10.49$  % (18/68) fue mayor que en hembras  $18.18 \pm 6.57$  % (24/132), y por rangos de edad desde los 8 a 12 meses, de 12 hasta 36 meses y más de 36 meses las seroprevalencias fueron  $33.33 \pm 16.08$  %,  $15.38 \pm 9.81$ ,  $20 \pm 7.31$  respectivamente. Al realizar el análisis estadístico respectivo mediante la Prueba de regresión Logística no se encontró relación estadística significativa entre la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* y el sexo de las alpacas, pero si entre la edad del animal y la infección por *T. gondii*, siendo las alpacas más jóvenes (8 a 12 meses) aproximadamente 2,9 veces más susceptibles que los otros dos grupos etéreos, este resultado podría deberse a la presencia de anticuerpos maternos, manejo de los animales, factores ambientales y frecuencia del hospedero definitivo. La prevalencia encontrada en el presente estudio fue moderada, por lo tanto, se hace necesario la realización de más estudios a fin de determinar el verdadero rol de este parásito en los problemas reproductivos de las alpacas.

**PALABRAS CLAVES:** Toxoplasmosis, alpacas, HAI, seroprevalencia, SAIS Túpac Amaru

## SUMMARY

*Toxoplasma gondii*, causative agent of toxoplasmosis, is an important parasite in animal health because it is one of the major parasitic infections that produce reproductive problems, and also it is an important zoonosis worldwide. The objective of this study was to determine the seroprevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in alpacas from the Unit of Production of Cochabamba of the SAIS Tupac Amaru, located in the district of Canchayllo, Province of Jauja, Department of Junín, Perú. To this end, sera from 200 alpacas among females and male were gathered in the month of December of 2000, for the detection of antibodies by using the method of Indirect Hemagglutination (IHA).  $21 \pm 5.64$  % (42/200) of the samples showed antibodies, with titles ranging from 1/16 up to 1/1024. The seroprevalence found in males was  $26.47$  (10.47% (18/64), and it was greater than in females,  $18.18 \pm 6.57$  % (24/132), and for age groups, from the birth until 1 year old, more than 1 up to 2 years old and more than 3 years old; the seroprevalence found was  $33.33 \pm 16.08$ %,  $15.38 \pm 9.8$ ,  $20 \pm 7.31$  respectively. The analysis by using The Logistic regression found that the genus did not represent a risk factor. The age did represent a risk factor, being younger alpacas (8 to 12 months) more susceptible than other age groups. These results are coherent with other studies obtained in different parts of world, however, it is observed that there are differences with recent studies obtained in Peru; this, this could be due to environmental factors, frequency of the definitive host. Prevalence found in the present study was moderate, should be done further studies to determine the real importance of *T. gondii* in the occurrence of abortion in alpacas.

KEY WORDS: Toxoplasmosis, HAI, seroprevalence, SAIS Túpac Amaru.

## I. INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una de las infecciones parasitarias y zoonóticas de mayor difusión en la naturaleza. Se encuentra en todas las latitudes afectando a humanos y a diversas especies de mamíferos domésticos, silvestres y aves. El agente causal es el *Toxoplasma gondii*, protozoo parásito intracelular que tiene como hospederos definitivos al gato y a algunos félidos silvestres como el puma, gato andino, gato montes, ocelote, etc.

Las infecciones por *T. gondii*, ocurren generalmente en forma subclínica o asintomática y sólo en forma ocasional se produce la enfermedad, lo que es frecuentemente observado en personas o animales jóvenes inmunocomprometidos y durante la preñez, constituyendo una de las principales causas de infertilidad y mortalidad embrionaria temprana, abortos y mortalidad neonatal en ovinos, caprinos, porcinos y probablemente en camélidos sudamericanos.

En el Perú, se han reportado altas tasas de prevalencias en ovinos, caprinos, llamas, alpacas y vicuñas, que van desde 24% en alpacas (Góngora, 1992) hasta 57.91% en caprinos (Vidal, 1990). Sin embargo, se requiere de mayores estudios para determinar si es uno de los agentes causales involucrados en los abortos y mortalidad pre y postnatal de las alpacas.



El presente estudio se realizó en la Unidad de Producción de Cochas de la SAIS Túpac Amaru – Junín, debido a que no existían trabajos previos de seroprevalencia de *T. gondii* en alpacas de esta zona. El objetivo del presente estudio fue estimar la seroprevalencia de *T. gondii* en alpacas de esta unidad de producción alpaquera.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ETIOLOGÍA

La toxoplasmosis es una de las zoonosis parasitarias más comunes del mundo. Es causada por el parásito *Toxoplasma gondii*, protozoo polixeno y heteroxeno facultativo (Tenter *et al*, 2000). Fue descubierto en 1908 por Nicolle y Manceaux en Túnez, en un roedor africano (*Ctenodactylus gondii*); simultáneamente Splendore en Brasil lo reportó en conejos (Botero y Restrepo, 1998; Pizzi, 1997).

Janku (1923), en Praga, descubrió la coriorretinitis toxoplásmica y se informó el primer caso en una niña recién nacida. Posteriormente Wolff *et al* (1939) demostraron que el parásito causaba meningoencefalitis congénita (Botero y Restrepo, 1998).

La transmisión congénita de la infección fue descubierta en las distintas especies animales progresivamente; y la implicancia de *T. gondii* en los abortos ovinos fue confirmada por primera vez en Nueva Zelanda por Hartley y Marshall en el año 1957 (Pizzi, 1997). En 1970, Frenkel en EEUU y Hutchison en Inglaterra, lograron establecer la verdadera forma de transmisión en la naturaleza, al encontrar que el *T. gondii* era un parásito del intestino de los gatos y que las formas infectivas salían con las materias fecales de estos animales (Botero y Restrepo, 1998; Soulsby, 1987).

### 2.1.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA: (Llop *et al*, 2001)

Reino: Protista

Sub-Reino: Protozoa

Phylum: Apicomplexa

Clase: Esporozoa

Sub-Clase: Coccidia

Orden: Eucoccidiida

Familia: Sarcocytidae

Género: *Toxoplasma*

Especie: *T. gondii*

### 2.1.2 ESTADIOS DE DESARROLLO

#### 2.1.2.1 Taquizoíto (forma proliferativa, trofozoíto, endozoíto)

Es la forma parasitaria que se encuentra en la fase aguda de la infección. Tiene forma de media luna, uno de sus extremos es afinado y el otro redondeado. Su tamaño es variable, midiendo 3,5 a 7,5  $\mu\text{m}$  de largo por 1,5 a 3  $\mu\text{m}$  de ancho (Pizzi, 1997).

Ultraestructuralmente presenta varias organelas y cuerpos de inclusión. Presenta tres capas de plasmalema o membranas, una externa y una interna doble; anillo apical, anillo polar, conoide, roptrias, micronemas, micropilo, mitocondrias, microtúbulos subpelliculares, aparato de Golgi, ribosomas, retículo endoplasmático liso y rugoso, núcleo, gránulos densos, gránulos de amilopectina (que pueden estar ausenté) y una organela limitada por membranas múltiples, semejantes a plastidos denominada el apicoplasto (Dubey *et al*, 1998).

El taquizoíto puede infectar, por penetración activa o por fagocitosis (Morisaki *et al*, 1995; Sibley, 1995; Speer *et al*, 1997), en células fagocitarias y no fagocitarias y en otros tipos de células nucleadas. Dentro de la célula se multiplica rápidamente por endodiogenia (Sheffield y Melton, 1968) y cuando la célula infectada no puede albergar más parásitos estalla, dejando en libertad numerosos taquizoítos que invaden nuevas células. La tasa de invasión y desarrollo varía, dependiendo de la virulencia de la cepa de *T. gondii* y el estado inmunológico del hospedero (Pizzi, 1997).

Durante el estado agudo de la infección, el taquizoíto puede estar presente en la sangre, saliva, secreción nasal, orina, mucosa vaginal (Dubey, 1980), leche, semen (Chiari y Neves, 1984; Luzón *et al*, 1997); así como en una amplia variedad de tejidos. El taquizoíto es sensible al calor, frío, desecación, drogas específicas (Pizzi, 1997) y jugo gástrico (Dubey, 1998 a).

#### **2.1.2.2 Bradizoíto (quistozoíto, cistozoíto)**

Es la forma parasitaria que se encuentra dentro de los quistes durante la etapa crónica de la infección, también tiene forma de media luna (mide 7  $\mu\text{m}$  de largo por 2  $\mu\text{m}$  de ancho), pero son más delgados que los taquizoítos (Botero y Restrepo, 1998). Difiere ultraestructuralmente muy poco del taquizoíto.

Tiene el núcleo situado hacia la parte posterior, mientras que en el taquizoíto se localiza centralmente; los bradizoítos son menos susceptibles a la destrucción por el jugo gástrico (Jacobs *et al*, 1960). El período prepatente es más corto en gatos que ingieren bradizoítos que el de aquellos que ingieren taquizoítos u ooquistes esporulados (Dubey y Frenkel, 1976).

El bradizoíto se divide lentamente por endodiogenia dentro del quiste tisular, el cual desarrolla y permanece intracelularmente (Ferguson y Hutchison, 1987).

#### **2.1.2.3 Quiste tisular (contienen bradizoítos)**

Es la etapa que se encuentra en la etapa crónica de la infección. La pared del quiste es elástica y delgada (Melhorn y Frenkel, 1980), al parecer está compuesta por materiales de la célula hospedera y del parásito (Ferguson y Hutchison, 1987; Sims *et al*, 1988).

Los quistes varían de tamaño; los quistes jóvenes pueden medir 5µm de diámetro y pueden contener sólo dos bradizoítos, mientras que los quistes antiguos pueden contener cientos de organismos. Los quistes en el cerebro son a menudo de forma esferoidal y miden 70 µm de diámetro, mientras que los que se localizan intramuscularmente son elongados y pueden medir 100 µm de largo ( Dubey, 1993).

Los quistes pueden desarrollarse en órganos viscerales como pulmones, hígado y riñones; pero existe mayor prevalencia en el tejido neural y muscular, incluyendo el cerebro, ojos y músculo esquelético y cardíaco (Dubey y Beattie, 1988).

Probablemente los quistes intactos no ocasionan ningún daño y pueden persistir durante toda la vida del hospedero sin causar una respuesta inflamatoria (Dubey *et al*, 1998), lo cual constituye la forma de resistencia del hospedero (Pizzi, 1997).

Los quistes son destruidos cuando se congelan a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 24 horas y después se descongelan, además cuando se calientan a  $67^{\circ}\text{C}$  o más (Dubey y Lappin, 2000). Sin embargo, pueden sobrevivir por 32 días a temperatura de 3 a  $5^{\circ}\text{C}$ ; en órganos de animales muertos a  $20^{\circ}\text{C}$  por 3 días; en el encéfalo a  $4^{\circ}\text{C}$  por 10 a 20 días (Flores, 1991).

#### **2.1.2.4 Ooquiste**

El ooquiste no esporulado es subesférico a esférico, mide 10 a 12  $\mu\text{m}$  de diámetro. Es excretado junto con las heces del hospedero definitivo (félicos) al medio ambiente, en donde, dependiendo de condiciones de aireación y temperatura se produce la esporogonia después de 1 a 5 días (Dubey *et al* , 1998).

El ooquiste esporulado es subesférico a elipsoidal y mide 11 a 13  $\mu\text{m}$  de diámetro, cada ooquiste contiene dos esporoquistes de forma elipsoidal que mide 6 a 8  $\mu\text{m}$  y cada uno contiene cuatro esporozoítos (Atías, 1997; Dubey *et al*, 1998; Dubey y Lappin , 2000). Los ooquistes esporulados pueden sobrevivir en el suelo hasta 18 meses y mantener su habilidad infectante (Llop *et al*, 2001).

### **2.1.3 CICLO BIOLÓGICO**

En el desarrollo del *T. gondii* se distinguen dos Fases:

#### **2.1.3.1 FASE ENTEROEPITELIAL O SEXUAL**

Sólo se realiza en el hospedero felino definitivo. La infección puede producirse por tres formas: Quistes titulares con bradizoítos, a partir de tejidos de animales con toxoplasmosis crónica; Taquizoítos, procedentes de tejidos y fluidos de animales con toxoplasmosis aguda, y Ooquistes esporulados, por consumo de agua o alimentos contaminados con heces de gatos con infección patente (Acha y Szyfres, 1986; Luzón *et al*, 1997).

Se piensa que de todas ellas, la ingestión de hospederos intermediarios infectados con quistes titulares (bradizoítos) es la forma de infección más común en el gato (Dubey y Lappin, 2000). Una vez ingeridos los quistes, las enzimas digestivas disuelven la pared de estos últimos y de ellos se liberan bradizoítos en el estómago y el intestino, los cuales penetran en las células epiteliales del intestino delgado e inician los cinco tipos (A-E) de etapas

asexuales predeterminadas que equivalen a los esquizontes de otros coccidios intestinales (Soulsby, 1987; Dubey y Lappin, 2000; Luzón *et al* , 1997).

Después de un número indeterminado de generaciones (esquizogonias) los merozoítos liberados del tipo D o E penetran en nuevas células y forman microgamontes (masculinos) y macrogamontes (femeninos) comenzando así la fase sexual del ciclo (gametogonia). Los microgamontes se dividen y forman varios microgametos biflagelados, los cuales se liberan y nadan hacia los macrogamontes y penetran en ellos; alrededor del macrogamonte fertilizado se forman una pared para constituir un ooquiste. Los ooquistes son excretados al medio externo junto con las heces (Dubey y Lappin, 2000). Después de exponerse al aire y la humedad durante uno a cinco días, los ooquistes esporulan conteniendo dos esporoquistes, cada uno con cuatro esporozoítos; y pueden sobrevivir en el ooquiste por muchos meses, aun bajo condiciones ambientales rigurosas (Luzón *et al*, 1997).

El periodo prepatente y frecuencia de eliminación de ooquistes varía de acuerdo al estadio ingerido de *T. gondii* (Dubey, 1996 b; Dubey y Frenkel, 1976; Freyre *et al*, 1989). El periodo prepatente es de 3 a 15 días después de la ingestión de quistes tisulares; 18 días después de la ingestión de ooquistes esporulados (Dubey, 1996 b) y 13 días después de la ingestión de taquizoítos (Dubey, 1998 b). Cuando la infección se produce por ingestión de taquizoítos u ooquistes, el número de ooquistes eliminados es mucho menor (Luzón *et al*, 1997) y menos del 30% de estos gatos eliminan ooquistes (Dubey y Frenkel, 1976). El 20% de los gatos que ingieren ooquistes serán positivos a alguna prueba serológica (Dubey, 1996 b). No se conocen con certeza las diferencias en el ciclo de vida que expliquen este retraso y resistencia, pero es probable que los bradizoítos sean precursores de la replicación enteroepitelial (Dubey y Lappin, 2000).

### **2.1.3.2 FASE EXTRAINTESTINAL O ASEXUAL**

El desarrollo extraintestinal del *T. gondii* se realiza en las aves y los mamíferos, que incluye además a los propios felinos (Rojas, 1990); es el mismo en todos los hospederos y puede producirse por ingestión de ooquistes o quistes tisulares (Luzón *et al*, 1997). Después de la ingestión, los esporozoítos liberados en la luz del intestino delgado penetran en las células del epitelio intestinal (incluyendo los de la lámina propia), rodeándose de una vacuola parasitófora (Dubey *et al*, 1997a; Speer *et al*, 1997) y se dividen en dos mediante un proceso asexual conocido como endodiogenia, transformándose así en taquizoítos.

La multiplicación origina la distensión y rotura de las células parasitadas, con la liberación de los taquizoítos e invasión de nuevas células (Luzón *et al*, 1997). Los taquizoítos, que son liberados en el torrente sanguíneo y linfático, producen un cuadro de infección sistémica.

La parasitemia durante el embarazo provoca placentitis seguida de la diseminación de taquizoítos hacia el feto. En personas o en ovejas, por lo general, existe transmisión congénita cuando se infectan durante la gestación (Dubey y Lappin, 2000).

El proceso de invasión y multiplicación de los taquizoítos continúa hasta que el hospedero desarrolla inmunidad frente a la infección. Como consecuencia de la respuesta inmune se eliminan los taquizoítos extracelulares y, en el interior las células hospederas, los parásitos se rodean de una membrana elástica quedando aislados del tejido circundante, transformándose en bradizoítos (Luzón *et al*, 1997). Los bradizoítos siguen multiplicándose, por endogemación lenta en el interior del quiste, que tarda unos 3 a 4 meses en alcanzar el tamaño definitivo.

En los ratones, los quistes tisulares con bradizoítos se forman entre los días 2 y 3 después de la inoculación parenteral con taquizoítos (Dubey y Frenkel, 1976), entre los días 5 y 6 después de la ingestión de bradizoítos (Dubey, 1997 c) y entre los días 6 y 7 después de la ingestión de ooquistes esporulados (Dubey *et al*, 1997a). Los quistes se localizan principalmente en la musculatura



esquelética y cardíaca, el cerebro y órganos viscerales (Dubey y Lappin, 2000) y tal vez persistan durante toda la vida del hospedero. La persistencia del parásito de forma latente confiere a la mayoría de animales una eficaz resistencia frente a futuras reinfecciones como manifestación típica de premunición (eliminación de la enfermedad pero no de todos los parásitos).

## **2.2 EPIDEMIOLOGÍA**

La toxoplasmosis se registra en casi todas las partes del mundo y las investigaciones relacionadas a su distribución indican frecuencias muy elevadas en varias regiones (Blood *et al*, 1992). Es así que en Inglaterra se ha reportado una prevalencia del 47 % de un total de 1897 cerdos muestreados utilizando la prueba de aglutinación directa modificada (Gamble *et al*, 1999). Otro estudio realizado en Uganda encontró, mediante la prueba de ELISA, una prevalencia de 31% sobre un total de 240 cabras muestreadas (Bisson *et al*, 2000).

En Brasil en una encuesta serológica realizada utilizando la prueba de aglutinación en látex, en 439 cabras, 240 ovinos, 194 vacas y 104 búfalos de agua, se encontró prevalencias de 28.93 %, 18.75 %, 1.03 % y 3.85 % respectivamente (Pita *et al*, 1999).

Un estudio similar realizado en el parque Zoológico de Shangai, en la República Popular de China utilizando la prueba de aglutinación modificada, reportó las siguientes prevalencias, 11% de 36 aves muestreadas, 25% de 16 primates muestreadas, 69.4% de 36 carnívoros muestreados y 27.6% de 29 herbívoros muestreados (Shu- Yi *et al*, 2000).

### **2.2.1 DEL PARÁSITO**

Las principales formas de transmisión de la toxoplasmosis en la naturaleza son: Por Ingestión de alimento o agua contaminada con ooquistes esporulados; Por ingestión de tejidos infectados con quistes (bradizoítos), ya sea por predación, canibalismo, necrofagia y, por infección congénita. Otras modalidades menores de transmisión incluyen a la transfusión de líquidos y/o trasplantes de órganos (Dubey y Lappin, 2000).

El ooquiste constituye el eslabón más importante de la cadena epidemiológica del *T. gondii* (Atías, 1997) y la supervivencia de éste es un determinante importante en la distribución y conservación de la enfermedad en la naturaleza (Dubey *et al*, 1997 b).

### **2.2.2 DEL HOSPEDERO**

Los herbívoros como los ovinos y camélidos sudamericanos adquieren la infección generalmente por la ingestión de alimento contaminado con ooquistes. Las alpacas cuando son concentradas para la ejecución de ciertas faenas como empadre, dosificaciones, esquila, etc; pueden infectarse al ingerir pastos contaminados con heces de gatos caseros o vagabundos (Novoa y Flores, 1991; Leguía y Guerrero, 1986). Por otro lado, los felinos silvestres de la zona (puma, gato montes andino) podrían diseminar la enfermedad después de alimentarse con animales silvestres infectados cazados por ellos.

En el ovino, caprino y porcino que adquieren la primoinfección durante la gestación, puede ocasionar abortos, mortalidad neonatal y perinatal (Blood *et al*, 1992; Acha y Cifres, 1986).

En los gatos y felinos silvestres, la forma de infección más frecuente es a través de la ingestión de tejidos infectados con quistes tisulares que contienen bradizoítos (Luzón *et al*, 1997). El comportamiento del gato condiciona la primoinfección, que ocurre mayormente entre los 6 meses y el año de edad,

cuando comienzan a cazar y a comer ratones, ratas, pájaros o carne que contienen quistes tisulares de *T. gondii* (Flores, 1991).

El gato con infección activa elimina millones de ooquistes durante cerca de 15 días originando una gran diseminación en el medio ambiente (Velasco-Castrejón *et al*, 1992; Acha y Szyfres, 1986), para luego adquirir inmunidad quedando como un portador sano. Aunque se considera que los gatos son inmunes a una nueva eliminación de ooquistes, pueden excretar unos cuantos, al exponerse a un nuevo reto con cepas diferentes, más de seis años después de la primoinfección (Dubey, 1995).

Se ha observado que muchos gatitos que nacen de madres infectadas con *T. gondii* durante la gestación, se infectan de forma transplacentaria o durante la lactancia (Cannizzo *et al*, 1996; Dubey y Carpenter, 1993 b; Dubey *et al*, 1995; Sato *et al*, 1993). La enfermedad clínica resulta común en estos gatitos, y la sintomatología varío con relación a la etapa de la gestación al momento de la infección. Algunos gatitos recién nacidos pudieron eliminar ooquistes (Dubey *et al*, 1995).

### **2.2.3 DEL MEDIO AMBIENTE**

Los ooquistes no esporulados pueden sobrevivir a bajas temperaturas hasta por 3 meses, reteniendo su habilidad para convertirse en infecciosos, cuando se presentan las condiciones ambientales apropiadas (Lindsay *et al*, 2002).

Los ooquistes esporulados sobreviven mejor en suelo húmedo y caliente, lo cual ayuda a explicar la alta prevalencia de la enfermedad en climas templados y tropicales. Asimismo, pueden soportar la exposición a temperaturas de congelación, desecado y temperaturas ambientales altas constantes hasta por 18 meses o más (Atias, 1997; Dubey y Lappin, 2000), pero la desecación prolongada por exposición a los rayos solares los destruye. Por otro lado, el instinto natural de los gatos para enterrar u ocultar sus heces proporciona un ambiente protegido para la supervivencia del ooquiste (Dubey y Lappin, 2000).

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

Los ooquistes esporulados son resistentes a la mayoría de desinfectantes, y sólo el amoniaco al 10 % es eficaz cuando está en contacto con la superficie contaminada durante 10 minutos (Dubey y Lappin, 2000).

#### **2.2.4 IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA**

Se estima que a nivel mundial casi 500 millones de personas presentan anticuerpos contra *T. gondii* y la seroprevalencia es más elevada, casi 100 % en zonas de climas cálidos, húmedos o tropicales y menor en las regiones áridas y frías del mundo (Dubey, 1988). Las personas se infectan por ingerir carne cruda, o mal cocida, infectada con bradizoítos (por lo general, en la carne de cerdo, cabra o cordero) (Choi *et al*, 1997). Otras fuentes de infección son la ingestión de alimento contaminado con ooquistes, ingestión de leche cruda de cabra (Chiari y Neves, 1984), transfusiones sanguíneas, transplantes de órganos y accidentes de laboratorio (Dubey y Lappin, 2000).

Se han informado brotes de infecciones en el hombre cuando se inhalaron o ingirieron partículas de polvo contaminados con ooquistes. También puede haber dispersión de ooquistes al remover la tierra con equipo para cultivos, calzado, patas de animales, viento, lluvia y fomites (Dubey y Lappin , 2000).

En la actualidad, es importante indicar claramente las principales vías de transmisión para el hombre en cada país o región. Se ha determinado que en países con baja prevalencia de *T. gondii*, como por ejemplo Estados Unidos, la infección se da generalmente en el adulto por la ingesta de carne cruda o mal cocida (Dubey, 1986); pero en países centroamericanos como, Guatemala o Costa Rica, la alta prevalencia del parásito se atribuye a la ingesta de ooquistes especialmente durante la infancia (Feldman, 1982). Estas

variaciones probablemente se atribuyen a factores geográficos y climáticos, diferencias culturales entre las poblaciones así como también, hábitos alimenticios (Velasco-Castrejon *et al*, 1992; Atías, 1997; Tenter *et al*, 2000) y a la presencia de gatos infectados.

La tasa de prevalencia se incrementa con la edad (Acha y Szyfres, 1986; Botero y Restrepo, 1998). Por ejemplo en EE.UU, el 5-30 % de personas que se encuentran en la segunda década de vida y el 10-67 % de personas mayores de 50 años presentan anticuerpos contra *Toxoplasma* (Wu y Garcia, 2000).

La toxoplasmosis humana en el Perú, constituye un serio problema zoonótico dado su alto porcentaje de incidencia y la existencia de zonas hiperendémicas (Herrera y Medina, 1993). Las características epidemiológicas de esta zoonosis determinan que la mayor prevalencia de la parasitosis se presenta en los departamentos de la selva, siguiendo los de la costa y con menor frecuencia en la sierra (Tejada y Balvin, 1989).

La Infección primaria en la mujer gestante y, consecuentemente, la infección transplacentaria del feto, y la reactivación o infección en personas con inmunodeficiencia son los aspectos más importantes de la toxoplasmosis humana (Frenkel, 1973; Amato *et al*, 1982; Frenkel *et al*, 1975; Luft *et al*, 1984).

## **2.3 PATOGENIA**

En general, el ataque y la penetración de los zoítos de *T.gondii* (taquizoítos, bradizoítos, esporozoítos y merozoítos) en las células hospederas, aparentemente son similares entre estos y los descritos para otros parásitos coccidios (Dubey *et al*, 1998). Tras la ingestión de quistes tisulares u ooquistes, éstos son liberados en la luz del intestino, penetrando en el interior de diferentes tipos de células de la mucosa y submucosa intestinal tanto por invasión activa como por fagocitosis (Barberan y Marco, 1997; Morisaki *et al*,

1995; Dubey *et al*, 1998). Inmediatamente después de la penetración en una célula, se forma una vacuola parasitófora sintetizada conjuntamente por el parásito y la célula hospedera (Barberan y Marco, 1997; Speer *et al*, 1997), en el interior de la cual, los taquizoítos se multiplican por endodiogenia (Soulsby, 1987; Acha y Szyfres, 1986; Atias, 1991).

Al desintegrarse la célula parasitada, los taquizoítos son liberados al medio extra- celular infectando nuevas células. Esta proliferación constituye la fase activa de la toxoplasmosis (Botero y Restrepo, 1998; Acha y Szyfres, 1986).

Durante la parasitemia, los toxoplasmas libres o incluidos en macrófagos, linfocitos o neutrófilos se diseminan por vía linfática o sanguínea hacia el hígado, pulmones, ganglios linfáticos, bazo, cerebro, riñones, músculo esquelético, cardíaco, y glándulas suprarrenales. La multiplicación en estos órganos da lugar a pequeños focos de necrosis rodeados por células inflamatorias especialmente mononucleares (Barberan y Marco, 1997; Botero y Restrepo, 1998; Dubey y Lappin, 2000).

El tipo y gravedad de la enfermedad clínica dependerán del grado y localización de la lesión tisular, especialmente en aquellos órganos vitales como el corazón, pulmones, hígado y glándulas suprarrenales (Dubey y Lappin, 2000). Aunque las infecciones diseminadas agudas pueden resultar mortales, con frecuencia el proceso es detenido después que el hospedero desarrolla progresivamente respuestas inmunes humoral y celular contra *T. gondii* (Botero y Restrepo, 1998; Dubey *et al*, 1998; Pizzi; 1997).

La proliferación del taquizoíto disminuye ante el desarrollo de inmunidad por el hospedero, y comienzan a aparecer quistes tisulares (Botero y Restrepo, 1998). La distribución de los quistes intracelulares es en parte controlado por el hospedero y depende de la cepa de *T. gondii* (Dubey, 1998; Dubey, 1997a; Dubey, 1997b). Son más frecuentes en el cerebro, corazón, retina y músculo esquelético (Botero y Restrepo, 1998). Los quistes intracelulares intactos no producen reacción inflamatoria, pudiendo persistir durante toda la vida del

hospedero (Dubey *et al*, 1998), no obstante, los quistes intracelulares pueden romperse y reactivar la enfermedad (Barberan y Marco, 1997).

En la infección primaria de ovinos gestantes, los taquizoítos también llegan al útero durante la fase de parasitemia y se multiplican en los cotiledones originando pequeños focos de necrosis (Dubey, 1987). A diferencia de lo que ocurre en otros órganos, los taquizoítos se multiplican constantemente en las células de los cotiledones placentarios y no se enquistan; no conociéndose la razón de este mecanismo. Es posible que éstas proporcionen condiciones adecuadas de nutrición que permitan la multiplicación y persistencia de éstos, por cuanto, se sabe que el placentoma es un lugar inmunológicamente deprimido, donde el parásito no es afectado por los mecanismos de inmunidad humoral celular (Barberan y Marco, 1997).

El feto que se infecta durante el primer tercio de gestación todavía no es inmunocompetente, y no puede evitar la multiplicación y diseminación del parásito en los diferentes tejidos fetales en los que origina múltiples focos de necrosis (Buxton y Finlayson, 1986). Por el contrario, si el feto se infecta en el último tercio de gestación, cuando ya es inmunocompetente, su sistema inmune es capaz de activarse y la multiplicación del parásito se ve dificultada. Las causas del aborto no se conocen bien, ya que las lesiones fetales no siempre son extensas, y en ocasiones nacen animales sanos de placentas fuertemente lesionadas (Barberan y Marco, 1997).

El feto puede morir como consecuencia de las graves lesiones que originan la colonización y multiplicación de *T. gondii* en los placentomas, las cuales impiden la adecuada transferencia de oxígeno al feto, lo que invariablemente ocasiona lesiones cerebrales. En algunos casos, la anoxia fetal se vería agravada por la acción de sustancias tóxicas liberadas en la destrucción tisular de la placenta (Barberan y Marco, 1997).

Por otra parte, no se comprende por completo por que algunos animales infectados desarrollan toxoplasmosis clínica en tanto que otros permanecen normales. Es posible que algunas de las diferencias se expliquen por edad,

sexo, especie de hospedero, cepa de *T. gondii*, número de microorganismos y etapa de desarrollo del parásito ingerido (Dubey y Lappin, 2000). El estrés también puede agravar la infección por *T. gondii*. Alguna enfermedad o inmunosupresión concomitante pueden tornar al hospedero susceptible, ya que *T. gondii* prolifera como un patógeno oportunista.

## 2.4 INMUNIDAD

La entrada del *T. gondii* provoca una respuesta del sistema inmune del hospedero de tipo humoral y celular (Pizzi, 1997). El *T. gondii*, al penetrar en forma activa dentro de la célula, pone en funcionamiento un mecanismo todavía no conocido que inhibe la fusión del fagosoma con los lisosomas de la célula, permitiendo así que el taquizoíto se multiplique rápidamente (Tizard, 1998; Llop *et al*, 2001). La multiplicación origina al cabo de unas 24 horas la distensión y rotura de las células parasitadas con la liberación de taquizoítos e invasión de nuevas células.

En respuesta, El macrófago, célula presentadora de antígeno (CPA) con complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de Clase II presenta antígenos al linfocito Tc, el cual se transforma en linfocito Tc activado (Tc O) (Pizzi, 1997; Barriga, 1997). Posteriormente, debido al constante estímulo antigénico los linfocitos Tc O se van a diferenciar en linfocito Tc tipo 1 CD8<sup>+</sup> o Linfocito Tc Tipo 2 CD4<sup>+</sup> (Sánchez – Pérez, 1998; Barriga, 1997).

Entre los componentes inductores de inmunidad T dependientes en los cuales se realiza el reconocimiento celular y la adhesión se encuentran las proteínas de superficie del *T. gondii* ( P30 y P22 ), las proteínas ROP (asociados a las roptrías), las proteínas del sistema GRA (antígenos de gránulos densos) y la P60 (Llop *et al*, 2001). Los linfocitos Tc Tipo 1 CD4<sup>+</sup> están involucrados en reacciones de hipersensibilidad retardada (DTH) e inflamatorias, mientras que los Tc tipo 2 CD4<sup>+</sup> son más efectivos como cooperadores para la producción de anticuerpos por los linfocitos B (Pizzi, 1997).



Los linfocitos Tc Tipo 1 CD4<sup>+</sup> producen interleuquina 2 (IL-2), interferón gamma (IFN $\gamma$ ) y factor de necrosis tumoral (FNT), y son principalmente la IL-2 y IFN los responsables intermediarios en la eficacia de la respuesta de tipo celular contra el toxoplasma.

El IFN es uno de los principales mediadores de la resistencia a la infección por *T. gondii* (Abbas *et al*, 1999). El IFN puede actuar inhibiendo la replicación de taquizoítos en cultivos celulares (Jones *et al*, 1986; Barriga, 1997). Se ha observado que macrófagos murinos tratados con IFN liberan óxido nítrico (NO), el cual reduce la multiplicación de los taquizoítos e induce la expresión de antígenos específicos del bradizoítos (Bohne *et al*, 1993; Bohne *et al*, 1994).

En ratones, se considera que el IFN es el principal mediador de la inmunidad contra *T. gondii*, tanto en la infección aguda como en la crónica (Suzuki *et al*, 1988; Suzuki *et al*, 1989). Al parecer el IFN $\gamma$  activa las células mononucleares de sangre periférica: macrófagos, células citotóxicas (TC), células asesinas naturales (NK) y otras células fagocitarias; incrementando su actividad parasiticida (Pizzi, 1997; Barriga, 1997).

Se ha descrito que los linfocitos T citotóxicos CD8<sup>+</sup> al ser activadas por IL-2 y IFN $\gamma$  destruyen las células infectadas con *T. gondii*, a través del reconocimiento de antígenos asociado al MHC de clase I (Pizzi, 1997; Sánchez – Pérez, 1998; Barriga 1997). Estas células aparentemente lisarían parásitos intracelulares y extracelulares en los estadios tempranos de la infección y actuarían directamente, o liberando citocinas como el IFN $\gamma$  (Pizzi, 1997).

Se ha observado que los linfocitos T específicos obtenidos de células mononucleares periféricas de un paciente sintomático, recientemente infectado por estimulación con antígenos solubles de *T. gondii*, contenían una mayoría de células CD8<sup>+</sup>, mientras que las células T provenientes de un paciente asintomático crónicamente infectado pertenecían a la clase CD4<sup>+</sup>. Por lo tanto,

las células T CD8+ predominan en la fase aguda de la infección mientras que las células T CD4+ predominan en la fase crónica (Pizzi, 1997).

Los linfocitos Tc Tipo 2 CD4+, ante el estímulo antigénico producen IL-4 que actúa sobre los linfocitos B, cooperando en la producción de síntesis de anticuerpos (Pizzi, 1997).

Los anticuerpos actúan sobre las formas libres en la sangre y en los líquidos extracelulares (Barriga, 1997). Se han descrito varias clases de anticuerpos que se forman a los pocos días de la infección. Algunos de estos anticuerpos originan lisis del protozoario, actuando exclusivamente sobre el parásito extracelular, cuya membrana celular perforan con ayuda del complemento, lo cual produce escape del citosol. (Frenkel, 1986).

Los taquizoítos recubiertos con anticuerpos antiparasitarios y que penetran en las células del hospedero a través de un proceso mediado por receptores Fc son acidificados (destruidos) por la fusión de los lisosomas al fagosoma (Cotran *et al*, 2000; Llop *et al*, 2001).

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

Los parásitos intracelulares no pueden ser eliminados por los anticuerpos de manera que el control efectivo de la infección recae sobre la inmunidad mediada por células (Pizzi, 1997). Frente a la reacción del sistema inmune del hospedero, el *T. gondii* adopta la forma de quiste y se recluye en los órganos del sistema retículo endotelial, estableciéndose un equilibrio entre el parásito y

el hospedero. A esta infección persistente se denomina premunición e inmunidad concomitante (Pizzi, 1997; Tizard, 1998; Barriga, 1997).

El tratamiento prolongado con corticoides, suero antilinfocítico ó anticuerpo anti-interferón inducen inmunosupresión y reactivación de la toxoplasmosis (Bertoli *et al*, 1995; Frenkel *et al*, 1975; Gazzinelli *et al*, 1993; Miédougé *et al*, 1997; Nicoll *et al*, 1997; Stahl *et al*, 1966; Sumyuen *et al*, 1996; Suzuki y Joh, 1994).

En un experimento en ratones con infección crónica con la cepa ME-49 de *T. gondii*, se observo mortalidad entre los 10 a 18 días después de la administración de anticuerpos anti-interferón. Se observó que hubo depleción de los linfocitos T CD4+ y T CD8+, siendo estos necesarios en la inducción de la mortalidad de los ratones crónicamente infectados (Gazzinelli *et al*, 1992).

Se piensa que la toxoplasmosis clínica en pacientes con SIDA es debida a una reactivación de una infección crónica, probablemente mediado por deficiencia de linfocito T CD4+ (Gazzinelli *et al*, 1992).

## **2.5 SINTOMATOLOGÍA Y LESIONES**

### **2.5.1 TOXOPLASMOSIS EN EL HOMBRE**

En general, la mayoría de las infecciones transcurren en forma asintomática (subclínica) o con ligera sintomatología no específica (Botero y Restrepo, 1998). Sin embargo, se han descrito pequeños brotes de toxoplasmosis aguda en el hombre alrededor del mundo.

En el Perú, en un estudio retrospectivo realizado en el instituto de oftalmología de Lima, en 1306 pacientes se encontró 19.75 % de uveítis toxoplasmica (Garcia, 2002). En Atlanta, Georgia, se presentó un brote epidémico entre los jinetes de una escuela de equitación que afecto de forma aguda al 95% de las

personas infectadas. La causa fue ooquistes de gatos (Teutsch *et al*, 1979). Otro caso fue la afectación de todo un batallón de soldados americanos que entrenaban en la región del canal de Panamá y cuya fuente de infección fue la ingestión de agua contaminada con ooquistes (Benenson *et al*, 1982). En Brasil se reportó un brote de toxoplasmosis aguda en 17 personas que ingirieron carne cruda de ganado ovino en una fiesta (Bonametti *et al*, 1997).

Las infecciones adquiridas después del nacimiento son en general menos graves que las congénitas (Acha y Szyfres, 1986), y solamente del 10% a 20% de las infecciones por *T. gondii* son sintomáticos (Beaman *et al*, 1995). Probablemente, cientos a miles de casos de toxoplasmosis humana pasan desapercibidos, debido a que las manifestaciones clínicas se reducen a una ligera fiebre y a un discreto aumento del tamaño de los ganglios linfáticos (Soulsby, 1987).

El periodo de incubación es de unos 5 a 18 días (Botero y Restrepo, 1998) y la enfermedad se manifiesta habitualmente bajo la forma de linfadenopatías (Luft y Remington, 1989; McCabe *et al*, 1987), fiebre, malestar general, sudoración nocturna, mialgias, erupción cutánea, atípias linfocitaria (Feldman, 1974; Frenkel, 1991; Luft y Remington, 1989; Beaman *et al*, 1995), dolor laríngeo, tos y expectoración (Botero y Restrepo, 1998).

Las adenopatías pueden ser múltiples y diseminadas, localizadas e incluso únicas y los ganglios especialmente afectados son los cervicales y supraclaviculares, y pueden ser indoloros o sensibles a la palpación (Luft y Remington, 1989; McCabe *et al*, 1987). Las adenopatías retroperitoneales y mesentéricas pueden causar dolor abdominal. Este cuadro puede prolongarse por una o varias semanas (Atías, 1997).

En la infección adquirida después del nacimiento la localización ocular es poco frecuente y se considera que su presentación, puede ser debida a una infección prenatal con recidivas posteriores (Botero y Restrepo, 1998). En casos severos la enfermedad es generalizada y puede llegar a ser mortal, presentándose con cuadros de hepatitis, miocarditis, encefalitis y neumonitis

(Botero y Restrepo, 1998). En general, la evolución es benigna, desapareciendo el cuadro característico después de varias semanas o meses.

Por otra parte, la toxoplasmosis aguda en pacientes inmunodeprimidos se desarrolla sin que la inmunidad la controle y es generalmente fatal (Pizzi, 1997; Botero y Restrepo, 1998). La enfermedad se presenta en niños con inmunodeficiencia adquirida o congénita (Freij y Sever, 1991), en pacientes que reciben tratamientos inmunosupresores, en trastornos hematológicos malignos (enfermedad de Hodgkin) y en pacientes con inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (Pizzi, 1997; Botero y Restrepo, 1998; Atías, 1997).

En Europa y Africa la seropositividad a *T. gondii* es de 50 a 78 % de los pacientes infectados con SIDA, y en España se considera que es la tercera enfermedad en pacientes con VIH (Clumeck, 1991). Sin embargo, la mayoría de los casos, es probable que se deba a una reactivación de una infección crónica latente más que a una infección primaria.

Las manifestaciones clínicas en pacientes inmunocomprometidos son: encefalitis, neumonitis, miocarditis (Atías, 1997), y retinocoroiditis progresiva (Botero y Restrepo, 1998), siendo la encefalitis la más frecuente y la mayor causa de muerte (Acha y Szyfres, 1986).

La transmisión congénita de *T. gondii* ocurre cuando la infección se adquiere por primera vez durante la gestación, y en la mayoría de los casos la transmisión se efectúa por vía transplacentaria (Orjuela *et al*, 1998; Botero y Restrepo, 1998; Atías, 1991). La infección por toxoplasma, en las mujeres embarazadas, se presenta en un 90% de los casos en forma asintomática. La sintomatología en la infección clínica, se manifiesta con fiebre, malestar general, cefalea, mialgias, odifofagia, hepatomegalia y esplenomegalia (Orjuela *et al*, 1998).

Las manifestaciones clínicas de la toxoplasmosis congénita van a depender del momento en que ocurre la infección, durante la gestación (Botero y Restrepo, 1998; Atías, 1997; Acha y Szyfres, 1986). Las infecciones que

ocurren en el primer trimestre de la gestación son más graves que las ocasionadas en el segundo y tercer trimestre (Llop *et al* 2001).

Los resultados de la infección fetal son variables, así cuando ocurre en el primer trimestre generalmente se produce el aborto, y los que llegan a término nacen con profundas alteraciones orgánicas como hidrocefalia, calcificaciones cerebrales, alteraciones oculares y microcefalia. Estos niños tienen una sobre vida muy limitada que no supera el año de vida (Pizzi, 1997).

Cuando la enfermedad se contrae en el segundo trimestre del embarazo, las lesiones pueden ser macro o microcefalia (con hidrocefalia), calcificaciones cerebrales retinocoroiditis y retardo mental (Pizzi, 1997). La gravedad de la enfermedad va a depender de la presencia una o más lesiones al momento del nacimiento y puede manifestarse con hepato y esplenomegalia, ictericia y en algunos casos miocarditis o neumonía intersticial, sin embargo, la mayoría de las alteraciones son menores e incluso subclínicas (Botero y Restrepo, 1998).

La infección fetal que ocurre en el tercer trimestre da como resultado al nacimiento un cuadro de retinocoroiditis bilateral con o sin estrabismo, leve déficit intelectual, pero en la gran mayoría de los casos nacen aparentemente normales y los trastornos oculares o neurológicos pueden revelarse meses o años después del nacimiento (Pizzi, 1997).

## **2.5.2 TOXOPLASMOSIS EN LOS ANIMALES**

### **2.5.2.1 TOXOPLASMOSIS EN EL GATO**

Debido al importante papel del gato en la epidemiología de la toxoplasmosis, se han realizado numerosos estudios sobre la infección en esta especie, basados en la presencia de ooquistes en la heces y/o anticuerpos en el suero (Soulsby, 1987).

En la ciudad de Memphis, Estados Unidos, se comprobó la presencia del toxoplasma en el cerebro de 34.3 % de 140 gatos examinados (Acha y Szyfres, 1986). En otro estudio realizado en la ciudad de Valdivia, Chile, utilizando la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) en 97 gatos se encontró una prevalencia de 33 % (Ovalle *et al*, 2000).

En Panamá se ha reportado una prevalencia de 45.6 % en 241 gatos muestreados (Frenkel *et al*, 1995). En otro estudio realizado en Brasil se encontró 17.7 % de muestras positivas a toxoplasma de las 248 gatos muestreados mediante IFI, estos estudios indican prevalencias variables y que un gran número de gatos estarían expuestos a infectarse en una época futura y, por lo tanto, se transformarían en grandes diseminadores de la infección (Etheredge y Frenkel, 1995).

La sintomatología característica de la toxoplasmosis postnatal se manifiesta con anorexia, letargo y disnea por neumonía. Otros signos clínicos comprenden fiebre persistente o intermitente anorexia, pérdida de peso, ictericia por hepatitis o colangiohepatitis, vómitos, diarrea, derrame abdominal, linfadenomegalia, esplenomegalia, hiperestesia a la palpación muscular, rigidez en la marcha, cojera cambiante de la pierna y déficit neurológicos: ataxia, rodeo, cambios conductuales convulsiones sacudidas y temblores (Dubey y Carpenter, 1993 a; Lappin *et al*, 1989).

Los signos clínicos pueden ser súbitos o de inicio lento, y en algunos gatos con signos respiratorios o del sistema nervioso central graves, suelen ser rápidamente mortal. Sin embargo, en ciertos gatos se desarrolla toxoplasmosis ocular sin otros signos sistémicos de la enfermedad y resulta frecuente la uveítis anterior o posterior que afecta uno o ambos ojos (Lappin *et al*, 1992; Lappin *et al*, 1989; Dubey y Carpenter, 1993 a).

Se han observado algunos casos de toxoplasmosis felina clínica, concurrentes con la terapéutica con glucocorticoides, hemobartonelosis, infecciones por virus de la leucemia felina (FELV) y de la inmunodeficiencia felina (FIV) y peritonitis infecciosa felina (Davidson *et al*, 1993; Dubey *et al*,

1993 a; Dubey *et al*, 1993 b; Heidel *et al*, 1990; Lin *et al*, 1992; O'Neil *et al*, 1991; Toomey *et al*, 1995). En contraste, no se comprobó que las infecciones experimentales por FIV y FeLV en gatos causaran reactivaciones o infecciones agudas más graves (Lappin *et al*, 1992; Lappin *et al*, 1996; Patton *et al*, 1991).

En infecciones por vía transplacentaria la enfermedad clínica es más grave, y los gatitos afectados pueden nacer muertos o morir antes del destete. Los signos clínicos indican inflamación de hígado, pulmones y sistema nervioso central (Dubey y Carpenter, 1993 b; Dubey *et al*, 1995; Dubey *et al*, 1996).

### **2.5.2.2 TOXOPLASMOSIS EN EL OVINO**

El *T. gondii* es una importante causa de aborto infeccioso en el ovino (Dubey y Towle, 1986) y puede causar pérdidas económicas apreciables por los problemas reproductivos que ocasionan.

Estudios serológicos realizados en Gran Bretaña revelan que un elevado porcentaje de animales, aproximadamente el 50% de ovejas y el 25% de corderos de cebo, tienen anticuerpos frente a *T. gondii* y que la prevalencia aumenta con la edad pudiendo llegar al 80% en animales mayores de 6 años (Barberan y Marco, 1997).

En el Perú, se ha reportado en 120 borregas muestreadas utilizando la prueba de hemaglutinación indirecta una prevalencia de 40% siendo la prevalencia por grupos; borregas de primer parto, 25%; segundo parto, 40% y tercer parto, 55% (Leguía y Guerrero, 1986). En otro estudio serológico realizado en ovinos en la sierra norte, central y sur del Perú en 506 sueros tomados en la época de lluvias y 765 sueros en época seca mediante la prueba de hemaglutinación indirecta se obtuvo como resultado prevalencias de 17.6 y 16.5 %, respectivamente (Samamé *et al*, 1983)



Clínicamente, la toxoplasmosis alcanza relevancia cuando la primo-infección ocurre durante la gestación pasando inadvertida en ovejas vacías y carneros (Barberan y Marco, 1997), y la severidad de la infección congénita dependerá del momento en que ocurra la fase aguda de la infección en el lapso de la gestación (Rojas, 1990).

Los efectos de la toxoplasmosis en el feto ovino incluyen muerte fetal, reabsorción, retención, nacimiento de corderos débiles y nacimiento de cordero con infección sub-clínica (Dubey y Towle, 1986). Así, infecciones en el primer tercio de gestación resultan en muerte embrionaria y reabsorción (Fahey y Brandon, 1978; Buxton y Finlayson, 1986) de manera que la gestación puede pasar inadvertida.

La infección en el segundo tercio de gestación resulta en muerte y retención del feto con la subsiguiente momificación del mismo o aborto con hallazgo focos necróticos en los cotiledones de la placenta. Algunos de los fetos llegan a término y nacen débiles (Blewett y Watson, 1983; Dubey, 1987) pudiéndose observar signos neurológicos que incluyen temblores debilidad e incoordinación muscular. Estos corderos mueren habitualmente de hipotermia o inanición en los primeros días de vida (Barberan y Marco, 1997).

La infección que ocurre en el último tercio de gestación da lugar al nacimiento de corderos aparentemente normales con infecciones subclínica (Blewett y Watson, 1983). En estos corderos la infección puede pasar inadvertida (Barberan y Marco, 1997).

En las ovejas vacías y los carneros la infección por toxoplasmosis puede originar fiebre moderada, anorexia, diarrea y discreta hiperpnea; en los cuadros clínicos más graves se presentan encefalitis, manifestaciones de incoordinación motora, movimientos circulares, rigidez muscular y postración. Asimismo, es posible la afección ocular con alteraciones de la visión y reflejo pupilar (Barberan y Marco, 1997).

## **2.6 DIAGNÓSTICO**

La toxoplasmosis está ampliamente distribuida en el mundo y en la mayoría de los casos cursa de forma subclínica (Atías, 1997), siendo difícil el diagnóstico basado sólo en datos clínicos (Soulsby, 1986). No es fácil demostrar el agente etiológico, y establecer la relación entre infección y enfermedad (Botero y Restrepo, 1998).

Clínicamente se debe diferenciar de otras entidades infecciosas ya que la sintomatología, en caso de presentarse, no es específica y, por el contrario, acompañan a otros múltiples procesos patológicos.

### **2.6.1 TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS**

#### **2.6.1.1 Aislamiento del parásito**

La presencia de *T. gondii* puede confirmarse mediante el aislamiento en ratones infectados. La muestra, ya sea sangre, sedimento del centrifugado de líquido cefalorraquídeo, líquido amniótico, suspensiones, triturados de biopsias o de placenta, etc, es inoculada vía intraperitoneal en los ratones (Remington *et al*, 1994). La positividad de la infección puede demostrarse mediante pruebas serológicas al cabo de 3 semanas (Soulsby, 1986) y puede confirmarse mediante la observación de taquizoitos en preparaciones realizadas a partir del líquido peritoneal o mediante la observación de quistes tisulares en el cerebro, pulmón, etc. (Remington *et al*, 1994). El plazo para la obtención de resultado puede durar 30 días o más, pero es compensado por la alta sensibilidad de esta técnica.

#### **2.6.1.2 Aislamiento en cultivo celular**

El material sospechoso es sembrado en cultivos celulares, como fibroblastos u otras líneas celulares. El desenvolvimiento del toxoplasma en

el interior de las células se evidencia con facilidad por inmunofluorescencia (Derouin *et al*, 1987; Derouin *et al*, 1988) en un plazo de una semana. La técnica es menos sensible que la inoculación en ratones.

### **2.6.1.3 Histopatología**

Durante la enfermedad aguda pueden detectarse taquizoitos en diversos tejidos y líquidos corporales mediante citología (Dubey y Lappin, 2000). Las muestras obtenidas del líquido cefalorraquídeo, peritoneal, y torácica; y las obtenidas por biopsia de diferentes órganos (Botero y Restrepo, 1998; Dubey y Lappin, 2000) pueden ser observadas en el microscopio al fresco o teñidas y en cortes histológicos. La investigación ofrece grandes dificultades y rara vez es concluyente para establecer el diagnóstico (Atías, 1997).

### **2.6.1.4 Examen de heces**

El método de concentración fecal ayuda a confirmar la presencia de ooquistes, para ello se utiliza técnica de centrifugación con azúcar de Sheather que resulta eficaz para revelar la presencia de ooquistes de *T. gondii* en heces de gatos (Dubey y Lappin, 2000).

A pesar de la alta prevalencia a nivel mundial de anticuerpos séricos en gatos, la presencia de ooquistes de *T. gondii* en las heces es baja. En Estados Unidos menos de 1% de felinos elimina ooquistes en cualquier día determinado (Dubey y Beattie, 1988).

### **2.6.1.5 Prueba de Toxoplasmina**

La prueba de toxoplasmina es una prueba de hipersensibilidad retardada, semejante a la de tuberculina, que detecta inmunidad celular. El antígeno que se inyecta intradérmicamente es un lisado de toxoplasma

extraído del exudado peritoneal del ratón (Botero y Restrepo, 1998; Pizzi, 1997). La prueba no indica una infección activa sino que el individuo ha estado expuesto al parásito y se había infectado (Acha y Szyfres, 1986).

#### **2.6.1.6 Técnica de Peroxidasa – Antiperoxidasa**

La técnica de Peroxidasa-antiperoxidasa permite la visualización de *T. gondii* intacto y sus residuos antigénicos en secciones fijadas en formalina e incrustadas en parafina de tejidos de membranas fetales, siendo comúnmente la infección por *T. gondii* demostrada en cotiledones placentarios, corazón, pulmones, cerebro y músculo esquelético del feto.

El método es específico y sensible, permitiendo la detección de antígeno de *T. gondii*, incluso en tejidos severamente descompuestos (Uggla *et al*, 1987).

#### **2.6.1.7 Prueba de Sabin y Feldman**

Es una prueba clásica y específica, pero tiene dificultades técnicas por lo cual su uso es limitado. Como antígenos se utilizan parásitos vivos (taquizoítos) obtenidos de exudado peritoneal de ratones. El suero problema, el complemento, el antígeno y el colorante (azul de metileno) se incuban, y se diluyen progresivamente para determinar el título de anticuerpos. En caso de que existan anticuerpos frente al parásito en el suero problema, los taquizoítos se lisan y no se tiñen uniformemente con el colorante; sin embargo si la muestra es negativa los taquizoítos se tiñen uniformemente de azul de metileno. La prueba es altamente sensible y específica, y es la prueba patrón para otras técnicas serológicas (Botero y Restrepo, 1998; Lorca y Contreras, 1997).

### **2.6.1.8 Prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI)**

Esta prueba tiene una alta sensibilidad y especificidad en forma similar a la de Sabin y Feldman. En la práctica se prefiere por su fácil ejecución, por que no requiere trabajar con parásitos vivo, ni con factor accesorio. Una desventaja de esta prueba es el uso de microscopio de fluorescencia, inaccesible a muchos investigadores (Botero y Restrepo, 1998). El procedimiento de la prueba tiene dos fases. En la primera fase el suero problema se pone en contacto con el substrato antigénico, si el anticuerpo esta presente se formará un complejo antígeno- anticuerpo, de lo contrario los componentes del suero serán lavados en el paso correspondiente. En el segundo paso, se adiciona una anti-inmunoglobulina específica, marcada con fluoresceína, la cual se uniría al complejo ya descrito en caso de estar presente. Con la ayuda de un microscopio de inmunofluorescencia se puede visualizar una reacción positiva (Llop *et al*, 2001)

### **2.6.1.9 Reacción en Cadena de la Polimersa (PCR)**

Esta técnica permite la identificación de *T. gondii* y se fundamenta en la detección y amplificación de segmentos característicos de sus ácidos nucleicos. La técnica es muy sensible y capaz de detectar en la muestra un número extremadamente reducido o lisado de toxoplasma. Actualmente la técnica puede ser realizada en menos de 24 horas, pero durante el procedimiento exige de controles rigurosos para evitar resultados falsos (Blanco *et al*, 1992; Bretagne *et al*, 1993; Dupouy – Camet *et al*, 1993. Grover *et al*, 1990; Hohlfeld *et al*, 1994). Los segmentos amplificados del DNA del Toxoplasma corresponden a diferentes genes, como P30, TRG1 y B1. La investigación puede ser realizada de líquido amniótico (Grover *et al*, 1990; Hohlfeld *et al*, 1994), sangre de recién nacidos, de pacientes con SIDA (Dupouy – Camet *et al*, 1993), de material cerebral o líquido cefalorraquídeo (Parmley *et al*, 1992), del material obtenido por lavado broncoalveolar (Bretagne *et al*, 1993), etc.

### **2.6.2.0 Prueba de ELISA**

Esta prueba puede ser usado para demostrar tanto antígenos como anticuerpos incluyendo anticuerpos específicos de clase (Llop *et al*, 2001).

Los títulos obtenidos con la prueba de ELISA para anticuerpos IgG se correlacionan en algunos casos con los detectados por pruebas como IFI, Sabin Feldman y Hemaglutinación indirecta (Botero y Restrepo, 1998). La prueba de ELISA para anticuerpos IgM reversa permite el diagnóstico en casos de infección aguda y congénita (Lorca y Contreras, 1997), teniendo una sensibilidad de 97% y una especificidad de 100%.

El método de ELISA para anticuerpos IgM doble sandwich consiste en sensibilizar las placas con una inmunoglobulina específica anti IgM, marcadora de infección aguda, que detectara los anticuerpos específicos presentes en la muestra en estudio. Con posterioridad, se agregará el antígeno específico y la reacción se detecta al utilizar un anticuerpo anti-antígeno específico marcado con la enzima.

Producida la reacción antígeno-anticuerpo, se detecta por el producto coloreado producido al emplear el sustrato enzimático específico (Lorca y Contreras, 1997). Si en la prueba descrita se usa aglutinación de los parásitos se denomina ISAGA. La prueba IgM-ISAGA es más sensible y detecta anticuerpos IgM específicos más precozmente que IgM- ELISA (Botero y Restrepo, 1998).

#### **2.6.2.1 Prueba de aglutinación en látex**

Esta técnica utiliza antígeno soluble de *T. 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 (Innes y Esteban-Redondo, 1997).

### **2.6.2.2 Prueba de hemaglutinación indirecta**

El método se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos anti-*T.gondii* de producir aglutinación en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del parásito (Wiener lab, 2000). Esta prueba se utiliza como prueba serológica rutinaria en muchos laboratorios teniendo una sensibilidad de 81.6% y una especificidad de 97.1% en porcinos (Hugh-Jones *et al*, 1986).

## **2.7 TRATAMIENTO**

En el tratamiento de la toxoplasmosis, los medicamentos disponibles sólo actúan contra las formas de replicación rápida (taquizoítos), pero no suprimen la infección pues no destruyen los quistes tisulares (Botero y Restrepo, 1998).

Los medicamentos más utilizados en el hombre son: espiramicina, pirimetamina, trimetoprim, sulfonamidas (Sulfadiazina, sulfametoxazol y sulfadoxina), dapsona y ácido fólico. La combinación de dos drogas es muy utilizada por su acción sinérgica y con la administración adicional de ácido fólico (Botero y Restrepo, 1998; Atias, 1997; Llop *et al*, 2001).

El medicamento de elección para el tratamiento de la toxoplasmosis clínica en gatos, es la clindamicina (Dubey y Lappin, 2000). Por otro lado, el tratamiento en la ganadería no es recomendable por ser impráctica. Pues la quimioterapia requiere de prolongada administración y vigilancia médica (Rojas, 1990).

## **2.8 PREVENCIÓN Y CONTROL**

- Es importante la educación de las personas, haciéndoles ver el peligro potencial de tener gatos no controlados sanitariamente, poniendo especial atención en el manejo y alimentación de estos animales.

- Se deberá extremar las medidas preventivas en mujeres embarazadas seronegativas (seguimiento estrecho mensualmente para valorar la posibilidad de una seroconversión) y en personas con inmunodeficiencia (SIDA, tratamientos inmunosupresores, etc).
- Control ambiental del hogar contra invertebrados (cucarachas, moscas, etc.), y roedores.
- Lavarse las manos luego de manipular alimentos crudos (carnes, Frutas y verduras) así también después de manipular animales y tierras de jardines.
- Evitar el consumo de carne cruda o poco cocida. Consumir carnes bien cocida a más de 67 °C.
- El agua de ríos y lagunas siempre deberá hervirse antes de beberla.
- Se debe extremar las medidas higiénicas al manipular animales abortados especialmente las membranas fetales y no permitir el acceso de felinos a estos.
- No alimentar a los gatos con carne o vísceras crudas; y evitar que cazen y coman roedores o aves silvestres.
- Evitar que los gatos tengan acceso y defequen en lugares de almacenamiento de alimentos de los animales (forraje, concentrado, agua, etc)
- Castración de los gatos como medida para reducir el vagabundeo y la población felina.
- En el ganado permitir que pastoreen los vientres de reemplazo en los potreros que pastorearon los animales que abortaron, aplicando la mayor presión de pastoreo posible, con ello, se hará efectiva la infección de las hembras con los ooquistes presentes en la tierra, y de este modo quedarán protegidas contra la toxoplasmosis antes de ser servidas.



### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 MATERIALES**

##### **3.1.1 LUGAR DE ESTUDIO:**

El estudio se llevó a cabo en la Unidad de Producción de Cochas de la SAIS Túpac Amaru, situado en el distrito de Canchayllo, provincia de Jauja, Departamento de Junín, ubicado a 4065 m.s.n.m., 11.58 latitud sureste, 75.48 longitud oeste, en el mes de diciembre del año 2000.

El lugar de estudio era una zona de vida tipo páramo muy húmedo subalpino tropical, con un rango de precipitación pluvial de 500-950/mm anual, temperatura promedio de 3.0 a 6.0 centígrados, y con una vegetación tipo herbáceas rastreras y pajonales de puna (INRENA, 2000).

##### **3.1.2 MATERIAL PARA LA COLECCIÓN DE MUESTRAS**

- Tubos vacutainers con capacidad de 10ml c/u.
- Agujas N° 20 x 1.1/2" para vacutainer.
- Gradillas para tubos.
- Viales plásticos con capacidad de 2 ml. c/u.

- Cajas isotérmicas.
- Geles Refrigerantes.
- Alcohol.
- Algodón.
- Pipetas plásticas descartables.

### 3.1.3 MATERIAL USADO PARA EL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

- Kits comerciales de la Prueba de Hemaglutinación indirecta Toxotest (Wiener-Lab., Argentina. 2000).
- Policubetas.
- Micropipetas (25 µl).
- Microdilutor (25 µl).
- Agua destilada.
- Papel toalla.
- Plumón azul y plumón rojo.

## 3.2 MÉTODOLÓGIA

### 3.2.1 TAMAÑO MUESTRAL

El tamaño de muestras se calculó haciendo uso de la fórmula para estimar una proporción (Miguel, 1982).

$$N = \frac{Z^2 pq}{(e)^2} = 196$$

Donde:

Z = 1.96 (95% de nivel de confianza)

P = 0,5 (prevalencia referencial, Leguía *et al*, 1988)

q = 0,5 (complemento de la prevalencia referencial)

e = 0,07 (error máximo permisible)

El total de la población de alpacas fue 3665 animales (2429 hembras y 1236 machos) llegándose a muestrear 200 animales de ambos sexos. Se estratifico la muestra según la edad y el sexo de los animales.

**Cuadro 1** Población total de alpacas de la Unidad de Producción de Cochas de la SAIS Túpac Amaru – Junín, 2000.

<b>Edad (meses)</b>	<b>Animales Machos</b>	<b>Animales Hembras</b>	<b>TOTAL</b>
8 a 12	296	313	609
12 a 36	533	409	942
> 36	407	1707	2114
<b>TOTAL</b>	<b>1236</b>	<b>2429</b>	<b>3665</b>

**Cuadro 2** Tamaño muestral estratificado según sexo y edad de alpacas de la Unidad Producción de Cochas de la SAIS Túpac Amaru – Junín, 2000.

<b>Edad (meses)</b>	<b>Animales Machos</b>	<b>Animales Hembras</b>	<b>TOTAL</b>
8 a 12	16	17	33
12 a 36	30	22	52
> 36	22	93	115
<b>TOTAL</b>	<b>68</b>	<b>132</b>	<b>200</b>

### **3.2.2 PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS**

Las muestras de sangre fueron obtenidas de la vena yugular de las alpacas mediante punción directa, usando tubos vacutainers estériles y agujas N°21 x 1 1/2. se identificaron las muestras con numeración, teniendo en cuenta el sexo y la edad del animal. Luego de la obtención, las muestras se colocaron en gradillas con una inclinación de 45°, con el fin de obtener la mayor cantidad de suero.

Posteriormente se separó, el suero de los tubos vacutainers, siendo almacenados en viales individuales y fueron trasladados con material refrigerante al Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en donde fueron almacenados a -20°C hasta la realización de los análisis serológicos.

### **3.2.3 TÉCNICA DE LABORATORIO**

Los títulos de anticuerpos contra *T. gondii* se evaluaron utilizando la prueba de hemoaglutinación indirecta ,usando para ello un kit comercial (Toxotest, de Wiener Lab.Toxotest, 2000).

#### **3.2.3.1 Desarrollo de la Técnica: Titulación sin 2-Mercaptoetanol:**

1. Limpiar la base de las policubetas con un trapo húmedo para eliminar la carga electrostática.
2. Colocar con una micropipeta de 25µl una gota de diluyente de sueros HAI en todos los pocillos de la policubeta.
3. Colocar en los pozos de la fila 1, 25µl de cada suero problema o control a ensayar utilizando microdilutores individuales para cada muestra.

4. Enseguida realizar las diluciones a partir de la fila 1 (dilución  $\frac{1}{2}$ ) pasando los microdilutores de la fila 2 (dilución  $\frac{1}{4}$ ) y así sucesivamente hasta la fila 6 (dilución  $\frac{1}{64}$ ).
5. Colocar en las filas 1 y 2 (diluciones  $\frac{1}{2}$  y  $\frac{1}{4}$ ) una gota de 25 $\mu$ l de glóbulos rojos no sensibilizados para el control de la heterofilia.
6. En el resto de los pozos, agregar una gota de 25 $\mu$ l de antígeno HAI.
7. Agitar suavemente la policubeta durante 30 segundos.
8. Dejar en reposo al resguardo de vibraciones durante 90 minutos.
9. Realizar la lectura a partir de los 90 minutos.
10. Lectura:
  - No reactivo: presencia de un sedimento en forma de botón o pequeño anillo de bordes regulares.
  - Reactivo: formación de una película o manto que cubre el 50% o más del fondo de los pocillos.

Se tomó como positivos valores  $\geq 1/16$ , de acuerdo al Kit comercial (Toxotest (Wiener Lab. Toxotest, 2000)).

La prueba de Hemaglutinación indirecta detecta IgG es una prueba cualitativa que nos indica infección pero no si el parásito se encuentra en actividad o inactividad. Su principal limitación es no detectar infecciones recientes pues se alcanzan títulos diagnósticos a los 2 a 3 meses (Pizzi, 1997).

#### **3.2.4 ANÁLISIS DE DATOS**

Los resultados se expresaron en porcentaje, teniendo en cuenta la positividad de los sueros a la prueba serológica y con su respectivo intervalo de confianza.

Los resultados se ingresaron en una base de datos considerando las variables: especie, sexo, grupo etario, y el resultado a la prueba diagnóstica; y adicionalmente se uso la prueba estadística de regresión logística (Kenneth y Sander, 1998).

### 3.2.4.1 PREVALENCIA

Se calculó la prevalencia de la enfermedad utilizando la siguiente fórmula:

$$P = \frac{\text{Nro. Animales positivos}}{n}$$

Donde: P = prevalencia de la prueba

n = tamaño muestral

### 3.2.4.2 INTERVALO DE CONFIANZA

El intervalo de confianza (I.C.) representa los límites entre los cuales se encuentra el verdadero valor de la población con una confianza de 95% y es el resultado de la siguiente fórmula (Daniel, 1996) :

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

Donde:

$$Z = 1.96$$

p = Prevalencia corregida.

$$q = (1-p)$$

n = número de animales muestreados.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los estudios sobre toxoplasmosis realizados a nivel mundial, han determinado que la infección por este parásito es muy frecuente en todos los animales domésticos, silvestres, así como en el ser humano.

El *Toxoplasma gondii*, agente etiológico de la enfermedad, es un serio problema en la producción de ovinos y caprinos ya que ocasiona reabsorción embrionaria, abortos, mortalidad perinatal, e infertilidad temporal (Blood *et al*, 1992), constituyéndose en una de las primeras causales de aborto ovino de naturaleza infecciosa. Las pérdidas de las gestaciones pueden ir desde 1 a 40% (Freyre *et al*, 1999). En la actualidad no se cuenta con información clara acerca de los efectos que pudiese ocasionar en los aspectos reproductivos de los camélidos sudamericanos.

En el hombre, los resultados obtenidos por el test de Hemaglutinación indirecta (HAI) son comparables a los de la Inmunofluorescencia indirecta (IFI), para la detección de anticuerpos de tipo Ig G (Villafani y Bládes, 1996). La técnica de HAI es utilizada para el diagnóstico de toxoplasmosis por su facilidad en su empleo, costos moderados así como su sensibilidad y especificidad todas estas razones motivaron el empleo de esta técnica en nuestro estudio.

La seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en alpacas hallada en la Unidad de Producción de Cochabamba de la SAIS Túpac Amaru-Junín, fue de  $21.0 \pm 5.64\%$ , resultado que confirmaría la existencia de infección por *T. gondii* en alpacas de la sierra central del país.

Este resultado resulta similar al hallado por Góngora (1992) en Puno, quien encontró en 192 alpacas muestreadas una prevalencia de 24% mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Sin embargo difiere con otros estudios realizados en el sur del país, donde otros autores utilizando la misma técnica de diagnóstico al presente estudio encontraron valores superiores, así Leguía *et al* en (1988) en la SAIS Picotani-Puno encontró un 50% de prevalencia en 200 alpacas hembras muestreadas; Gómez (2002) en la Estación Experimental de Quimsachata (INIA-Puno) en 200 alpacas muestreadas encontró una prevalencia de 44.5 %.

En otros estudios similares realizados en el norte de Chile, Rojas *et al* (1989) en 60 alpacas muestreadas utilizando la técnica de hemaglutinación indirecta, encontró 46.6 % en machos y 24,4 % en hembras respectivamente; y Gorman (1999) mediante la prueba HAI encontró una prevalencia de 16.3 % sobre una muestra de 447 alpacas.

La variedad de resultados obtenidos por diversos autores, estaría relacionado a diversos factores tales como tipo de explotación, ubicación geográfica, altitud, cercanía de fuentes de agua, factores ambientales, presencia del hospedero definitivo (felinos domésticos y/o silvestres), y la técnica utilizada (Luzón *et al*, 1997). Asimismo las prevalencias indicadas pertenecen a áreas geográficas diferentes, lo que justificaría la variedad de los resultados obtenidos por distintos autores; incluso en áreas que podrían ser consideradas endémicas, el carácter esporádico de la infección suele implicar grandes diferencias entre unas explotaciones y otras, así como entre un año y otro, por lo que las prevalencias detectadas en una zona y época concretas no son fácilmente extrapolables (Luzón *et al*, 1997).



Los resultados hallados en nuestro estudio muestran una prevalencia moderada respecto a la reportada en el sur del país, probablemente debido a:

Factores ambientales, pues se han reportado mayores seroprevalencias en zonas de climas cálidos, húmedos o tropicales y menor en zonas áridas y frías del mundo (Dubey y Beattie, 1988). Así también hay diferencias entre las tasas de prevalencia con relación a la altitud, y las más altas tasas corresponden a las áreas de menor elevación sobre el nivel del mar (Acha y Szyfres, 1986). Estas condiciones ambientales esta estrechamente relacionado con la sobrevivencia del ooquiste .

Baja presencia del hospedero definitivo en la zona, ya que los felinos como hospederos definitivos de *T. gondii* son el punto clave de la epidemiología de la toxoplasmosis y juega un papel importante en la dinámica de transmisión del parásito por la eliminación de ooquistes en sus heces como única fuente de infección para los animales herbívoros.

En la zona estudiada no se observaron gatos domésticos, pero podrían existir gatos domésticos vagabundos, gato montes andino o pumas, ya que estos dos últimos pueden llegar a vivir hasta los 5000 m.s.n.m., y según comentarios de algunos pastores de la zona, los pumas no son muy frecuentes. En el estudio realizado por Góngora (1992) en 192 alpacas en Puno encontró una prevalencia de 24% y el 22.9% de los animales positivos pertenecían a productores que criaban gatos, y 1.1% a los productores que no criaban gatos, lo que demuestra claramente la relación entre presencia de gatos e infección.

El mayor porcentaje de alpacas positivas se encuentra en el grupo comprendido entre 8 a 12 meses ( cuadro 5 ) lo que difiere completamente con otros estudios realizados en el sur del país, este dato resulta inusual pues en la gran mayoría de estudios realizados en esta y en otras especies, existen un gradiente de infección de acuerdo a la edad , la cual es esperada toda vez que a mayor edad existe un mayor tiempo de exposición y la probabilidad de infectarse es mayor (Barberan y Marco, 1997), Al realizar el análisis mediante la Prueba de regresión logística se encontró que el grupo etéreo de 8 a 12

meses tenía mayor riesgo de contraer toxoplasmosis que los otros grupos etáreos analizados ( $p < 0.05$ ), como se mencionó anteriormente este resultado es inusual y posiblemente se explicaría por la presencia de anticuerpos maternos, por el manejo de los animales, pues las alpacas hembras preñadas y se encuentran en las zonas más bajas, principalmente en los bofedales ( Sumar y Huanca, 1988), además el destete se realiza entre los 8 a 9 meses, edad a la que son trasladados a otra punta y zona de pastoreo donde probablemente se pueden infectar. Por otro lado se tiene entendido, a partir de estudios en ovinos, que animales jóvenes y adultos son igualmente receptivos a infección por *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 (Barberan y Marco, 1997).

En el cuadro 6 se observa que 8 animales presentaron títulos 1/256; 2 animales presentaron títulos 1/512 y 3 animales presentaron títulos igual a 1/1024 lo que podría indicar que hubo una exposición reciente al agente infeccioso de estos animales, 1 a 2 meses antes del muestreo que podría deberse al manejo.

Al realizar la distribución de los animales según el sexo mediante la Prueba de Regresión Logística (cuadro 7), no se encontró diferencia, es decir, no se considera al sexo como un factor de riesgo, por lo tanto, las hembras y machos son susceptibles a infectarse por igual.

La seroprevalencia hallada en el presente estudio dependería de diversos factores epidemiológicos que no están del todo claro. Por lo tanto, se hace necesario la realización de más estudios a fin de determinar el verdadero rol de este parásito en los problemas reproductivos de las alpacas.

**Cuadro 3** Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en alpacas de la Unidad de Producción de Cochas de la SAIS Túpac Amaru - Junín, 2000.

<b>Especie</b>	<b>Animales Muestreados</b>	<b>Animales Positivos</b>	<b>Prevalencia a la prueba <math>\pm</math> IC</b>
Alpacas	200	42	21.0 $\pm$ 5.64

**Cuadro 4** Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en alpacas distribuidos según sexo de la Unidad de Producción de Cochas de la SAIS Túpac Amaru – Junín, 2000.

<b>Sexo</b>	<b>Animales muestreados</b>	<b>Animales Positivos</b>	<b>Prevalencia <math>\pm</math> I.C</b>
Macho	68	18	26.47 $\pm$ 10.47
Hembra	132	24	18.18 $\pm$ 6.57
TOTAL	200	42	21 $\pm$ 5.64

**Cuadro 5** Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en alpacas distribuidos según grupo etáreo de la Unidad de Producción de Cochas de la SAIS Túpac Amaru – Junín, 2000.

<b>Edad (meses)</b>	<b>Animales Muestreados</b>	<b>Animales Positivos</b>	<b>Prevalencia <math>\pm</math> I.C</b>
8 a 12	33	11	33.3 $\pm$ 16.08
12 a 36	52	8	15.38 $\pm$ 9.80
> 36	115	23	20 $\pm$ 7.31
TOTAL	200	42	21 $\pm$ 5.64

**Cuadro 6** Titulaciones de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* mediante la prueba HAI en alpacas hembras (H) y machos (M) de la Unidad de Producción Cochás de las SAIS Túpac Amaru – Junín, 2000.

Grupo	N° Animales	N° Animales positivos	Títulos de animales positivos a las diluciones (%)							
			1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	
8-12 meses										
H	17	8	6	-	-	-	-	-	-	2
M	16	3	-	3	3	-	-	-	-	-
12-36 meses										
H	22	1	-	-	-	-	1	-	-	-
M	30	7	4	1	1	-	1	-	-	-
>36 meses										
H	93	15	3	2	2	2	5	-	1	
M	22	8	2	-	2	11	1	2	-	
Total	200	42	15 (31.71)	3 (17.14)	8 (19.04)	3 (7.14)	8 (19.04)	2 (4.76)	3 (7.14)	

**Cuadro 7** Evaluación del sexo y la edad como factor de riesgo para la infección de *T. gondii* en alpacas de la Unidad de Producción de Cochás de las SAIS Túpac Amaru – Junin, 2000.

		B	S.E.	Wald	df	Sig	Exp(B)	95.0 % C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
paso 1	SEXO(1)	.560	.388	2.081	1	.149	1.751	.818	3.748
	EDAD			3.993	2	.136			
	EDAD(1)	.546	.481	1.287	1	.257	1.726	.672	4.430
	EDAD(2)	1.076	.539	3.982	1	.046	2.933	1.019	8.436
	Constant	-2.054	.465	19.467	1	.000	.128		

**Variables en la ecuación**

a. Variable (s) entered on step 1: SEXO y EDAD

## VI. CONCLUSIONES

1. La seroprevalencia de *T. gondii* encontrada en alpacas de la Unidad de Producción de Cochabamba de la SAIS Túpac Amaru fue moderada ( $21 \pm 5.64\%$ ).
2. Se encontró que la variable sexo no representa un factor de riesgo para contraer la infección por *T. gondii*.
3. El grupo etáreo de 8 a 12 meses presentó 2.93 veces más probabilidad de infección que los otros grupos. Esta diferencia podría deberse al manejo de los animales, presencia de anticuerpos maternos y/o a una exposición reciente de manera inusual al parásito.

## VII. BIBLIOGRAFIA

1. ABBAS, A.K.; A.H. LICHTMAN; J. S. POBER. 1999. Inmunología celular y molecular. 2da. ed. p. 556. MC Graw-Hill. Mexico.
2. ACHA, P.; B. SZYFRES. 1986. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2da. edición. p. 645-58. OPS. Washington.
3. AMATO; V.; R. CAMPOS; R.G. BARUZZI; M.I.S. DUARTE. 1982. Toxoplasmosis. São Paulo, Sarvier.
4. ATIAS, A. 1997. Parasitología Médica 4º edición. p.269-282. Ed. Mediterráneo. Chile.
5. BARBERAN, M.; J.C. MARCO. 1997. Patogenia, cuadro clínico y lesional en Toxoplasmosis – Neosporosis. Aula Veterinaria / OVIS. Tratado de Patología y Producción ovina. España. 52: 35-48.
6. BARRIGA, O. 1997. Inmunología de las infecciones Parasitarias En : Atías. A. Parasitología Médica. p. 67-101. Mediterráneo. Santiago-Chile.
7. BEAMAN, R.T.; R.E. MCCABE; J. S. REMINGTON. 1995. *Toxoplasma gondii* En: Mandell, G.L.; Douglas, E.R.; Bennett, J.E. (eds). Principles and practice of infectious diseases. 4nd edition, p.2455-2475. Churchill Livingstone, New York,
8. BENENSON, M.W.; E.T. TAKAFUJ; S.M. LEMON; R.L. GREENUP; A. J. SULZER. 1982. Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with

- ingestion of contaminated water. The New England Journal of Medicine 307:666-669.
9. BISSON, A.; S. MALEY; C. M. RUBAIRE-AKIKI; J. M. WASTLING. 2000. The Seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in domestic goats in Uganda. Acta Tropical 76:33-38.
  10. BLANCO, J.C.; S.O. ANGEL; E. MAERO. 1992. Cloning of repetitive DNA sequence from *Toxoplasma gondii* and their usefulness for parasite detection. Am. J. Trop. Med. Hyg. 46:350-357.
  11. BLEWETT, D.A.; W.A. WATSON. 1983. The epidemiology of ovine toxoplasmosis. II. Possible sources of infection in outbreaks of clinical disease. Br. Vet. J. 139:546-555.
  12. BLOOD, D.C.; O.M. RADOSTITIS; J.A. HENDERSON. 1992. Medicina Veterinaria 6ta edición. p. 1083-87. Interamericana México.
  13. BOHNE, W.; J. HEESEMANN; U. GROSS. 1993. Induction of bradyzoite no specific *Toxoplasma gondii* antigens in gamma interferon treated mouse macrophages. Infect. Immun. 61:1141-1145.
  14. BOHNE, W.; J. HEESEMANN; U. GROSS. 1994. Reduced replication of *Toxoplasma gondii* is necessary for induction of bradyzoite-specific antigens: a possible role for nitric oxide in triggering stage conversion. Infect. Immun. 62:1761-1767.
  15. BONAMETTI, A.M.; J. PASSOS; E.M. KOGA; A.L. BORTOLIERO. 1997. Surto de Toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 30 (1) 21-25.
  16. BONHOMME, A.; L. PINGRET ; J.M. PINON. 1992. Review: *Toxoplasma gondii* cellular invasion. Parasitologia. 54:31-43.
  17. BOTERO, D. ; M. RESTREPO. 1998. Parasitosis Humana. 3era. Edición. p. 2525-270. corporación para la investigación. Medellín-Colombia.
  18. BRETAGNE, S.; J.M. COSTA ; M. VIDAUD ; J. TRAN; V. NHIEU; J. FLEURY-FEITH. 1993. Detection of *Toxoplasma gondii* by competitive DNA amplification of bronchoalveolar lavage samples. J. Infect. Dis. 168:1585-1588.

19. BUXTON, D.; J. FINLAYSON. 1986. Experimental infection of pregnant sheep with *Toxoplasma gondii*: pathological and immunological observations on the placenta and foetus. *J. Comp. Pathol.* 96:319-333.
20. CANNIZZO, K.; M.R LAPPIN; C.M. COOPER. 1996. *Toxoplasma gondii* antigen recognition by serum Ig M, Ig G, and Ig A of queens and their neonatally infected kittens. *Am. J. Vet. Res.* 57:1327-1330.
21. CHIARI, C.A.; D.P. NEVES. 1984 Toxoplasmose humana adquirida através da ingestão de leite de cabra. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 79:337-340.
22. CHOI, W.Y.; H.W. NAM; N.H KWAK; W. HUH; Y.R. KIM; M.W. KANG; S.Y. CHO; J.P. DUBEY. 1997. Foodborne outbreaks of human toxoplasmosis. *J. infect. Dis.* 175:1280-1282.
23. CLUMECK, N. 1991. Some aspects of the epidemiology of toxoplasmosis and pneumocystosis in AIDS in Europe. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 10:177-178.
24. COTRAN, R.S.; V. KUMAR; T.COLLINS. 2000. En Robbins Patología Estructural y Funcional.6ta.ed. p.404-405. Mc Graw-Hill interamericana.Mexico.
25. DANIEL, W. 1996. Bioestadística base para análisis de las ciencias de la Salud. 5<sup>ta</sup> edición.p. 205-207 Editorial Limusa. México.
26. DAVIDSON, M.G.; J.B. ROTTMAN; R.V. ENGLISH; M.R. LAPPIN; M.B. TOMPKINS 1993. Feline immunodeficiency virus predisposes cats to acute generalized toxoplasmosis. *Am. J. Pathol.* 143:1486-1497.
27. DEROUIN, F. 1992. Pathogeny and Immunological control of Toxoplasmosis. *Bras. J. Med. Bio. Res.:* 25(12): 1163-1169.
28. DEROUIN, F.; M.C. MAZERON ; Y.J.F. GARIN. 1987. Comparative study of tissue culture and mouse inoculation methods for demonstration of *Toxoplasma gondii*. *J. Clin. Microbiol.* 25:1597-1600.
29. DEROUIN, F.; P. THULLIEZ ; E. CANDOLFI, F. DAFFOS; F. FORESTIER.1988. Early prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis using amniotic fluid samples and tissue culture. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 7:423-425.



30. DUBEY, J. P. 1997c. Bradizoite-induced murine toxoplasmosis: Stage conversion, pathogenesis, and tissue cyst formation in mice fed bradyzoites of different strains of *Toxoplasma gondii*. *J. Euk. Microbiol.* 44:592-602.
31. DUBEY, J. P. 1998b. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. *Int. J. Parasitol.* 28:1019-1024.
32. DUBEY, J. P.; C. A. SPEER; S. K. SHEEN; O. C. H. KWOK; J.A. BLIXT, 1997a. Oocyst-induced murine toxoplasmosis: Life cycle, pathogenicity, and stage conversion in mice fed *Toxoplasma gondii* oocyst. *J. Parasitol.* 83: 870-882.
33. DUBEY, J.P. 1980. Persistence of encysted *Toxoplasma gondii* in caprine livers and public health significance of toxoplasmosis in goats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 15: 1203-1207.
34. DUBEY, J.P. 1986. Toxoplasmosis. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 2:166-170.
35. DUBEY, J.P. 1987. *Toxoplasma gondii* cysts in placentas of experimentally infected sheep. *Am J. Vet. Res.* 48(3): 352-353.
36. DUBEY, J.P. 1988. Long term persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs inoculated with *T. gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cyst in pork. *Am. J. Vet. Res.* 49:910-913.
37. DUBEY, J.P. 1993 . Toxoplasma, Neospora, Sarcocystis, and other tissue cyst-forming coccidia of humans and animals, p.1-158. in J.P. Kreier (ed) *Parasitic protozoa*, Vol. 6. Academic Press, inc., New York, N.Y.
38. DUBEY, J.P. 1995. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts in cats. *J. Parasitol* 81:410-415.
39. DUBEY, J.P. 1996a. Pathogenicity and infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts for rats. *J. Parasitol.* 82:951-956.
40. DUBEY, J.P. 1996b. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. *J. Parasitol.* 82: 957-961.
41. DUBEY, J.P. 1997a. Distribution of tissue cysts in tissues of rats fed oocysts. *J. Parasitol.* 83:755-757.

42. DUBEY, J.P. 1997b. Tissue cyst tropism in *Toxoplasma gondii*: a comparison of tissue cyst formation in organs of cats and rodents fed oocysts. *Parasitology*. 115:15-20.
43. DUBEY, J.P. 1998a. Reexamination of resistance of *Toxoplasma gondii* tachyzoites to pepsin digestion. *Parasitology*. 116:43-50.
44. DUBEY, J.P.; A. TOWLE. 1986. Toxoplasmosis in sheep: a review and annotated bibliography. London: miscellaneous publication No.10 of the commonwealth Institute of Parasitology. 1-152 p.
45. DUBEY, J.P.; C.P. BEATTIE. 1988. Toxoplasmosis of animals and man, p. 1-220. CRC Press, Boca Raton, FL.
46. DUBEY, J.P.; J. L. CARPENTER. 1993a. Histologically confirmed clinical toxoplasmosis in cats: 100 cases (1952-1990). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 203:1556-1566.
47. DUBEY, J.P.; J.K. FRENKEL. 1976. Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of *Toxoplasma* cysts. *J. Protozool.* 23:537-546.
48. DUBEY, J.P.; J.L. CARPENTER. 1993b. Neonatal toxoplasmosis in littermate cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 203:1546-1549.
49. DUBEY, J.P.; M.R. LAPPIN. 2000: Toxoplasmosis y Neosporosis. En Green, C.E. (eds). *Enfermedades infecciosas en Perros y Gatos* 2da edición. p. 542-560. Mc Graw Hill Interamericana-México.
50. DUBEY, J.P.; M.R. LAPPIN; P. THULLIEZ. 1995. Diagnosis of induced toxoplasmosis in neonatal cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 207:179-185.
51. DUBEY, J.P.; D.S. LINDSAY; C.A. SPEER. 1998. Structures of *Toxoplasma gondii*, Tachyzoites, Bradyzoites, and sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. *Clinical Microbiology Reviews* 11(2): 267-299.
52. DUBEY, J.P.; M.E. MATTIX; T.P. LIPSCOMB. 1996. Lesions of neonatally induced toxoplasmosis in cats. *Vet. Pathol.* 33:290-295.
53. DUBEY, J.P.; E.A. ROLLOR; K. SMITH; O.C. KWOK, P. THULLIEZ. 1997b. Low seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in feral pigs from a remote island lacking cats *J. Parasitol.* 83:839-840.

54. DUBEY, J.P. 1994. Toxoplasmosis. J. Amer. vet. med. Ass. 205: 1593-1598.
55. DUPOUY-CAMET, J.; S. DE SOUZA; C. MASLO; A. PAUGAM; A.G. SAIMOT; R. BENAROUS; C. TOURTE-SCHAEFER; F. DEROUIN. 1993. Detection of *Toxoplasma gondii* in venous blood from AIDS patients by polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. 31:1866-1869.
56. ETHEREDGE, G.D.; J. FRENKEL. 1995. Human toxoplasma infection in Kuna and Embera children in the Bayano and San Blas, Easter Panama. Am. J. Trop. Hyg. 53:448-457.
57. FAHEY, K.J.; M. R. BRANDON. 1978. Synthesis of immunoglobulins by normal and antigenically stimulated foetal sheep. Res. Vet. Sci. 25:218-224.
58. FELDMAN, H.A. 1974. Toxoplasmosis: an overview. Bulletin of the New York Academy of Medicine 50:110-126.
59. FELDMAN, H.A. 1982. Epidemiology of Toxoplasma infection. Epidemiol. Rev. 44:204-213.
60. FERGUSON, D. J. P.; W. M. HUTCHISON. 1987. An ultrastructural study of the early development and tissue cyst formation of *Toxoplasma gondii* in the brains of mice. Parasitol. Res. 73:483-491.
61. FLORES, A. J. 1991. La Toxoplasmosis: consideraciones económicas, técnicas y sanitarias (On Line)  
Disponible: <http://www.veterinaria.org/ajfa/art18.htm>
62. FREIJ, B. y J. SEVER. 1991 Toxoplasmosis. Redbook/Pediatrics in Review/ Self-Assessment Exercises. February. 12(8):24.
63. FRENKEL, J.; K. HASSANEIN; R. HASSANEIN; E. BROWN; P. THULLIEZ; R. QUINTERO-NUÑEZ. 1995. Transmission of *Toxoplasma gondii* in Panama city, Panamá: a Five-years prospective cohort study of children, cats, rodents, birds and soil. Am. J. Me. Heyg. 53:458-468.
64. FRENKEL, J.K. 1973. Toxoplasma in and around us. Bioscience 23:343-352.
65. FRENKEL, J.K. 1986. La inmunidad en la Toxoplasmosis Bol. Of. Sanit, Panam. 100(3):283-299.
66. FRENKEL, J.K. 1991. Toxoplasmosis: in: Veronesi, R. (ed). Doenças infecciosas e Parasitárias. End edition, p. 734-749. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.

67. FRENKEL, J.K.; B.M. NELSON; J. ARIAS-STELLA. 1975. Immunosuppression and toxoplasmic encephalitis. Clinical and experimental aspects. *Human. Pathol.* 6:97-111.
68. FREYRE, A.; J.P. DUBEY; D. SMITH; J. K. FRENKEL, 1989. Occyted-induced *Toxoplasma gondii* infection in cats. *J. Parasit.* 75:750-755.
69. FREYRE, A; J. BONINO; J. FALCON; D. CASTELLS; O. CORREA; A. CASARETTO. 1999. The incidence and economic significance of ovine toxoplasmosis in Uruguay. *Veterinary Parasitology.* 81(1):87-90.
70. GAMBLE, H.R.; R.C. BRADY; J. P. DUBEY. 1999. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic pigs in the New England states. *Veterinary Parasitology.* 82(2):129-136.
71. GARCIA, M.A. 2002. Estudio de las zoonosis parasitarias de localización ocular en el instituto de oftalmología (INO) durante el periodo 1985-1999. Tesis. Bach. Fac. Med. Vet. UNMSM. 72 p.
72. GAZZINELLI, R.; E.Y. DENKER; A. SHER. 1993. Host resistance to *Toxoplasma gondii*: model for studying the selective induction of cell-mediated immunity by intracellular parasites. *Infect. Agents. Dis.* 2:139-149.
73. GAZZINELLI, R.; Y. Xu; S. LLIENY; A. CHEVER ; A. SHER. 1992. Simultaneous depletion of CD<sub>4</sub> + and CD<sub>8</sub>+ T lymphocytes is required to reactivate chronic infection with *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.* 149:175-180.
74. GÓMEZ, F.R. 2002. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en alpacas y llamas de la estación experimental del INIA (Quimsachata) Puno. Tesis. Bach. Fac. Med. Vet. UNMSM. 54p.
75. GÓNGORA, M. 1992. Prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en las comunidades alpaqueras de: Vilcallamas, Bajo Llallahua, Huanacayama, Llusta. Tesis. Bach. Médico Veterinario y Zootecnista. UNA-Puno. Perú. 47 p.
76. GORMAN, T; J.P. ARANCIBIA; M. LORCA; D. HIRD; H. ALCAINO. 1999. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and alpacas (*Lama pacos*) in Chile. *Preventive Veterinary Medicine* vol. 40(3-4) 143-149.

77. GROVER, C.M.; P. THULLIEZ; J. REMINGTON; J.C. BOOTHROYD. 1990. Rapid prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis by using polymerase chain reaction and amniotic fluid. *J. Clin. Microbiol.* 28:2297-2301.
78. HEIDEL, J.R.; J.P. DUBEY; LL. BLYTHE ; L.L. WALKER ; J.R. DUIMSTRA; J.S. JORDAN. 1990. Myelitis in cat infected with *Toxoplasma gondii* and feline immunodeficiency virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 196:316-318.
79. HERRERA, AA.; S. MEDINA. 1993. Serología en Pacientes sospechosos de *Toxoplasma*. Instituto Nacional de Salud (1989-1992). In: I Congreso Peruano de Parasitología. Libro de resúmenes. Lima-Perú.
80. HOHLFELD, P.; F. DAFFOS. 1994. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasma with polymerase chain reaction in test on amniotic fluid. *N. Engl. J. Med.* 331:695-699.
81. INNES, E. A.; M. I. ESTEBAN-REDONDO, 1997. Diagnóstico in *Toxoplasmosis - Neosporosis*. Aula Veterinaria / OVIS. Tratado de Patología y Producción ovina. España. Septiembre (52) 51-56.
82. INRENA 2000 . PERÚ:Áreas Naturales Protegidas. Inrena. Ministerio de agricultura.230p.
83. JACOBS, L.; J.S. REMINGTON; M.L. MELTON. 1960. The resistance of the encysted form of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol.* 46:11-21.
84. JONES, T.C.; K.W. BIENZ; P. ERB. 1986. In vitro cultivation of *Toxoplasma gondii* cysts in astrocytes in the presence of gamma interferon. *Infect. Immun.* 51:147-156.
85. KENNETH, K.; C. SANDER. 1998. *Modern Epidemiology*. Second edition. p. 356-401. Lippicott-ravon publisher.
86. LAPPIN, M.R.; P.W. GASPER; B.J. ROSE; C.C.POWELL. 1992. Effect of primary phase feline immunodeficiency virus infection on cats with Chronic toxoplasmosis. *Vet. Immunol. immunopathol.* 35:121-131.
87. LAPPIN, M.R.; J.W. GEORGE; N.C. PEDERSEN; J.E. BARLOUGH; C.J. MURPHY; L.S. MORSE. 1996. Primary and secondary *Toxoplasma gondii* infection in normal and feline immunodeficiency virus infected cats. *J. Parasitol.* 82:733-742.

88. LAPPIN, M.R.; C.E. GREENE; S. WINSTON. 1989. Clinical feline toxoplasmosis: serologic diagnosis and therapeutic management of 15 cases. J. Vet. Intern. Med. 3:139-143.
89. LAPPIN, M.R.; S.M. ROBERTS; M.G. DAVIDSON; C. C. POWELL; J. S. REIF. 1992. Enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of *Toxoplasma gondii*-specific antibodies and antigens in the aqueous humor of cats. J. Am. Vet. Med. Assoc. 201:1010-1016.
90. LEGUIA, G.; C. GUERRERO. 1986. Prevalencia de *Toxoplasma gondii* en Borregas. Resum 9ª Reunión Científica. Anu ASoc. Peruana Prod. Anim. Lima-Perú.
91. LEGUIA, G; H. SAMANÉ; C. GUERRERO; M. ROJAS; A. NUÑEZ. 1988. Prevalencia de Anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en Alpacas. Rev. Camelid. Sudamer. CISC,IVITA.LIMA. 6: 19-22.
92. LIN, D.S.; D.D. BOWMAN; R.H. JACOBSON. 1992. Immunological changes in cats with concurrent *Toxoplasma gondii* and feline immunodeficiency virus infections. J. Clin. Microbiol. 30:17-24.
93. LINDSAY, D.S.; B.L. BLAGBURN; J. P. DUBEY. 2002. Survival of nonsporulated *Toxoplasma gondii* oocysts under refrigerator conditions. Veterinary Parasitology 103(4):309-313.
94. LLOP, A.; M.M. VALDÉS-DAPENA; J.L. ZUAZO. 2001. Microbiología y Parasitología Médicas. Editorial ciencias médicas.p.141-150. La Habana-Cuba. Tomo III
95. LORCA, M.; M. CONTRERAS. 1997. Métodos de Diagnóstico indirecto. In: Atías, A. (eds). Parasitología Médica. 4ta. edición. p. 571-576. Mediterráneo. Santiago-Chile.
96. LUFT, B.J.; J.S. REMINGTON. 1989. Toxoplasmosis. in: Hoeprich, P.D.; Jordan, M.C. (eds). Infectious Diseases. 4nd edition. p. 1199-1214. JB. Lippincott Company, Philadelphia.
97. LUFT, B.J.; R.G. BROOKS; F.K. CONLEY; R.E. MC CABE; J.S. REMINGTON. 1984. Toxoplasmic encephalitis in patients with acquired immune deficiency syndrome. J. Ame. Med. Assoc, 252:913-917.
98. LUZON, M.; A. ALONSO; G. A. QUINTANILLA. 1997. Etiología, biología y epidemiología en: Toxoplasmosis - Neosporosis. Rev.Aula Veterinaria / OVIS. (52) 11-31.

99. MCCABE, R.E.; R.G. BROOKS; R.F. DORFMAN; J.S. REMINGTON. 1987. Clinical spectrum 107 cases of toxoplasmic lymphadenopathy. *Reviews of infectious Diseases* 9:754-774.
100. MELHORN, H.; J.K. FRENKEL. 1980. Ultrastructural comparison of cysts and zoites of *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis muris*, and *Hammondia hammondi* in skeletal muscle of mice. *J. Parasitol.* 66:59-67.
101. MERCK & CO. 2000. El Manual Merck de veterinaria. 5º edición. p. 545-546; 113-117. Oceano Grupo Editorial. Barcelona, España.
102. MIÉDOUGÉ, M.; M.H. BESSIÉRES; S. CASSAING; B. SWIERCZYNSKI; J.P. SÉGUÉLA. 1997. Parasitemia and parasitic loads in acute infection and after anti-gamma-interferon treatment in a toxoplasmic mouse model. *Parasitol. Res.* 83:339-344.
103. MIGUEL, O. 1982. Técnicas de amostragem para exames laboratoriais. *Hyg. Alim.* 1(2): 413-415.
104. MORISAKI, J.H.; J.F. HEUSER; L. D. SIBLEY. 1995. Invasion of *Toxoplasma gondii* occurs by active penetration of the host cell. *J. Cell. Sci.* 108:2457-2464.
105. NICHOLS, B.A.; G. R. O'CONNOR. 1981. Penetration of mouse peritoneal macrophages by the protozoon *Toxoplasma gondii*. *Lab. invest.* 44:324-335.
106. NICOLL, S.; S. WRIGHT; S.W. MALEY; S. BURNS; D. BUXTON. 1997. A mouse model of recrudescence of *Toxoplasma gondii* infection. *J. Med. Microbiol.* 46:263-266.
107. NOVOA, C.; A. FLORES. 1991. Producción de Rumiantes Menores: Alpacas. p. 256-60. Lima-Perú.
108. O'NEIL, S.A.; M.R. LAPPIN; J.S. REIF; A. MARKS; C.E. GREENE. 1991. Clinical and epidemiological aspects of feline immunodeficiency virus and *Toxoplasma gondii* coinfections in cats. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 27:211-220.
109. ORJUELA, J.; M. DUQUE; A. GIRALDO, et al. 1998. Toxoplasmosis congénita Avances en Diagnóstico y Tratamiento. Publicación de Laboratorios Rhone-Poulec.

110. OVALLE, F.; A. GARCIA; J. THIBAUTH; M. LORCA. 2000. Frecuencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en gatos de la ciudad de Valdivia, Chile. Bol.chil.parasitol. 55(3-4)94-99.
111. PARMLEY, S.F.; F.D. GOEBEL; J.S. REMINGTON. 1992. Detection of *Toxoplasma gondii* in cerebrospinal fluid from AIDS patients by polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. 30:3000-3002.
112. PATTON, S.; A.M. LEGENDRE; M.D. MC GAVIN; D. PELLETIER. 1991. Concurrent infection with *Toxoplasma gondii* and feline leukemia virus. J. Vet. Intern. Med. 5:199-201.
113. PITA, L.F.; H.V. BARBOSA, C.H.A. RIBEIRO; H. SEAKI. 1999. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle, and water buffaloes in Bahia state, Brazil. Veterinary Parasitology 82(4):273-276.
114. PIZZI, H. 1997. Toxoplasmosis. p. 84. Rhone Poulenc Rorer. Buenos Aires – Argentina.
115. REMINGTON, J.S.; R. MACLEOD; G. DESMONTS. 1994. Toxoplasmosis in: Remington, J.S, Klein JO (eds) Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 4<sup>th</sup> ed. p. 140-267. Philadelphia, w. Saunders.
116. RICCI, S. R.; M. KURIBAYASHI; V. DE SOUZA, J. Y. HABU; E.H. BIRGE. 1999. *Toxoplasma gondii* infection in brazilian domestic outpatient cat. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.41 (4) 221-224.
117. ROJAS, M. 1990. Parasitismo de los Rumiantes Domésticos. Terapia, Prevención y modelos para su aprendizaje.p. 326-34 Editorial Majjosa. Lima. Perú.
118. ROJAS, M;l. LOBATO; M. MOLTALVO. 1989. Prevalencia de *Toxoplasma gondii* en Camélidos sudamericanos. Resm. 12<sup>a</sup> Reunión Científica Anu Asoc Peruana Prod Anim. Lima – Perú p. 67.
119. SAFFER, L. D.; O. MERCAREAU-PUIJALON; J. F. DUBREMATZ; J. D. SCHWARTZMAN. 1992. Localization of a *Toxoplasma gondii* rhoptry protein by immunoelectron microscopy during and after host cell penetration. J. Protozool. 39:526-530.
120. SAMAMÉ, H.; E. LÓPEZ; J. REIF. 1983. Toxoplasmosis en ovinos de la sierra central del Perú. Res. Pro. Inv. UNMSM; Lima, Perú. Vol. 3:52.



121. SÁNCHEZ-PÉREZ, M. 1998. Inmunología Aplicada y Técnicas Inmunológicas. p. 57-73. Ed. Síntesis. S.A. Madrid-España.
122. SATO, K.; I. IWAMOTO; K. YOSHIKI. 1993. Experimental toxoplasmosis in pregnant cats. J. Vet. Med. Sci. 55:1005-1009.
123. SHEFFIELD, H.G.; M.L. MELTON. 1968. The fine structure and reproduction of *Toxoplasma gondii*. J. Parasitol 54:209-226.
124. SHU-YI, Z.; W. MEI-XIONG, Z. ZHONG-YONG; Y. JIAN-YI; S. XIN-QUAN. 2000. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in the sera of rare wildlife in the Shanghai Zoological Garden, Peoples Republic of China. Parasitology internacional 49(2) 171-174.
125. SIBLEY, L. D. 1995. Invasion of vertebrate cells by *Toxoplasma gondii*. Trends cell Biol. 51:129-132.
126. SIMS, T. A.; J. HAY; I. C. TALBOT. 1988. Host-parasite relationship in the brains of mice with congenital toxoplasmosis. J. Pathol. 156:255-261.
127. SOULSBY, E.J.L. 1987. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos. 7ma edición. Nueva Editorial Interamericana. México. D. C. pp 681-83.
128. SPEER, C. A.; J.P. DUBEY; J.A. BLIXT; K. PROKOP. 1997. Time lapse video microscopy and ultrastructure of penetrating sporozoites, types 1 and 2 parasitophorous vacuoles, and the transformation of sporozoites to tachyzoites of the VEG strain of *Toxoplasma gondii*. J. Parasitol. 83:565-574.
129. STAHL, W.; H. MATSUBAYSHI; S. AKAO. 1966. Experimental toxoplasmosis: effects of suppression of the immune response of mice by cortisone and splenectomy. Keio. J. Med. 15;1-12.
130. SUMAR, J.; T. HUANCA. 1988. Glosario de términos utilizados en crianza de alpacas y llamas. IVITA: CICCOS, Bol Técnico(5):44.
131. SUMYUEN, M. H.; Y.J. GARIN; F. DEROUIN. 1996. Effect of immunosuppressive drug regimens on acute and chronic murine toxoplasmosis. Parasitol. Res. 82:681-686.
132. SUZUKI, Y.; F.K. CONLEY; J.S. REMINGTON. 1989. Importance of endogenous IFN-gamma for prevention of toxoplasmic encephalitis in mice. J. Immunol 143:2045-2050.

133. SUZUKI, Y.; K. JOH. 1994. Effect of the strain of *Toxoplasma gondii* on the development of toxoplasmic encephalitis in mice treated with antibody to interferon-gamma. Parasitol. Res. 80:125-130.
134. SUZUKI, Y.; M.A. ORELLANA, R.D. SCHREIBER; J.S. REMINGTON. 1988. Interferon: the major mediator of resistance against *Toxoplasma gondii*. Science. 240:516-518.
135. TEJADA, A.; G. BALVIN. 1989. Situación actual del estudio de toxoplasmosis en el Perú. Anales del Seminario Nacional de Zoonosis y Enfermedades de Transmisión Alimentaria. Lima. Perú. p. 107-121 .
136. TENTER, A. M.; A. R. HECKEROTH; L. M. WEISS. 2000. *Toxoplasma gondii*: From animals to humans. Int. J. Parasitol. 30 (12-13): 1217-1258.
137. TEUTSCH, S.M.; D.D. JURANEK ; A. SULZER ; J.P. DUBEY ; R.K. SIKES. 1979. Epidemic toxoplasmosis associated with infected cats. The New England Journal of Medicine. 29:695-699.
138. TIZARD, F. 1998. Inmunología Veterinaria, 5ta.Ed. p. 338-45. Mac Graw-Hill Interamericana México D.F-México.
139. TOOMEY, J.M.; M.M. CARLISLE-NOWAK; S.C. BARR, *et al.* 1995. Concurrent toxoplasmosis and feline infectious peritonitis in a cat. J. Am. anim. Hosp. Assoc 31: 425-428.
140. WU, LIHTEH. ; R.A. GARCIA. 2000. Toxoplasmosis from ophthalmology/ infectious disease. Instituto de Cirugia Ocular San José Costa Rica.
141. UGGLA,A.; L. SJÖLAND; J.P. DUBEY. 1987. Immunohistochemical diagnosis of toxoplasmosis in fetuses and fetal membranes of sheep. Am. J. Vet. Res. 48 (3):348-351.
142. VELASCO-CASTREJON, O.; B. SALVATIERRA-IZABAL; J.L. VALDESPINO; A.M. SEDANO-LARA. 1992. Seroepidemiología de la toxoplasmosis en México. Salud Pública. Mex. 34(2):222-229.
143. VIDAL, L. 1990. Prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en cabras de la provincia de Lima. Tesis para optar el título de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, UNMSM. 41 p.
144. VILLAFANI, S.; N. BLADÉS. 1996. Prevalencia serológica de Toxoplasmosis en universitarios de la ciudad de Sucre. Rev. Ins. Med. Sucre. 61(108): 45-50.

145. WERK, R. 1985. I Low does *Toxoplasma gondii* enter host cells. Rev. Infect. Dis. 7:449-457.