



**UNIVERSIDAD CIENTIFICA DEL SUR**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y BIOLÓGICAS**

**“DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EN POLLOS  
EXPENDIDOS EN UN CENTRO DE ACOPIO EN EL DISTRITO DE  
BREÑA”**

Tesis para optar el título de  
**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Gino Paolo Montoya Arauco

**BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**LIMA-PERU**

**2014**

## ABSTRACT

The aim of the study was to determine the presence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in sera of chickens south of Lima in the provinces of Cañete and Chincha, benefited in a storage facility Breña district. To this end, we evaluated sera from 240 broilers subjected to the technique of indirect hemagglutination (IHA). Achieving obtain anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in 100% (240/240) of poultry samples with titres greater than or equal to 1/16. The results of this study show that at some point in their lives chickens raised in the South of Lima had contact with the parasite *Toxoplasma gondii* seroconversion detected reaching the same and constitute a reservoir of infection of *Toxoplasma gondii*.

### ***Key words***

***Toxoplasma gondii, Toxoplasmosis, IHA, chicken***

## RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la presencia de anticuerpos anti- *Toxoplasma gondii* en suero de pollos criados al Sur del Departamento de Lima en las provincias de Cañete y Chincha, beneficiados en un centro de acopio del distrito de Breña. Para tal fin, se evaluaron sueros sanguíneos de 240 pollos de carne, sometidos a la técnica de Hemaglutinación indirecta (HAI). Lográndose obtener anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en el 100 % (240/240) de muestras de pollos, con títulos mayores o iguales a 1/16. Los resultados de este estudio demuestran que durante algún momento de su vida los pollos criados en el Sur de Lima tuvieron contacto con el parásito *Toxoplasma gondii* llegando a detectarse la seroconversión de los mismos y constituir reservorio de infección de *Toxoplasma gondii*.

### ***Palabras claves***

***Toxoplasma gondii, Toxoplasmosis, HAI, pollos de engorde***

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Fig.1</b> Ooquistes de <i>Toxoplasma gondii</i> , sin esporular (izquierda) y esporulados( <i>derecha</i> ).....	4
<b>Fig.2</b> Taquizoitos de <i>Toxoplasma gondii</i> y macrófagos pulmonares de un gato con infección natural.....	5
<b>Fig.3</b> Quiste de <i>Toxoplasma gondii</i> en un cerebro de ratón, obtenida presionando simplemente el tejido cerebral entre porta y el cubre.....	6
<b>Fig.4</b> Ciclo Biológico de <i>Toxoplasma gondii</i> .....	8
<b>Fig. 5</b> Imagen utilizada para la interpretación de la prueba HAI.....	30

## TABLA DE CONTENIDOS

### LISTA DE CUADROS

**Pág.**

CUADRO 1. Detección de anticuerpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> en sueros de pollos en un centro de acopio en Breña criados en Cañete y Chincha mediante la técnica de HAI. Lima, 2013.....	<b>32</b>
---	-----------

## CONTENIDO

LISTA DE CUADROS.....	i
RESUMEN.....	ii
ABSTRACT.....	iii
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	2
2.1 El pollo de engorde.....	2
2.2 Historia del <i>Toxoplama gondii</i> .....	3
2.3 Clasificación taxonómica.....	3
2.4 Estadios de desarrollo.....	4
2.5 Ciclo biológico.....	7
2.6 Epidemiología.....	9
2.7 Patogenia.....	11
2.8 Inmunidad.....	13
2.9 Cuadro clínico.....	14
3.0 Diagnóstico.....	22
3.1 Tratamiento.....	25
3.2 Prevención.....	26
III. MATERIALES Y METODOS.....	28
IV. RESULTADOS.....	32
V. DISCUSION.....	33
VI. CONCLUSIONES.....	37
VII. RECOMENDACIONES.....	38
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	39

## INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria ocasionada por el protozoario intracelular obligado del Phylum Apicomplexa llamado *Toxoplasma gondii*, coccidio intestinal y sistémico con 3 grupos genealógicos I, II, III y diversas cepas atípicas (Weigh y Carding, 2012).

El *Toxoplasma gondii* infecta diversas especies de animales de sangre caliente, incluyendo mamíferos y aves entre ellos la especie *Gallus gallus* además del hombre. De modo que las diversas investigaciones y publicaciones estiman que un tercio de la población humana en el mundo se encuentra seropositiva a *Toxoplasma*. (Dubey, 2004; Munoz *et al.*, 2011; El Deeb, 2012).

En varios de sus hospederos *T. gondii* está asociada con la infección congénita y aborto, su mayor impacto es en el humano ya que puede además causar encefalitis o infecciones sistémicas en los individuos inmunocomprometidos, especialmente con el VIH / SIDA. Se ha sugerido, basándose en estudios serológicos y estudios de comportamiento animal que la infección crónica con *T. gondii* puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de la esquizofrenia u otros trastornos de la conducta en humanos (John *et al.*, 2009).

El pollo de engorde debido a su gran versatilidad en la cocina y a su precio económico, es un alimento muy común en todos los hogares siendo un insumo básico de la cocina peruana. En ese sentido, el consumo *per cápita* anual de pollo por peruano ascendería a 20.8 kg, mientras que solo en Lima sería de 40 Kg al año.

Por lo cual es importante que esta se encuentren libre de agentes infecciosos entre ellos el *Toxoplasma gondii* que puede transmitirse al humano a través del consumo de la carne poco cocida. Lamentablemente en Perú no existen estudios que indiquen la presencia del *Toxoplasma* en el pollo.

Así para la realización del presente estudio se eligió pollos de engorde, con el objetivo de demostrar la presencia de anticuerpos anti- *Toxoplasma gondii* en pollos expendidos en un centro de acopio del distrito de Breña a través de la Prueba de Inhibición de la hemaglutinación indirecta (HIA).

## II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

### 2.1 EL POLLO DE ENGORDE

El pollo es un ave gallinácea de cría, con una vida media entre 45 y 50 días y un peso que oscila entre 1 y 3 kilos. En la actualidad, el pollo se cría de manera intensiva en las granjas comerciales, debido a su gran versatilidad en la cocina y precio económico, es un alimento muy común en todos los hogares peruanos.

Además, entre las bondades del pollo se puede mencionar que esta carne proporciona 15 calorías por cada 100 gramos, proteínas de fácil asimilación, entre 5 y 7 gramos de grasa y una cantidad variable de calcio, hierro, vitaminas A y B, un alimento apto para toda la familia y especialmente indicado en casos de recuperación y convalecencia.

El Perú, de acuerdo a los resultados preliminares del IV Censo Nacional Agropecuario 2012, en el país la población de pollo de engorde ascendió a 86.8 millones de unidades, lo que supone un incremento de 88.2% en relación a la cantidad existente en 1994 (47.6 millones) (INEI, 2012).

Según las zonas productoras de esta aves la costa concentra el 90 % de la producción peruana de pollos y la mayoría de granjas se manejan de forma empresarial con un sistema de producción intensivo seguida muy de lejos por la selva, con el 4.7% y la sierra con el 1.3% de producción de pollos y según la clasificación de los principales departamentos del país al 2012, Lima produce el 55% del total nacional, La Libertad 19 % y Arequipa 9% donde la producción anual del pollo ascendería a unos 625 millones de unidades y unos 52 millones al mes en el país.

En ese sentido se ha determinado que el consumo per cápita anual de pollo del peruano ascendería a 39 kg ,mientras que en Lima sería de 52 kg al año, por la fuerte incursión de los pollo a la brasa. De acuerdo con el INEI, el crecimiento de la crianza de

pollo de engorde estos últimos 18 años fuetal que ahora por cada peruano existen tres pollos de engorde, mientras que en el año 1994 había solo dos pollos por peruano.

Por último, se destaca que el consumo de pollos en el país se encuentra entre los más altos de Latinoamérica, pues en el 2011, el consumo per cápita anual de pollo fue comparable con países como Brasil (47 kg), Argentina (36 kg) y Chile (32 kg) (USDA.2012).

## 2.2 EVOLUCION HISTÓRICA

*Toxoplasma gondii* fue aislado inicialmente por Nicolle y Manceaux (1908) en los tejidos del bazo e hígado de *Ctenodactylus gundi*, un roedor del norte de África, utilizado como modelo experimental en las investigaciones sobre Leishmaniosis.

En el mismo año Splendore en Brasil, informó sobre la identificación de este organismo en los tejidos de un conejo. El género fue nombrado por Nicolle y Manceaux en 1909 como *Toxoplasma* (griego: *toxos* = arco, *plasma* =forma) pero no fue hasta la década de 1960 y 1970 que Jacobs se identificó el parásito como coccidios.

El gato fue identificado como el hospedero definitivo por varios grupos de trabajo de forma independiente, incluyendo el de Frenkel *et al.* (1970) así mismo, este autor y sus colaboradores lograron establecer a los hospederos intermediarios y la verdadera forma de transmisión.

## 2.3 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Luzon *et al.* (1997) la clasificación taxonómica actualmente aceptada es:

Reino: Protista

Sub-Reino: Protozoo

Phylum: Apicomplexa (Levine, 1970).

Clase: Esporozoa (Leuckart, 1879)

Subclase: Coccidia (Leuckart, 1879)

Orden: Eucoccidiida (Eucoccida) (Leger y Dubosq, 1910)

Suborden: Eimeriina (Leger, 1911)

Familia: Sarcocystidae (Poche, 1913).

Subfamilia: Toxoplasmatinae (Biocca, 1956)

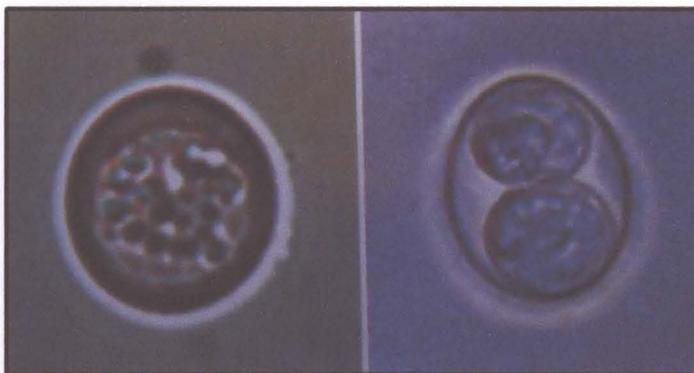
Género: *Toxoplasma* (Nicolle y Manceaux, 1909)

Especie: *Toxoplasma gondii* (Nicolle y Manceaux, 1908, 1909).

## 2.4 ESTADIOS DE DESARROLLO

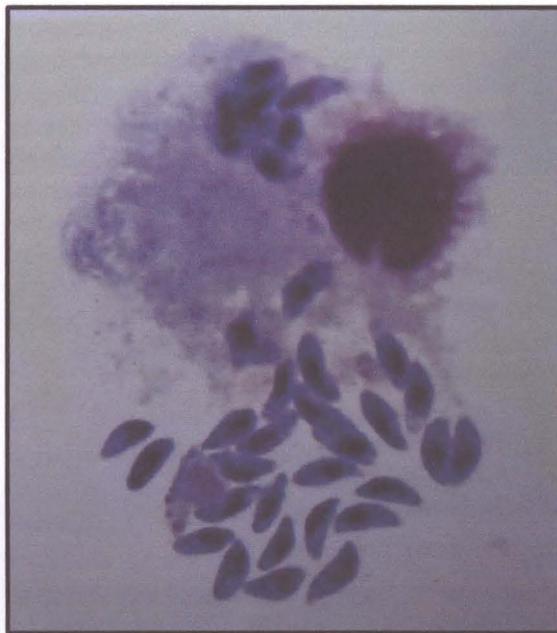
*Toxoplasma gondii* invade la mayoría de las células nucleadas y adopta tres estadios: Los ooquistes, taquizoitos y bradizoitos.

**Ooquistes:** Los ooquistes recién expulsados son ovoides conteniendo en su interior un cigote denominado esporonte o masa germinal rodeado de una pared celular, no tienen capacidad infectante y son muy sensibles a condiciones ambientales adversas. La esporulación puede completarse entre uno y cinco días dependiendo de las condiciones ambientales. Los ooquistes esporulados miden 11-15  $\mu\text{m}$  x 9-11  $\mu\text{m}$  y contiene 2 esporoquistes elipsoidales, cada uno con cuatro esporozoitos (Dubey, 2004).



**Fig.1** Ooquistes de *Toxoplasma gondii*, sin esporular (izquierda) y esporulados (derecha) (Fuente: Bowman, 2011).

**Taquizoítos:** formas replicativas, intracelulares, responsables de la diseminación y de la infección aguda así como de la destrucción tisular ya que es el estadio de multiplicación rápida infectando las células por penetración activa o por fagocitosis. Mide  $3\ \mu\text{m} \times 6\ \mu\text{m}$ , de forma oval, con un extremo aguzado y el otro redondeado. Se reproducen por división binaria (endodiogenia) en vacuolas parasitóforas que forman en células nucleadas (Dubey *et al.*, 1998).



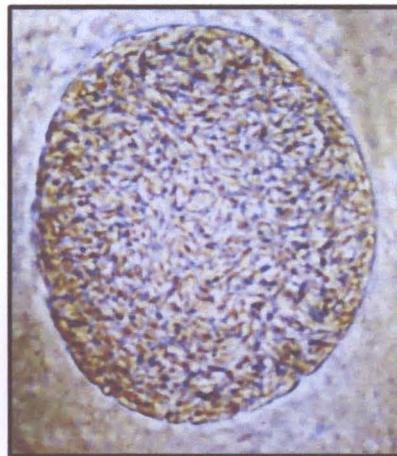
**Fig.2** Taquizoítos de *Toxoplasma gondii* y macrófagos pulmonares de un gato con infección natural. (Fuente: Bowman, 2011).

**Bradizoítos:** (del griego *bradi*=lento) formas quiescentes, contenidas en quistes tisulares, de reproducción lenta y constituyen la fase de resistencia endógena del parásito (forma crónica). Mide  $1.5\ \mu\text{m} \times 7.0\ \mu\text{m}$  y son morfológicamente semejantes a los taquizoítos difiriendo en la posición en el extremo del núcleo. Dan lugar a inmunidad no estéril y en condiciones de inmunocompromiso se reactivan y diseminan como taquizoítos. Mediante estudios de bioluminiscencia se ha demostrado que la conversión de taquizoítos

en bradizoitos puede iniciar, in vivo, de manera muy rápida, hasta una hora post infección (DiCristina *et al.*, 2008).

Los quistes tisulares varían en forma y tamaño. Se ha observado que los quistes jóvenes pueden medir 5  $\mu\text{m}$  de diámetro y contener unos cuantos bradizoitos. Los quistes maduros miden en promedio 70  $\mu\text{m}$  y contienen unos 1000 bradizoitos. Presentan una delgada membrana elástica y pueden persistir en tejidos durante el resto de la vida del hospedero. Se ubican principalmente en órganos muy oxigenados como el cerebro, músculo esquelético y cardíaco (Havelaar, 2010).

Estudios recientes, parasitólogos han revelado la capacidad de bradizoitos individuales para pasar de la célula infectada a una célula no infectada, dejando la antigua intacta. Esta observación puede explicar los informes de difusión durante la infección crónica (Furtado *et al.*, 2012)



**Fig.3** Quiste tisular de *Toxoplasma gondii* en un cerebro de ratón, obtenido presionando simplemente el tejido cerebral entre porta y el cubre.  
(Fuente: Bowman, 2011)

## 2.5 CICLO BIOLÓGICO

El ciclo de *Toxoplasma gondii* es indirecto involucrando a varios tipos de hospederos: los definitivos (HD), que incluyen a los gatos en quienes se desarrolla exclusivamente el ciclo enteroepitelial con seis formas de reproducción sexual, así como dos formas de reproducción asexual; y los hospederos intermediarios (HI) como son diversos mamíferos, aves y reptiles, realizando en ellos solo ciclo extraintestinal ( la reproducción asexual); así como también los hospederos paraténicos (HP) denominados también hospederos de transporte como son las moscas y cucarachas donde no existe ningún tipo de reproducción ni multiplicación de alguna forma parasitaria, además no son imprescindibles para completar el ciclo biológico.

El ciclo inicia cuando el hospedero definitivo ingiere presas en cuyos tejidos se encuentran quistes tisulares conteniendo bradizoitos y pseudoquistes con taquizoitos o alimentos y agua contaminada con ooquistes esporulados.

El contenido de cualquiera de las tres formas mencionadas es liberado a la luz intestinal por las enzimas digestivas del gato, invadiendo y proliferando en los enterocitos intestinales, iniciándose la fase de esquizogonia (multiplicación asexual) reproduciéndose de manera asexual hasta la diferenciación de macrogamontes (femenino) y microgamontes (masculino). En el interior de los microgamontes se originan microgametos y los macrogamontes maduran hasta convertirse en macrogametos.

El microgameto posee un flagelo que le permite desplazarse sobre el epitelio intestinal para fecundar al macrogameto lo que da origen a un cigoto. Este cigoto se transforma en un ooquiste inmaduro denominado ooquiste no esporulado que no es infectivo produciendo la rotura del enterocito liberado al medio ambiente en las heces, contaminando agua y suelo.

Después de la infección, un gato puede eliminar más de 100 millones de ooquistes en el medio ambiente (Petersen, 2008).

El período prepatente varía de acuerdo al estadio parasitario ingerido, en el caso de los ooquistes es alrededor de 20 días, taquizoitos 19 días y bradizoitos de 3 a 10 días (Hill y Dubey, 2002).



## 2.6 EPIDEMIOLOGIA

El agente etiológico de la toxoplasmosis es de carácter cosmopolita ya que se ha demostrado en todas las regiones geográficas del mundo tanto en poblaciones humanas como en más de 300 especies de mamíferos domésticos y silvestres, en aves se mencionan alrededor de 30 especies de aves de corral y silvestres (Triolo *et al.*, 2006).

### 2.6.1 HOSPEDEROS, PARÁSITO Y AMBIENTE

Los gatos y felinos silvestres son los hospederos definitivos por tanto únicos eliminadores de ooquistes capaces de arrojarlos en las heces durante 3 a 5 días después de la primera infección. En el medio ambiente esporulan 1 a 5 días en condiciones adecuadas de temperatura, humedad y oxígeno para ser infectivos (Dabritz, 2008). La eliminación de ooquistes en promedio es de 8 días hasta inclusive 3 semanas (Dubey, 2004), además pueden persistir hasta 18 meses en el medio ambiente así como 54 meses en agua fría (Jones y Dubey, 2010) siendo resistente a los desinfectantes pero mueren con el calor a una temperatura de 67 °C (Dubey *et al.*, 1970).

Los mamíferos y las aves son los hospederos intermediarios, donde el parásito realiza la reproducción asexual; por tanto estos desarrollarán quistes tisulares conteniendo bradizoitos comportándose como portadores latentes. El hombre es un hospedero accidental donde generalmente la enfermedad es asintomática, siendo grave en mujeres embarazadas de primoinfección produciendo aborto y malformaciones congénitas.

La cochinilla, lombriz de tierra, cucarachas y moscas caseras son los hospederos paraténicos o denominados también hospederos de transporte pueden contener ooquistes y dispersarlos en los alimentos, agua y suelo (Tenter *et al.*, 2000).

Cepas de *T. gondii* son muy diversas, pero solo unos pocos linajes (Tipo I, II y III) se encuentran ampliamente distribuidas. En el modelo ratón tipo I son cepas altamente virulentas, mientras que la cepa de Tipo II presenta una virulencia intermedia ( $DL_{50}=10^3-10^4$  taquizoitos) y la cepa III no es virulenta ( $DL_{50}>10^5$ ) (Weigh y Carding, 2012).

El papel del gato como eje principal de la toxoplasmosis no es discutible debido a que está demostrado que es el gato el responsable, así el ooquiste puede tener una dispersión de 50 o 100 km (Opsteegh, 2012). Por otro lado el riesgo con respecto a contraer esta enfermedad de un gato es casi menor, así basándose en estudios como la presencia de ooquistes esporulados en el pelo del gato, demostrando que aún debido a los hábitos de limpiarse continuamente no se ha evidenciado nada, además en los estudios en embarazadas, personas con VIH, donde no se encontró diferencia estadísticamente significativas entre la seropositividad y tener un gato, incluso a los responsables de limpiar la caja de arena (Hofhuis *et al.*, 2010).

Además, también se ha demostrado a la enfermedad como ocupacional dado que se ha observado la presencia de anticuerpos en veterinarios, auxiliares, proteccionistas, ya que estos tienen contacto con animales enfermos resultando que los porcentajes son iguales con personas que nunca tuvieron contacto con gatos, con ello se demuestra que es otra la vía de infección (Tenter *et al.*, 2000).

## 2.6.2 FORMAS DE TRANSMISIÓN

No todas las posibles vías de infección son epidemiológicamente importantes, y las fuentes de infección pueden variar enormemente entre los diferentes grupos étnicos y zonas geográficas.

La infección por toxoplasma puede ser transmitida por la ingestión de ooquistes en el medio ambiente a partir de las heces de gato, que pueden contaminar el agua, el suelo y los vegetales o también por quistes en los tejidos viables presentes en la carne cruda o mal cocida de hospederos intermediarios, tal que quistes tisulares de *T. gondii* contenida en la carne de los animales son una importante fuente de infección para los seres humanos (Havelaar, 2009).

Los quistes tisulares pueden desarrollarse tan pronto como 6-7 días después de la infección de los hospederos intermediarios con ooquistes o quistes.

Los ooquistes son altamente infecciosos para los herbívoros y los bradizoitos para los gatos. Las infecciones causadas por la ingestión de ooquistes se consideran más graves

clínicamente en hospederos intermediarios de los relacionados con la ingestión de quistes tisulares (Hill y Dubey, 2002).

Por lo tanto, un factor que contribuye a la amplia distribución de *T. gondii* en todos los continentes consiste en la capacidad de adaptación y el desarrollo exitoso de las diferentes vías de transmisión, exhibidos por este protozoo como el carnivorismo que contribuye a la persistencia del protozoo en la naturaleza, incluso en ausencia del ciclo sexual felino (Opsteegh, 2011).

A diferencia de los taquizoitos que carecen de glucógeno son sensibles en la digestión por la pepsina por tanto, la transmisión por alimentos de *T. gondii* a través del estadio de taquizoíto probablemente no es importante epidemiológicamente y se produce con poca frecuencia (Tenter, 2000). Otras posibles vías de transmisión, incluyen a los taquizoitos en espermatozoides y la leche no pasteurizada, pero se cree que son escasas fuentes de infección.

Asimismo, existen pocos casos de infección humana después de la transfusión de sangre o trasplante de órganos donantes infectados con *T. gondii* (VanWomer *et al.*, 2012).

## 2.7 PATOGENIA

Se ha comprobado que el propio parásito toma contacto con la membrana plasmática celular y libera enzimas proteolíticas que disuelven dicha membrana, favoreciéndose así, la entrada del parásito apropiándose de algunas funciones de la célula (Tenter, 2000).

Los antígenos de superficie principalmente proteínas de las roptrias, micronemas y gránulos densos contribuyen de manera importante en el reconocimiento de células blanco, invasión activa, formación de la vacuola parasitófora y reproducción, con la lisis final de la célula.

Los organismos se transportan por los ganglios linfáticos y el sistema portal con la posterior invasión de varios órganos y tejidos. En infecciones importantes, la multiplicación de los taquizoitos puede producir áreas de necrosis en órganos vitales tales como miocardio, pulmón, hígado y cerebro; durante esta fase el hospedador puede desarrollar

pirexia y linfadenopatía, esto dependerá del número de taquizoitos que proliferen en la célula. Los parásitos extracelulares son lisados por la acción de los anticuerpos y el complemento.

La persistencia del parásito en el organismo después de la infección primaria, se atribuye en gran medida a los mecanismos que previenen la apoptosis.

Según se incremente la respuesta inmunitaria, el parásito logra enquistarse en los tejidos (quistes tisulares) correspondiendo ésta a la fase crónica o de curso asintomática y no presentan reacción inflamatoria. En la defensa contra el parásito intervienen mecanismos inespecíficos como la barrera ciática, la fagocitosis y los mecanismos relacionados con la inflamación.

Aún, no se comprende por completo porque 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 del desarrollo del parásito ingerido (Dubey y Lappin, 2000).

En las hembras gestantes, los taquizoitos pueden llegar hasta la placenta y parasitar los septos carunculares de los placentomas, las células trofoblásticas adyacentes y las vellosidades fetales, provocando focos de necrosis evitando una adecuada oxigenación al feto causando lesiones irreversibles e incluso la muerte.

## 2.8 INMUNIDAD

La respuesta humoral frente a *T. gondii* confiere una protección parcial, siendo la respuesta celular la que origina un mayor factor de resistencia en el hospedador.

En la respuesta humoral de la fase aguda se origina un elevado nivel de anticuerpos IgG descendiendo gradualmente hasta llegar a un título estable hacia los dos años.

Las inmunoglobulinas IgM aparecen en la primera semana de la infección y desaparecen en uno o dos meses, aunque en muchos casos se han detectado durante varios meses, incluso años (Frenkel, 1986).

La respuesta mediada por células es el mecanismo principal para el control de la infección. Los neutrófilos, macrófagos y células asesinas naturales (NK) constituyen la principal respuesta del hospedero, mediante la fagocitosis y la toxicidad celular. Durante la respuesta aguda las NK actúan como elementos esenciales en los mecanismos de defensa del hospedador. Después de varios días de infección se desarrollan las células T específicas contra el parásito, esenciales para la protección a largo plazo. Las células TCD4+ parecen actuar de forma sinérgica con las CD8+ para la protección del hospedador (Munoz, 2011).

En la respuesta inmune es reconocido el papel clave desarrollado por las citoquinas y quinasas. Las citoquinas son glicoproteínas producidas por las células del sistema inmunitario que actúan en los procesos de inmunoregulación y defensa del hospedador.

Ciertos estudios realizados en el modelo murino y en líneas celulares humanas han determinado que las citoquinas de tipo 1 (Th1), tales como interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), interleucinas 2 y 12 (IL-2 y IL-12) y factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ), median una respuesta inmunitaria protectora contra la infección por *T. gondii*. El IFN- $\gamma$  actúa de forma sinérgica con el TNF- $\alpha$ , estimulando la emisión de óxido nítrico, que afecta al crecimiento del parásito por la inhibición de la cadena respiratoria mitocondrial que lleva a decrecer la tasa de replicación e induce la diferenciación de taquizoito a bradizoito (Gross *et al.*, 1997). Por otra parte las citoquinas de Tipo 2 (Th2), como la IL10, IL6 e IL14, son necesarias para regular una respuesta Th1 excesiva que puede ser nociva para el hospedador.

El otro mecanismo inmunológico observable en la toxoplasmosis es la hipersensibilidad. Esta reacción puede contribuir de manera significativa con la patogénesis de la enfermedad. Es probable que una reacción de hipersensibilidad de tipo IV contribuya

a la reacción inflamatoria que aparece cuando los quistes del *Toxoplasma* se rompen y liberan bradizoitos que se convertirán en taquizoitos ocasionando daño en el hospedero.

## 2.9 CUADRO CLINCO

### 2.9.1 TOXOPLASMOSIS EN ANIMALES DOMESTICOS

#### 2.9.1.1 Ovinos

La importancia en esta especie doméstica se debe ya que ocasiona infertilidad, mortalidad pre, peri y posparto.

Los corderos con infección congénita muestran un cuadro clínico bastante variable, desde síndromes de aborto, nacidos muertos y mortalidad neonatal (Perry *et al.*, 1979). Algunos nacen muy débiles, con incapacidad de mamar o con signos neurológicos tales como temblores, debilidad muscular, abatimiento e incoordinación motora.

El cuadro clínico será importante solo en la primogestación en ovejas gestantes y en las vacías pasa desapercibida. Las lesiones son más intensas y más graves cuando la infección ocurre el segundo tercio de gestación sin embargo cuando acontece en el quinto mes de gestación los corderos nacen sanos.

Así la prevalencia en Brasil es de 18.75% (45/240) (Pita, 1999) en Serbia es de 84.5% (432/511) (Klun, 2006). En nuestro país estudios indican seroprevalencia de 83.2% y 85% (Contreras y Tejada, 1974; Caldas, 2005).

#### 2.9.1.2 Bovinos

El primer reporte en bovinos fue en Ohio en el año 1953. En terneros, el parásito puede producir cuadros de fiebre, disnea, tos, flujo nasal, inapetencia, dorso hundido, decúbito permanente, depresión, temblores de la cabeza y el cuello, ataxia, irritabilidad y otros síntomas del sistema nervioso central, descubriéndose los microorganismos únicamente en los ganglios linfáticos y sólo durante unas cuantas semanas. En bovinos inmunocompetentes, la infección natural por *T. gondii* parece causar enfermedad clínica o

el aborto (Dubey, 1986). Por tanto, interés por *T. gondii* en el ganado debe principalmente a una perspectiva de salud pública, si el ganado tiene quistes tisulares estos pueden ser una fuente importante de infecciones humanas ya que a menudo se consume carne a término medio (poco cocida). Reportes de prevalencia varían, así en un reporte en Brasil se halló en 1.03% (1 / 109) (Pita, 1999) mientras en Serbia de 611 bovinos se detectó 76.3% de seropositivos mediante la prueba de aglutinación modificada (Klun, 2006) y en Perú se ha detectado una prevalencia del 17% (Tejada y Balbín, 1989).

### 2.9.1.3 Equinos

La infección asintomática es común, los signos clínicos más frecuentes fueron: encefalomiелitis progresiva, ataxia, movimientos en círculo, paresia, ceguera aparente, disfagia, dificultad respiratoria.

Al examen de post mortem, se ha identificado a los parásitos en diferentes órganos describiendo lesiones hemorrágicas focales, acúmulo peri vasculares de linfocitos, macrófagos y mielomalacias multifocales en el cerebro y médula espinal.

Los anticuerpos contra *T. gondii* fueron encontrados en 10 (13.1%) de 76 caballos a través de la técnica de aglutinación modificada en un estudio en Argentina (Dubey, 1999).

### 2.9.1.4 Cerdos

Se han descrito casos por todo el mundo, cursando en la mayoría de los casos en forma subclínica aunque ocasionalmente se presenta brotes en forma clínica, generalmente en animales jóvenes sobre todo recién nacidos.

Los signos clínicos en cerdos incluyen anorexia, fiebre, escalofríos, tos, incoordinación, relajación de los músculos abdominales, diarrea, aborto, parto prematuro, y cerditos débiles que no sobreviven. La forma aguda en los lechones puede cursar con frecuencia con signos pulmonares, que muchas veces está asociado con neumonías subclínica en las piaras. (Dubey, 2009)

Se ha encontrado que la prevalencia de la toxoplasmosis en cerdos varía desde 4 % hasta un 69% en cerdos de los EEUU (Dubey, 1990) con resultados similares en otros

países, así un estudio en Latinoamérica evaluó 396 lechones de 5 meses de Brasil y Perú detectando anticuerpos anti-toxoplasma en Perú de 36% (31/96) y Brasil 9.6% (29/300) (Suarez-Aranda, 2000). Los quistes tisulares de *T. gondii* en la carne de cerdo mueren a

66 °C (Dubey et al., 2005) y son declarados no viables a -12 °C en 3 días (Dubey, 1988).

### 2.9.1.5 Aves

La enfermedad se ha descrito en varias especies de aves domésticas como pollos, patos, palomas y pájaros silvestres mantenidos en cautiverio. Las aves y los roedores son importantes hospederos intermediarios de *Toxoplasma gondii*, sirviendo como fuente de infección para gatos. Así, Dubey en el 2007 señala a las aves, como las gallinas adquieren fácilmente el parásito debido a sus hábitos de alimentación, ya que pican la comida del suelo contaminado con ooquistes del parásito. Así se ha encontrado en Argentina un 65% de seropositividad (19 / 29) (Dubey et al., 2003a) en Chile 55,29% (47 / 85) (Dubey, 2006), Colombia 44,4% (32/ 72) (Dubey et al., 2005).

### 2.9.1.6 Caninos

La toxoplasmosis en perros fue descrito por primera vez por Mello (1910) en Italia. La toxoplasmosis primaria en los perros es rara. La mayoría de los casos agudos se observaron en perros que no fueron vacunados contra el moquillo canino (CDV) (Hill y Dubey, 2013).

La enfermedad más severa ocurre en cachorros sin embargo no se ha encontrado ningún caso documentado de toxoplasmosis congénita en perros. Las manifestaciones clínicas comunes de toxoplasmosis en perros son la neumonía, hepatitis, encefalitis y afecciones neuromusculares como dolor muscular, nistagmo, ataxia, paresia, paraparesia, parálisis y convulsiones (Dubey y Lappin, 2000).

Así la prevalencia en Colombia es de 16.8% (52/309) (Dubey, 2007a), en Brasil 45.1% (129/286) además en este estudio se hallaron los factores de riesgo a la

seroprevalencia siendo estos el ser canino mayor de un año y la convivencia con gatos en el hogar (Azevedo, 2006).

En Perú, un último estudio halló 24%(23/96) de animales con afección neuromuscular que presentaron anticuerpos contra *T. gondii* y además se observó una asociación estadística significativa entre los reactores y la variable afección neuromuscular (Ruiz, 2012).

### 2.9.1.7 Gatos

Los gatos constituyen un punto clave en la epidemiología del parásito al constituirse en los únicos hospedadores de la forma sexual y definitiva por lo que tienen la capacidad eliminar los ooquistes conjuntamente con sus heces.

La toxoplasmosis clínica no es muy frecuente en gatos (Dubey y Carpenter, 1993) sin embargo, factores que promueven alteración en los mecanismos de defensa como la administración de altas dosis de corticoides y la infección por el virus de Inmunodeficiencia Felina (FIV) (Lucas *et al.*, 1998) pueden reactivar la infección latente resultando un cuadro sintomático de toxoplasmosis e inducir una nueva eliminación de ooquistes, aunque no por más tiempo que el normal.

Los signos clínicos reflejan la inflamación del hígado, los pulmones y el SNC. Gatitos afectados pueden tener un abdomen agrandado debido a hepatomegalia y ascitis.

La anorexia, letargo y disnea por neumonía han sido comúnmente reconocidas características de toxoplasmosis postnatal. Otros signos clínicos incluyen fiebre persistente o intermitente, anorexia, pérdida de peso, ictericia debido a la hepatitis o colangiohepatitis, vómitos, diarrea, derrame abdominal, hiperestesia a la palpación muscular, rigidez de la marcha, cojera, dermatitis, pérdida de la visión y déficits neurológicos (Duncan *et al.*, 2000; Dubey *et al.*, 2009a).

Así, en una revisión sobre la prevalencia en gatos se estimó por ejemplo que en Sao Paulo, Brasil los gatos callejeros eran positivos en un 73%(119/163), mientras que los gatos que no tenían acceso al exterior poseían un 18% (44/248). Además en Colombia se detectó

32% (53/170),USA 48% (133/275), Canadá 23%(16/73) y Panamá 46% (110/241) (Dabritz,2008).

### 2.9.1.8 Mamíferos marinos

Las infecciones con *T. gondii* ocurren en diferentes grupos de mamíferos marinos como los cetáceos, pinnípedos y sirenios lo que sugiere la contaminación del medio marino infectándose a través de la ingestión de moluscos (hospederos paraténicos) que filtran los ooquistes esporulados en el mar. Los estudios de seroprevalencia han revelado una amplia distribución de las infecciones por *T. gondii* en los mamíferos marinos silvestres y en cautiverio en varios países de los continentes americano, europeo y asiático (Dubey *et al.*, 2003b; Dubey *et al.*, 2009b; Dubey, 2010 y Dubey *et al.*, 2011).

Así por ejemplo, en un estudio la evidencia serológica de *T. gondii* se determinó en 75 mamíferos marinos en cautiverio de en las regiones geográficas del centro y sur de México mediante la prueba de aglutinación modificada (MAT). Los anticuerpos con títulos igual o mayores a 1/25 fueron encontrados en 55 de 63 delfines nariz de botella del Atlántico (*Tursiops truncatus truncatus*), 3 de 3 delfines nariz de botella (*Tursiops truncatus gillii*), 2 de 4 Leones marinos de California (*Zalophus californianus*) y 2 lobos marinos (*Otaria flavescens*) (Alvarado-Esquivel, 2012).

Las infecciones pueden causar morbilidad y mortalidad en mamíferos marinos, infección en los adultos y de vez en cuando en los recién nacidos (Dubey *et al.*, 2009b; Dubey, 2010).

### 2.9.1.9 Otros animales marinos

Los moluscos como ostras, mejillones y almejas puede albergar *T. gondii* como resultado de filtrar grandes volúmenes de agua al alimentarse. Así un estudio en las costas de São Paulo se evaluó 300 ostras (*Crassostrea rhizophorae*) mediante PCR obteniendo 3.3% (10/300) de positivos (Esmerini, 2010).

## 2.9.2 TOXOPLASMOSIS EN HUMANOS

El espectro clínico de la infección por *T. gondii* en humanos varía desde un estado asintomático a una enfermedad grave. Una minoría de las personas sanas infectadas después de nacer presentan síntomas, que suelen ser leves e incluyen manifestaciones como fiebre, malestar general y linfadenopatía. (Alvarado-Esquivel, 2011)

Sin embargo, en casos raros, los seres humanos que antes estaban sanos han desarrollado enfermedades graves e incluso mortales, incluyendo la afectación pulmonar y multivisceral, posiblemente por la virulencia de la cepa de *T. gondii*. Además, personas sanas infectadas con *T. gondii* pueden desarrollar enfermedad ocular (Holland, 2003; Weigh y Carding, 2012), por lo general la coriorretinitis.

No se tienen datos precisos del periodo de incubación, pero por los brotes de infección estudiados, se supone entre 4 y 21 días, presentando mayor sintomatología en la segunda semana después de la infección (Ho-Yen, 1992).

### 2.9.2.1 TOXOPLASMOSIS CONGÉNITA

Los patólogos Wolf, Cowen y Paige de Nueva York, EE.UU identificaron por primera vez *T. gondii* en un lactante de sexo femenino nacida por cesárea el 23 de mayo de 1938. La niña desarrolló ataques convulsivos a los 3 días de edad y lesiones que se observaron en la mácula de los dos ojos a través de un oftalmoscopio, un mes después murió. Se procedió a la autopsia examinando muestras del cerebro, médula espinal y el ojo derecho para el histopatológico que más tarde confirmó la toxoplasmosis.

La transmisión transplacentaria de *T. gondii* se produce en aproximadamente el 40% de los embarazos en los que está expuesta la madre por primera vez durante el curso de la gestación. En 90% de los casos, la madre será asintomática en el momento de la infección, en los casos sintomáticos, la madre puede experimentar una serie de síntomas de tipo gripal, como fiebre, malestar general y adenopatías cervicales (Kortbeek, 2009).

Las madres infectadas antes de la concepción rara vez transmiten el parásito al feto, excepto en los casos en que se vuelve a activar el parásito debido a la supresión inmune de la madre.

En la mayoría de los casos de toxoplasmosis congénita, el feto está expuesto durante el último trimestre y los síntomas se desarrollan de leve a asintomática. Si el feto está infectado durante el primer trimestre, las manifestaciones clínicas son significativamente más graves y pueden resultar en aborto espontáneo del feto. La infección durante el segundo trimestre también puede resultar en una infección sintomática, pero las manifestaciones clínicas varían desde leve a grave y dependen de factores individuales.

Cuando la madre se infecta por primera vez durante el embarazo, los parásitos invaden las células y presenta parasitemia en la fase de invasión a todos los órganos, incluyendo la placenta y por lo tanto, existe el riesgo de transmisión congénita en el 65% de los fetos cuyas madres tuvieron la infección en el último trimestre. Esta cifra baja a 25% y 17%, cuando la infección fue adquirida en el segundo y primer trimestre (Weis y Dubey, 2009).

### **2.9.2.2 TOXOPLASMOSIS OCULAR**

Coriorretinitis puede ser debido a la enfermedad congénita o adquirida después del nacimiento y puede estar asociada con una infección aguda o reactivación (Montoya y Remington, 1996). El pensamiento actual es que la mayoría de la toxoplasmosis ocular proviene de la enfermedad adquirida pos-natal. Las lesiones tienden a repetirse con pérdida progresiva de la visión con el tiempo, especialmente cuando las lesiones son cerca de las estructuras centrales del ojo (Holland, 2003).

En el Sur de Brasil, un estudio de 1990 basado en la población de 1042 personas revelaron una prevalencia de 17,7% de lesiones en la retina por *Toxoplasma* así, otro estudio llevado en Colombia en 2005, en una universidad estatal donde se seleccionaron estudiantes y personal que elabora con problemas oculares y el 6% de estas personas tenían cicatrices retinianas atribuibles a toxoplasmosis ocular (Furtado, 2012).

### 2.9.2.3 TOXOPLASMOSIS EN PACIENTES INMUNOCOMPROMETIDOS

La toxoplasmosis constituye una grave y frecuente infección oportunista en pacientes inmunodeprimidos bien por la existencia de un defecto en su inmunidad o por distintas causas como pueden ser tratamientos farmacológicos como corticoides, quimioterapia antitumoral (Hakes y Armstrong, 1983; Arnold *et al.*, 1997), agentes inmunosupresores, receptores de transplantes de órganos (Peacock *et al.* 1995; Brinkman *et al.*, 1998), transfusiones (Ho-Yen 1992b).

### 2.9.2.4 ESQUIZOFRENIA Y ENFERMEDAD DE PARKINSON

La seroprevalencia de *T.gondii* se ha relacionado con enfermedades psiquiátricas especialmente la esquizofrenia así, un metanálisis de 19 estudios publicados desde 1953 hasta 2003 los investigadores han encontrado que individuos con esquizofrenia, en comparación con los grupos controles tienen una mayor prevalencia de anticuerpos frente a *T. gondii* además recientemente en otro estudio en México afirmó la relación Toxoplasma y la esquizofrenia obteniendo un odd ratio de 2,73 (Alvarado-Esquivel, 2011b).

Epidemiológicamente, existe varias similitudes entre la toxoplasmosis y la esquizofrenia, así los fármacos antipsicóticos que son efectivos en la esquizofrenia también inhiben algunos parásitos, incluyendo *T. gondii*. Así mismo, se ha demostrado que induce niveles elevados de dopamina en animales infectados experimentalmente.

Actualmente existen dudas sobre el papel para Toxoplasma en la etiología de esquizofrenia, incluyendo las funciones de variación de la cepa, el momento y la fuente de la infección, y el papel de los genes del hospedador en determinar la susceptibilidad a la enfermedad. El establecimiento de una firme asociación entre Toxoplasma y la etiología de esquizofrenia y trastornos relacionados representa un importante avance en la comprensión de estos trastornos y conduciría a nuevos métodos para su tratamiento y prevención.

También, se ha observado que la tasa de seropositividad para anticuerpos anti-*T. gondii* (IgG) fue mayor en los pacientes con enfermedad de Parkinson que el grupo de

sujetos sanos (grupo control) y los resultados de este estudio muestran que podría haber una posible asociación entre la infección por *T. gondii* y la enfermedad de Parkinson (Miman *et al.*, 2010). Probablemente, el parásito afecta directamente también con la aumento de la producción de dopamina. Este hallazgo prominente puede abrir un nuevo interés para explicar los mecanismos fisiopatológicos de las infecciones por *T. gondii* en pacientes con enfermedades psiquiátricas.

### **3.0 DIAGNÓSTICO**

#### **3.0 PRUEBAS SEROLÓGICAS**

##### **3.0.1 Prueba de Aglutinación de látex**

Detecta anticuerpos de tipo IgG. La reacción debe practicarse con sueros previamente tratados con el 2-mercaptoetanol, que destruye tanto las macroglobulinas inespecíficas (aglutininas naturales) como los anticuerpos IgM antitoxoplasma. Se calculó una sensibilidad de 82.9% y una especificidad de 90.29% para la prueba de aglutinación modificada y una sensibilidad de 45.9% y una especificidad de 96.6% para la prueba de aglutinación látex (Dubey, 1995).

##### **3.0.2 Prueba de fijación del complemento**

Esta prueba es específica pero poco sensible. Se utiliza un antígeno soluble, los títulos de anticuerpos son generalmente bajos y pocas veces se elevan por encima de 1:256. La reacción tiene un valor limitado y se hace positiva más tardíamente que las pruebas anteriores, generalmente aparece de 3 a 4 semanas después de iniciada la infección. Se vuelve negativa precozmente entre 6 y 9 meses. Se pueden encontrar reacciones falsas positivas en algunos casos (Montoya, 2002).

### 3.0.3 Prueba de azul de metileno( Sabin y Feldman)

Mide preferentemente anticuerpos de tipo IgG siendo una prueba serológica altamente específica y sensible. La prueba presenta dificultades que limitan su empleo a un reducido número de laboratorios especializados como es la utilización de taquizoitos vivos implicando elevado costo y peligrosidad que lleva al trabajar con el parásito vivo, además no detecta anticuerpos de *T. gondii* en muchas especies de aves. El fundamento de la técnica se basa en que los anticuerpos y un factor accesorio (probablemente la properdina) modifican los toxoplasmas vivos, de modo que pueden teñirse con el azul de metileno a un pH de 11 (Dubey, 1994).

### 3.0.4 Prueba de hemaglutinación indirecta (HIA)

Esta prueba se fundamenta en la propiedad que tiene los anticuerpos de *Toxoplasma gondii* de producir aglutinación en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del parásito. El empleo de ambos tipos de antígenos incrementa la sensibilidad del método permitiendo la detección precoz de la infección.

### 3.0.5 Reacción de inmunofluorescencia indirecta

Se puede medir tanto IgG como IgM. Cuando se hace para IgM también se llama prueba de Remington, pero la baja sensibilidad para detectar los IgM ha relegado esta técnica y actualmente se utiliza principalmente para detectar los IgG. Esta prueba se comporta en forma similar a la Sabin y Feldman con alta concordancia en cuanto a su sensibilidad y especificidad.

### **3.1 PRUEBAS NO SEROLÓGICAS**

#### **3.1.1 Demostración directa del parásito**

La detección directa del parásito puede ofrecer un criterio adicional a los criterios serológicos y es muy útil en casos particulares en los cuales, debido a la inmadurez, o a la alteración del sistema inmunitario, existe producción insuficiente de anticuerpos. El parásito puede detectarse en diferentes muestras: En caso de toxoplasmosis congénita se detecta en líquido amniótico, sangre fetal, placenta o sangre de cordón umbilical. En la toxoplasmosis de los pacientes inmunosuprimidos se obtiene a partir de sangre, médula ósea, líquido cefalorraquídeo, líquido broncoalveolar o a partir de biopsia cerebral.

#### **3.1.2 Inoculación al ratón**

Puede realizarse tanto en muestras de líquidos biológicos, como líquido amniótico, sangre fetal, así como a partir de tejidos obtenidos por biopsia después de la digestión con tripsina. Los resultados se conocen alrededor de 30 a 45 días. A las cuatro semanas se realizan pruebas serológicas al ratón utilizando diferentes técnicas como la aglutinación directa, la IFI o la ELISA. A las 6 semanas se buscan los quistes intracerebrales (taquizoitos o bradizoitos de *Toxoplasma*) sacrificando el ratón.

#### **3.1.3 Cultivos celulares**

El cultivo celular es una técnica delicada y sensible a contaminaciones, pero evidencia a los parásitos más rápidamente que la anterior a partir de diferentes muestras: Líquido amniótico, sangre fetal, sangre de la madre, biopsias, lavado bronco alveolar, etc. Las células más utilizadas son los fibroblastos embrionarios humanos adherentes (tipo MRC 5) o la línea celular proveniente de leucemia monocítica humana no adherente (THP1).

### 3.1.4 Reacción de cadena de la polimerasa (PCR)

La técnica ha sido adaptada al diagnóstico de la toxoplasmosis, utilizando como blancos de amplificación genes únicos (P30) o repetidos como el gen B1, la secuencia TGR1E o el ADNr 18S del ácido desoxirribonucleico de *Toxoplasma gondii*. Una de las grandes ventajas de la reacción de la PCR es su alta sensibilidad, lo que permite la detección a partir de un solo parásito que equivale a 0,05-0,2 gramos de ácido desoxirribonucleico. Esta gran capacidad de detección crea la necesidad de utilizar estrictos protocolos para impedir resultados falsos positivos.

## 4.0 TRATAMIENTO

La mayoría de pacientes inmunocompetentes con toxoplasmosis primaria no requieren de tratamiento, a menos de que exista compromiso visceral o manifestaciones clínicas persistentes. El objetivo de iniciar el tratamiento es detener la replicación del parásito y evitar un mayor daño a los órganos afectados. En la actualidad, la Organización Mundial de la Salud y los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades recomiendan fármacos como la pirimetamina, sulfadiazina y leucovorina para la toxoplasmosis congénita (Rorman *et al.*, 2006), sin embargo debe tenerse en cuenta que los fármacos existentes destruyen los taquizoitos y no los bradizoitos que se encuentran en los quistes tisulares.

Estudios experimentales recientes en modelo murino han demostrado tener una mayor eficacia la asociación de fluconazol, sulfadiazina y piritamina en el tratamiento de la toxoplasmosis (Martins-Duarte, 2013).

Tanto pirimetamina y sulfadiazina actúan inhibiendo la síntesis de ácido fólico en *T. gondii* mediante el uso de diferentes mecanismos de acción, que se complementan entre sí para crear un efecto combinado. A pesar de que se han demostrado ser eficaces, no están exentas de efectos adversos graves y no deben prescribirse sin la confirmación del diagnóstico de la toxoplasmosis. Como se dijo anteriormente, la pirimetamina disminuye la síntesis de ácido fólico tanto en *T. gondii* y en su hospedero humano por lo tanto un

considerable efecto adverso de este régimen de tratamiento es la supresión de médula ósea. La supresión de la médula ósea produce neutropenia, anemia y trombocitopenia. Este efecto adverso puede evitarse con la administración simultánea de ácido fólico durante el tratamiento (Soheilian *et al.*, 2005). Por otro lado la Leucovorina, un derivado del ácido fólico, también se puede utilizar para combatir la mielosupresión y se administra conjuntamente con pirimetamina y sulfadiazina. A pesar de estas medidas preventivas, seguimiento semanal de los recuentos de células y plaquetas se debe realizarse para evaluar el nivel de supresión de la médula y ajustar estos medicamentos cuando sea necesario.

En el caso de los gatos y caninos con toxoplasmosis clínica deben ser tratados con clorhidrato de clindamicina por vía oral y con comida. La dosis inicial es de 25 mg/Kg dos veces al día, e incrementar la dosis hasta 50 mg/Kg dos veces al día. Los gatos deben ser tratados al menos durante 2 semanas. También pueden ser tratados con 12.5-25mg/kg de fosfato de clindamicina por vía intramuscular dos veces al día, con 0.25-0.5mg/kg de pirimetamina junto con 30mg/Kg de sulfonamidas dos veces al día oral, todo ello durante 4 semanas (Bowman, 2011).

## 5.0 PREVENCIÓN

En Salud pública las recomendaciones básicas en la prevención de la toxoplasmosis son:

- Lavarse las manos con agua tibia y jabón después de manipular los alimentos crudos.
- Lavar frutas, verduras y utensilios de cocina después de tener contacto con carne cruda y mariscos.
- No administrar carnes crudas o mal cocidas a los gatos, solo con alimentos secos, enlatados o bien cocidos.
- Limpiar diariamente la caja de arena de los gatos puesto que los ooquistes necesitan entre 1 y 5 días expuestos al aire en condiciones ambientales adecuadas.

- La arena del gato debe ser cambiada y la bandeja higienizada con agua caliente preferiblemente por otra persona que no sea la mujer embarazada. Si esto no fuera posible se ha de utilizar guantes al hacerlo.
- Utilizar guantes al trabajar en el jardín o llevar a cabo tareas a la intemperie que consistan en manipular tierra. Los gatos, cuyas heces puedan contener ooquistes del parásito, suelen contaminar los jardines y areneros como caja sanitaria.
- Mantener el gato en casa, restringiendo las posibilidades de cazar ratones o pájaros en el exterior.
- Controlar insectos como las cucarachas, moscas, etc. porque pueden diseminar el parásito.
- Educación sanitaria en humanos para no consumir carne cruda ni poco cocida, los quistes tisulares se destruyen a los 67 ° C (Dubey *et al.*, 2004) o por congelación a -13 ° C (Dubey, 1974; Kotula *et al.*, 1991)
- Las personas deben evitar el consumo de agua sin hervir de lagunas y ríos.
- Antes de la gestación es conveniente que la mujer se realice pruebas diagnósticas.

En los animales:

- Controlar y reducir la presencia de cucarachas y moscas en áreas de almacenamiento de alimento ya que estas son diseminadoras del ooquiste.
- Mantener recubierto el alimento para evitar su contaminación.
- Evitar la crianza de gatos con animales de producción.
- Controlar la proliferación de roedores ya que son hospederos intermediarios del parásito.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 LUGAR DE ESTUDIO

La toma de muestra se realizó en el mes de setiembre del 2010 en un centro de acopio de pollos criados al sur de Lima en las provincias de Cañete y Chincha, y beneficiados en el distrito de Breña en el departamento de Lima. Las aves eran pollos de engorde Cobb de 7 semanas de edad.

El estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Patología-Parasitología de la Universidad Científica del Sur ubicada en el distrito de Villa el Salvador en la sección de Parasitología Veterinaria del laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos ubicada en el distrito de San Borja, departamento de Lima.

#### 3.2 MÉTODOS

##### 3.2.1 TAMAÑO MUESTRAL

El número de muestras se calculó haciendo uso de la fórmula de tamaño muestral para muestras infinitas (Daniel ,1996).

$$n = \frac{Z^2 p \cdot q}{E^2}$$

Dónde:

n: Tamaño de la muestra

Z: 1.96 para el 95% de nivel de confianza

p: frecuencia esperada (50% porque no existen estudios previos)

q: 1-p

E: error (5%)

Entonces:

El total de población fue de 390 pollos llegando a muestrear el mismo número obtenido en la fórmula.

Para el presente trabajo de los 390 sueros obtenidos se descartaron 150 porque presentaron heterofilia hasta la dilución  $\frac{1}{4}$  por tanto el tamaño muestral final fue de 240 sueros de pollos de engorde.

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

Muestras de sangre fueron obtenidas directamente de los pollos al momento del beneficio usando tubos estériles.

Las muestras se colocaron en gradillas con una inclinación de  $45^\circ$ . Posteriormente se separó el suero, siendo almacenados en viales de 1.5 mL obtenidos y conservados en frío hasta su traslado al laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

En el laboratorio, las muestras se conservaron a  $-20\text{ C}^\circ$  hasta la realización de la prueba diagnóstica.

### **3.2.3 TÉCNICA DIAGNOSTICA**

Los títulos de anticuerpos se evaluaron a través de la técnica de Hemaglutinación indirecta (HAI) (Wiener Lab. Toxotest, 2000)

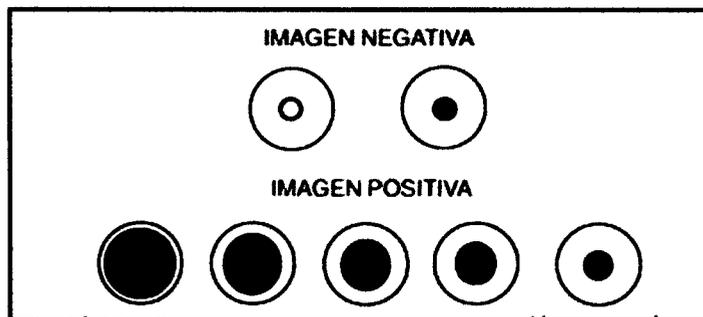
## DESARROLLO DE LA TÉCNICA DE HAI

### Titulación sin 2-Mercaptoetanol

1. Los policubetas tuvieron que ser pasadas con un paño húmedo por la base para eliminar la carga electrostática.
2. Con una micropipeta se colocó 25 microlitros ( $\mu\text{l}$ ) de diluyente de sueros HAI en todos los pocillos de la policubeta.
3. Se tomó 25  $\mu\text{l}$  de cada suero problema además del suero positivo y negativo a ensayar utilizando tips individuales para cada muestra, colocándose en los pocillos de la fila 1.
4. Enseguida se realizaron diluciones a partir de la fila 1 (dilución  $\frac{1}{2}$ ) pasando los microdilutores a la fila 2 (dilución  $\frac{1}{4}$ ) y así sucesivamente hasta la fila 8 (dilución  $\frac{1}{256}$ ).
5. Se colocaron en las filas 1 y 2 (diluciones  $\frac{1}{2}$  y  $\frac{1}{4}$ ) 25  $\mu\text{l}$  de glóbulos rojos no sensibilizados para el control de la heterofilia.
6. En el resto de los pocillos, se agregaron 50  $\mu\text{l}$  del antígeno HAI.
7. Seguido se agitó suavemente la policubeta durante 30 segundos.
8. Dejándose en reposo durante 90 minutos.
9. Luego se realizó 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.



**Fig. 5** Imagen utilizada para la interpretación de la prueba HAI  
(Fuente: Toxotest)

Se tomó como positivos valores  $>1/16$  (punto de corte) de acuerdo al Kit comercial Toxotest-HAI (Wiener Lab, 2000).

Se utilizó el Kit comercial de la prueba HIA para *Toxoplasma gondii*: TOXOTEST HAI (Wiener Lab, 2000). Prueba de Hemoaglutinación indirecta (HAI) para la detección de anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii*.

La prueba de hemaglutinación 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).

La prueba detecta Ig G y Ig M indicando la infección, pero no si el parásito se encuentra en actividad o inactividad, excepto si los títulos son altos. Su principal limitación es no detectar infecciones recientes.

### 3.2.4 ANÁLISIS DE DATOS

Los resultados se colocaron en unas plantillas y luego se expresaron en una tabla de 2X2 en porcentajes teniendo en cuenta la positividad de los sueros a la prueba serológica.

## IV. RESULTADOS

Después de someter los sueros a la prueba de Inhibición de la Hemaglutinación indirecta (HIA) se encontró 240/240 es decir el 100% de las aves muestreadas procedentes de Cañete y Chincha fueron seropositivas según se observa en el cuadro 1.

En relación a los porcentajes de pollos positivos a las diferentes titulaciones serológicas por HAI se observó que el mayor porcentaje de titulación fue 1/16 correspondiendo al 43.75 % y 6.25 % el títulomás alto 1/256 como se muestra también cuadro 1.

**CUADRO 1. Detección de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en sueros de pollos muestreados en un centro de acopio en Breña criados en Cañete y Chincha mediante la técnica de HAI. Lima, 2013**

Títulos	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	Total
Nº de sueros positivos	105	53	41	26	15	240
% de sueros positivos	43.76	22.08	17.08	10.83	6.25	100

Las aves no presentaron alteraciones anatómicas ni signos patológicos. Aparentemente todas las aves se encontraban en buen estado de carne, plumaje y color de piel normal según el código sanitario.

#### IV. DISCUSIÓN

El *Toxoplasma gondii* es un parásito importante y de carácter cosmopolita que infecta a humanos y animales, incluyendo más de 200 especies vertebrados e invertebrados, la misma que incluye a las aves como las gallináceas de todo el mundo.

El presente estudio encontró que la seroconversión de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en pollos del mercado de Breña hallado en el presente estudio fue del 100% clasificándose como alto y confirmando la presencia de este protozooario en esta especie.

En relación con los títulos encontrados se observó que el 43.75 % de los seropositivos presentaban títulos de 1/16 lo que significa que recién se habrían infectado o que su seroconversión IgG sería de pocas semanas y que el 6.25% con títulos de 1/256 podrían deberse a infecciones antiguas y que por ello habrían llegado a estos niveles o que la dosis infectante fue mayor porque en el medio ambiente donde se criaron estaba altamente contaminado con ooquistes esporulados.

Además hay que señalar que los 390 sueros obtenidos en el muestro, 150 se excluyeron porque al someterlos a la prueba de Inhibición de Hemaglutinación Indirecta presentaron heterofilia hasta la dilución 1/4, y tanto la dilución 1/2 y 1/4 se utilizaron glóbulos rojos sin sensibilizar (sin antígeno) como control, de esta manera contar con la seguridad que 240 sueros no presentaran heterofilia, por tanto la reacción positiva sea exclusivamente por los anticuerpos del parásito.

El objetivo del trabajo no fue obtener la prevalencia de la enfermedad en pollos de mercado pero si la frecuencia de pollos seropositivos a *Toxoplasma* y con ello incentivar investigaciones en torno a esta especie tan importante en la gastronomía de todo el mundo y en especial del Perú, donde se llega a consumir hasta 40Kg de pollo por persona en la costa del Perú (INEI, 2012) y debido a su gran consumo, esta carne debe encontrarse libre de agentes infecciosos que puedan ser transmitidos por carnivorismo ya sea por carne cruda o no cocinada adecuadamente, entre ellos el *Toxoplasma*, considerado como uno de los tres patógenos que provocan más de 75% de todas las muertes dentro de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) en los EEUU (Hill y Dubey, 2013).

En ese sentido diversas investigaciones han demostrado que el consumo de carne poco cocida con quistes tisulares con bradizoitos son un factor de riesgo para la infección por *T. gondii* en los seres humanos y otros animales, así como la principal vía de infección donde adquieren los humanos la toxoplasmosis (Signori *et al.*, 2010).

En los humanos la toxoplasmosis es importante porque en el caso de las mujeres embarazadas ocasiona abortos y alteraciones congénitas pero en personas inmunocompetentes no habría sintomatología. Esto es un tema de debate debido que recientemente existe evidencia científica que relaciona al protozoo con la esquizofrenia y otros trastornos psiquiátricos (John *et al.*, 2009), debido que el parásito es neurotrópico, demostrado mediante estudios experimentales en roedores que se enquistaba de manera más eficiente en el cerebro (Hill y Dubey, 2013) pero se necesitan más estudios que apoyen estas afirmaciones.

Los pollos se encontraban clínicamente normales confirmando que las aves de corral no desarrollan signos clínicos, tales como encefalitis, coriorretinitis y neuritis, a pesar de que la cepa de *T. gondii* sea muy patógena, demostrado mediante estudios experimentales (Dubey, 2007).

Estudios en relación a la Toxoplasmosis en el Perú sólo se han limitado a especies como los felinos, caninos, vacunos, ovinos, cerdos y camélidos sudamericanos. Sin embargo, se sabe poco sobre de *T. gondii* en pollos de mercado en el Perú, ya que no existía ningún estudio del país sobre la infección del protozoo en esta especie.

Sin embargo en otros países de Latinoamérica ya se han llevado a cabo estudios de detección de *T. gondii* en pollos como es el caso en Argentina donde se han detectado el 65% de seropositividad (19 / 29) (Dubey *et al.*, 2003a) en Chile 55,29%(47 /85) (Dubey, 2006), Colombia 44,4% (32/ 72) (Dubey *et al.*, 2005) sin embargo estos trabajos realizados cuentan con un tamaño muestral reducido.

Otros estudios en otras partes del mundo con mayor número de animales son: México 6,9%(36/51) (Alvarado-Esquivel *et al.*, 2012) Irlanda con 18% (65/364) (Halova *et al.*, 2011) y China 30,36 % (356/1173) (Zhao *et al.*, 2012).

En general los resultados del presente estudio confirman que estos pollos fueron expuestos a los ooquistes de *T. gondii* en algún momento de sus vidas, además que estos probablemente se encontrarían presentes en los galpones, debido a la presencia de gatos en estos mismos o en los alrededores logrando contaminar el ambiente. Así mismo también no se debería descartar la presencia de hospederos paraténicos (hospedero de transporte) como las moscas o cucarachas que son componentes importantes en la diseminación de los ooquistes debido a que la dispersión de estas formas parasitarias pueden ser de 50 a 100 Km (Dubey, 2008) y por último la fuente de contaminación podría ser por alimento con ooquistes esporulados así como por calzado contaminado por los humanos. Además, podemos afirmar que las medidas de bioseguridad no están planteadas correctamente en los galpones donde provienen los pollos de engorde por el gran porcentaje de seropositividad encontrado y esto se debe a la procedencia de los pollos.

Además, un estudio demuestra que los músculos de las piernas son más parasitadas que los músculos de los pectorales (Dubey et al. 2007) aumentando la probable infección de la carne del pollo poco cocida aunque esto no se puede afirmar sin un estudio de viabilidad del quiste.

Por último, la prueba de aglutinación modificada (MAT) se considera como la prueba serológica más sensible y específica para la detección de anticuerpos contra *T. gondii* en pollos con 82.9% y 90.3% respectivamente (Dubey, 2010) sin embargo, el kit comercial de MAT se hace en Francia y es muy caro para importar al Perú. En el presente estudio se utilizó un kit (Toxotest) prueba de Inhibición de la Hemaglutinación indirecta (HAI) disponible en el país, utilizado para la detección de anticuerpos anti-Toxoplasma en otros animales domésticos por primera vez en el Perú para pollos de engorde con una sensibilidad de 81.6% y una especificidad de 97.1%. No obstante, ya ha sido utilizado en pollos la HAI para la detección de anticuerpos anti-toxoplasma en Brasil donde además, se evaluó el nivel de concordancia del MAT con respecto al HAI a través del índice Kappa obteniendo un índice de 0.614 con una concordancia del 81.6% entre las dos pruebas, concluyendo que el HAI puede utilizarse para detectar anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en los pollos (Beltrame et al., 2012)

## VI. CONCLUSIONES

- La detección de sueros seropositivos a *Toxoplasma gondii* en pollos criados al sur de Cañete y Chincha y beneficiados en un centro de acopio de Lima fue de 100 %.
- El 43.76% de las aves presentaron títulos de 1/16, el 22.08% títulos de 1/32, el 17.08% títulos de 1/64, 10.83% títulos de 1/128 y el 6.25 % títulos 1/256.

## VII. RECOMENDACIONES

- Con esta investigación se recomienda realizar estudios más amplios que correlacionen los resultados obtenidos y la comparación con otras pruebas serológicas, así como la presencia de pollos seropositivos en diferentes mercados y regiones geográficas.
- Adicionalmente, se recomienda realizar estudios en las carnes de animales positivos para conocer la presencia y viabilidad de los quistes tisulares tanto en carne cruda como en poco cocida a través de bioensayos de tejidos de pollos en ratones descrito por Dubey en el 2010 para conocer el riesgo que existe al consumir carne con el parásito.
- Por último, se sugiere el enfrentamiento de sueros de pollos seropositivos a la prueba de PCR, para identificar las cepas presentes en las aves de nuestro país.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvarado-Esquivel C, González-Salazar M, Alvarado-Esquivel D, Ontiveros-Vázquez F, Vitela-Corrales J, Villena I, Dubey JP. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in Chickens in Durango State, México. *Journal of Parasitol.* 2012; 98:431-432.
2. Alvarado-Esquivel C, García-Machacado C, Vitela-Corrales J, Villena I, Dubey JP. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic goats in Durango state, México. *Vet. Parasitol.* 2011; 183:43-49.
3. Alvarado-Esquivel C, Urbina-Álvarez JD, Estrada Martínez S, Torres-Castorena A, Molotla-De-León D, Liesenfeld O, Dubey JP. *Toxoplasma gondii* infection and schizophrenia: A Case Control study In a low *Toxoplasma* seroprevalence Mexican population. 2011b; 60:151-155.
4. Alvarado-Esquivel C, Sánchez-Okrucky R, Dubey JP. Serological evidence of *Toxoplasma gondii* infection in captive marine mammals in Mexico. *Vet. Parasitol.* 2012; 184:321-324.
5. Arnold SJ, Kinney MO, Mc Oormick MS, Dummer S, Scott MA. Disseminated Toxoplasmosis. Unusual Presentations in the Immunocompromised Host. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1997; 121: 869-873.
6. Azevedo S. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil. *Vet. Parasitol.* 2005; 79:51-56.

7. Bowman D. Parasitología para veterinarios Georgis. Elseiver. España. Novena edición. 2011.
8. Brinkman K, Debast S, Sauerwein R, Ooyman F, Hiel J, Raemaekers J. Toxoplasma retinitis/encephalitis 9 months after allogeneic bone marrow transplantation. Bmt.1998; 21: 635-636.
9. Caldas P. 2005. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en una empresa ganadera de la sierra central –Junin.Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional de San Marcos .Lima.77; 2005.
10. Contreras O, Tejada A. Estudio serológico sobre toxoplasmosis en ganado ovino beneficiado en Lima-Perú. Parasitología.1974; Lima-Perú.147-149.
11. Dabritz HA.. Cats and Toxoplasma: Implications for public health. Zoonoses and Public Health. 2008; 57:34-52.
12. Daniel, W. Bioestadística base para análisis de la ciencia de la salud. Quinta edición.p 205-206.Editorial Limusa. México;1996 .
13. Di Cristina M, Marocco D, Galizi R, Proietti C, Spaccapelo R, Crisanti A. Temporal and spatial distribution of *Toxoplasma gondii* differentiation into bradyzoites and tissue cyst formation in vivo. Infect Immun. 2008; 76:3491-501.
14. Dubey JP. Effect of Freezing on The Infectivity of *Toxoplasma* cysts to cats. J. Am. Vet. Med. Assoc.1974; 165:534–536.
15. Dubey JP. A review of toxoplasmosis in cattle. Vet. Parasitol.1986; 22 :177–202

16. Dubey, JP. Status of toxoplasmosis in pigs in the United States. J. Am. Vet. Med. Assoc.1990; 270–276.
17. Dubey JP. Toxoplasmosis. JAVMA. 1994; 205: 1593-1598.
18. Dubey JP. Determination of *Toxoplasma gondii* in organs of naturally Infected Cattle in Costa Rica — comment. Vet. Parasitol; 1995.60:173-174.
19. Dubey JP. Toxoplasmosis a waterborne zoonosis. Review Article. Veterinary Parasitology.2004; 126:57-72.
20. Dubey JP.Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Chile, South America.Vet.Parasitol.2006; 140:76-82.
21. Dubey JP. *Toxoplasma gondii* Infections in Chickens (*Gallus domesticus*): Prevalence, Clinical Disease, Diagnosis and Public Health Significance. Zoonoses and Public Health.2007; 57:60-73.
22. Dubey JP.Toxoplasmosis in Pigs—the Last 20 Years Veterinary Parasitology. 2009; 164: 89-103.
23. Dubey JP. *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): prevalence, clinical disease, diagnosis and public health significance. Zoonoses Public Health.2010; 57: 60–73.
24. Dubey JP, Millar NI, Frenkel KI. The *Toxoplasma gondii* Oocysts from Cat faeces. J. Exp. Med.1970; 132: 636-662.
25. Dubey JP, Carpenter J. Histologically confirmed clinical toxoplasmosis in Cats: 100 cases (1952-1990). J. Am Vet. M. A.1993; 196: 257-259.

26. Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clinical Microbiology Review*. 1998; 11:267-299.
27. Dubey JP, Barbosa HV, Ribeiro CHA, Saeki H. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. *Vet. Parasitol.* 1999;86:59-62.
28. Dubey JP, Lappin MR. 2000. *Toxoplasmosis y Neosporosis: Enfermedades infecciosas en Perros y Gatos*. Green C.C. p. 542-560. 2da edición. Mc Graw Hill Interamericana. México;2000.
29. Dubey JP, Venturini M, Venturini L, Piscopo P, Graham DH, Dahl E, Sreekumar C, Vianna MC, Lehmann T. Isolation and Genotyping of *Toxoplasma gondii* From Free-Ranging Chickens from Argentina. *J. Parasitol.* 2003a; 89:1063-1064.
30. Dubey JP, Zarnke R, Thomas NJ, Wong SK, Van Bonn W, Briggs MD, Davis JW, Ewing R, Mense M, Kwok OC, Romand S, Thulliez P. *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona* and *Sarcocystis canis*-like infections in marine mammals. *Vet. Parasitol.* 2003b; 116: 275–296.
31. Dubey JP, Gomez-Marin JE, Bedoya A, Lora F, Vianna MC, Hill, Kwok OC, Shen SK, Marcet PI, Lehmann L. Genetic and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Colombia, South America. *Vet Parasitol.* 2005; 134:67-72.
32. Dubey JP, Webb N, Sundar G, Velmurugan GV, Bandini LA, Kwok OC. Su Endemic avian toxoplasmosis on a farm in Illinois: Clinical disease, diagnosis, biologic and

- genetic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*), and a goose (*Anser anser*) *Vet Parasitol.* 2007; 148: 207–212.
33. Dubey JP, Jones JL. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int J Parasitol.* 2008; 38:1257-1278.
  34. Dubey JP, Lappin MR, Kwok OC. 2009a. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and concurrent *Bartonella spp* feline immunodeficiency virus, and feline leukemia infections in cats from Grenada, West Indies *J. Parasitol.* 95:1129-1133.
  35. Dubey JP, Mergl J, Gehring E, Sundar N, Velmurugan GV, Kwok OC, Grigg Me, Su C, Martineau D. Toxoplasmosis in captive dolphins (*Tursiops truncatus*) and walrus (*Odobenus rosmarus*) *J. Parasitol.* 2009b; 95: 82–85.
  36. Dubey JP, Velmurugan GV, Rajendran C, Yabsley MJ, Thomas NJ, Beckmen KB, Ruid D, Hart J, Fair PA, Mcfee WE, Shearn-Bochsler V, Kwok OC, Ferreira LR, Choudhary S, Faria EB, Zhou H, Felix TA, Su C. Genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* in wildlife from North America revealed widespread and high prevalence of the fourth clonal type. *Int. J. Parasitol.* 2011; 41: 1139–1147.
  37. El Deeba HK, Salah-Eldinb H, Khodeerc S, Abdu A. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in antenatal population in Menoufia governorate, Egypt. *Acta Tropica.* 2012; 124: 185–191.
  38. Esmerini PO, Gennari SM, Pena HF. Analysis of marine bivalve shellfish from the fish market in Santos city, São Paulo state, Brazil, for *Toxoplasma gondii*. *Vet. Parasitol.* 2010; 170: 8-13.

39. Duncan RB, Lindsay DS, Chickering WR. Acute primary toxoplasmic pancreatitis in a cat *Feline Pract.*2000; 28:6–8.
40. Furtado JM, Winthrop KL, Butler NJ, Smith JR. Ocular Toxoplasmosis I: Parasitology, Epidemiology and Public Health.2012; 41:82-94
41. Gross U, Kempf MC, Seeber F, Luder OGK, Lugert R, and Bohne W. Reactivation of chronic toxoplasmosis: is there a link to strain-specific differences in the parasite? *Behring Inst. Mitt.*1997; 99: 97-106.
42. Hakes TB, Armstrong D. Toxoplasmosis. Problems in diagnosis and treatment *Cancer.*1983; 52:1535-1540.
43. Halova D, Mulcahy G, Rafter P, Turčėkova L, Grant T, De Waal T. *Toxoplasma gondii* in Ireland: Seroprevalence and Novel Molecular Detection Method in Sheep, Pigs, Deer and Chickens. *Zoonoses and Public Health.*2011; 60:168-173.
44. Havelaar AH, Van Rosse F, Bucura C, Toetenel MA, Haagsma JA, Kurowicka D. Prioritizing emerging zoonoses in the Netherlands. *PLOS ONE.* November 2010; 15, 5(11):e13965.
45. Hill D, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: Transmission, diagnosis y prevention. *Clin. Microbiol. Infect.*2002; 8: 634-640.
46. Hill D, Dubey JP. *Toxoplasma gondii* prevalence in farm animals in the United States. *International Journal for Parasitol.*2013; 43:107-113.
47. Holland G. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment: Part I: epidemiology and course of disease. *American Journal of Ophtha.*2003; 136:973-988.
48. Ho-Yen DO. *Clinical features*, Oxford University Press. New York.1992; pp. 57-62.

49. Ho-Yen DO. Immunocompromised patients. In: Human toxoplasmosis. Oxford University Press.1992b;185-201.
50. INEI. IV Censo Nacional Agropecuaria. Oficina Departamental de Estadística e Informática. Lima.2012.
51. John C, Boothroyd D. *Toxoplasma gondii*: 25 years and 25 major advances for the field. Int J Parasitol.2009 39(8):935-946.
52. Jones JL, Dubey, JP. Waterborne toxoplasmosis – Parasitology Experimental 2010;124:10.25
53. Kortbeek LM, Hofhuis A, Nijhuis CDM, Havelaar AH. Congenital toxoplasmosis and DALYs in the Netherlands. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2009; 104(2):370-3.
54. Kotula AW, Dubey JP, Sharar AK, Andrew CD, Shen SK, Lindsay DS. Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. J. Food Protect. 1991; 54, 687–690.
55. Klun I, Djurković-Djaković O, Katić-Radivojević S, Nikolić A. Cross-sectional survey on *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep and pigs in Serbia: Seroprevalence and risk factors. Vet. Parasitol.2006; 135:121-131.
56. Lucas S, Hagiwara M, Reche A, Germano P. Ocorrência de anticorpos antitoxoplasma em gatos infectados naturalmente pelo vírus da imunodeficiência dos felinos. Braz. J. Vet. Rev. Ani. Sci. Sao Paulo 1998; 35 (1): 41-4.
57. Montoya JG. Laboratory Diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and Toxoplasmosis. J Inf. Diseases. 2002; 185(Suppl 1):S73–82.

58. Martins-Duart E, De Souza M, Vommaro RC. *Toxoplasma gondii*: The effect of fluconazole combined with sulfadiazine and pyrimethamine against acute toxoplasmosis murine model. *Experimental Parasitology*. 2013; 133:294-299.
59. Miman O, Kusbeci OY, Aktepe OC, Cetinkaya Z. The probable relation between *Toxoplasma gondii* and Parkinson's disease. *Neuroscience Letters*. 2010; 475:129-131.
60. Montoya JG, Remington JS. Toxoplasmic chorioretinitis in the setting of acute acquired toxoplasmosis. *CID*. 1996; 23: 277-282.
61. Munoz M, Liesenfeld O, Heimesaat M. Immunology of *Toxoplasma gondii*. *Immuno. Reviews*. 2011; 240: 269–285.
62. Peacock JE, Greven CM, Cruz, JM; Hurd, DD. Reactivation toxoplasmic retinochoroiditis in patients undergoing bone marrow transplantation: is there a role for chemoprophylaxis? *BMT*. 1995; 15: 983-987.
63. Petersen E, Vesco G, Villari S, Buffolano W. What Do We Know about Risk Factors for Infection in Humans with *Toxoplasma gondii* and How Can We Prevent Infections? *Zoonoses and Public Health*. 2008; 57:9-17.
64. Opsteegh M, Haveman R, Swart AN, Mensink-Beerepoot ME, Hofhuis A, Langelaar MFM. Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats in The Netherlands. *Preventive Veterinary Medicine*. 2012; 104:317-326.
65. Perry BD, Mogollon J, Galvis A. Serological study of ovine toxoplasmosis in Colombia: Epidemiological study of a field outbreak. *Vet. Rec.* 1974; 104: 231-234.

66. Pita LF, Barbosa HV, Ribeiro CHA, SaekibH. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. 1999; 82:273-276.
67. Rorman E, Zamir CS, Rilkis I, Ben-David H. Congenital toxoplasmosis-prenatal aspects of *Toxoplasma gondii* infection. Reproductive Toxicology. 2006; 21 (4): 458–472.
68. Ruiz N. Frecuencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii* en canes con signos clínicos de afección neuromuscular. Rev. Inv. Vet Perú. 2012; 23: 441-447.
69. Signori K, Regina F, Leal D. Transmission of Toxoplasmosis (*Toxoplasma gondii*) by Foods. Advances in Food and Nutrition Research. 2010; 60:1-20.
70. Soheilian M, Sadoughi M, Ghajarnia M, Dehghan MH, Yazdani S, Behboudi H, Anisian A, Peyman PG. Prospective randomized trial of trimethoprim/sulfamethoxazole versus Pyrimethamine and Sulfadiazine in the Treatment of Ocular Toxoplasmosis. Ophthalmology. 2005; 112:1876-1882.
71. Suarez-Aranda F, Galisteo AJ, Hiramoto RM, Cardoso RPA, Meireles LR, Miguel O, Andrade HF. The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru. Vet. Parasitol. 2000; 91:23-32.
72. USDA. Departamento de Agricultura de Estados Unidos. EEUU. 2012.
73. Tenter A, Heckeroth A, Weiss L. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Inter. J. Parasitol. 2000; 30: 1217-1258.

74. Triolo M, Traviezo L. Seroprevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en gestantes del Municipio de Palavecino, Estado Lara, Venezuela. *Kasmera*. 2006; vol.34 no.1 p. 07-13. ISSN 0075-5222.
  
75. Vanwormer AE, Fritz H, Shapiro K, Mazeta JAK, Conrada P. Molecules to modeling: *Toxoplasma gondii* oocysts at the human–animal–environment interface. *Comp Immuno, Microbi and Infectious Diseases*. 2012.
  
76. Weigh CM, Carding SR. The protozoan pathogen *Toxoplasma gondii* targets the paracellular pathway to invade the intestinal epithelium. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2012;1258: 135–142.
  
77. Weiss LM, Dubey JP. Toxoplasmosis: a history of clinical observations. *Int J Parasitol.* 2009; 39(8):895-901.
  
78. WIENER LAB. TOXOTEST HAI. Prueba de hemoaglutinación indirecta (HAI) para la detección de anticuerpos contra el *Toxoplasma gondii*. 2000.

