

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**INSTITUTO DE MEDICINA PREVENTIVA**

**EVALUACIÓN SEROLÓGICA DEL *Toxoplasma gondii* EN SUINOS MEDIANTE  
LA PRUEBA DE ELISA EN PLANTAS FAENADORAS DE LA IX Y XIV  
REGIONES DE CHILE**

Memoria de Título presentada como parte  
de los requisitos para optar al TÍTULO DE  
MÉDICO VETERINARIO.

**JAVIER ALEJANDRO BALBOA CASTILLO**

**VALDIVIA-CHILE**

**2008**

**PROFESOR PATROCINANTE**

Dr. Rafael Tamayo

Nombre

Firma

**PROFESORES CALIFICADORES**

Dra. Carmen Gallo

Nombre

Firma

Dr. Gerold Sievers

Nombre

Firma

**FECHA DE APROBACIÓN**

29 de diciembre del 2008

# ÍNDICE

| Capítulo                   | Página |
|----------------------------|--------|
| 1. RESUMEN.....            | 1      |
| 2. SUMMARY.....            | 2      |
| 3. INTRODUCCIÓN.....       | 3      |
| 4. MATERIAL Y MÉTODOS..... | 11     |
| 5. RESULTADOS.....         | 15     |
| 6. DISCUSIÓN.....          | 18     |
| 7. REFERENCIAS.....        | 21     |

## 1. RESUMEN

La toxoplasmosis es una de las zoonosis parasitarias de importancia para el hombre, en la cual la carne de cerdo tiene especial relevancia en la transmisión del agente infeccioso. El objetivo fue determinar la prevalencia de *Toxoplasma gondii* y aportar antecedentes epidemiológicos de la enfermedad en cerdos beneficiados en tres plantas faenadoras de carnes: Faenadora de carnes Victoria S.A. (IX región), Frigorífico Imperial Ltda.(IX Región) y Planta faenadora Río Bueno (XIV Región de Chile).

Se determinó la presencia de anticuerpos a *T. gondii* en 340 muestras de sangre. Las muestras se transportaron y analizaron en el Instituto de Medicina Preventiva de la Universidad Austral de Chile, Valdivia. La detección de anticuerpos contra *T. gondii*, se realizó mediante la prueba de ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay). Los datos se analizaron usando el programa GraphPad Prism, usando el test de Chi-cuadrado con un intervalo de confianza del 95% y considerando significativo un  $P \leq 0,05$ . Las variables estudiadas fueron: resultados de la prueba de ELISA, edad, sexo, peso y lugar de faenamiento.

Los resultados señalan que 30/340 (8,8 %) de los sueros presentaron anticuerpos anti *T. gondii*. La distribución de los cerdos según sexo determinó que el 9,9 % (14/141) de los sueros analizados correspondían a machos y el 8,0% (16/199) a hembras ( $P > 0,05$ ). Según edad, en animales menores o igual a 1 año, la prevalencia fue de 8,3 % (26/314) y de 15,4% (4/26) en individuos mayores de 12 meses ( $P > 0,05$ ). En cuanto a la variable peso la mayor prevalencia 14,9 % (7/47), se presentó en individuos mayores o igual a 100 kilos de peso vivo y la menor 7,8 % (23/293) en individuos menores a 100 kg ( $P > 0,05$ ). Con respecto a la variable lugar de faenamiento, fueron los sueros provenientes de la planta Faenadora de Carnes Victoria en los que se obtuvo un mayor porcentaje de reaccionantes positivos al *T. gondii* con un 19,5% ( $P < 0,05$ ).

El estudio hace evidente la presencia del *T. gondii* en los cerdos destinados al consumo, siendo de suma importancia tomar medidas preventivas tendientes a disminuir el riesgo de contraer la enfermedad tanto en animales como en humanos.

Palabras claves: *Toxoplasma gondii*, prevalencia, ELISA, Chile.

## 2. SUMMARY

### **SEROLOGIC EVALUATION OF *TOXOPLASMA GONDII* IN SWINE BY MEANS OF THE TEST OF ELISA IN SLAUGHTERHOUSES FROM THE IX AND XIV REGIONS OF CHILE**

Toxoplasmosis is a parasitic zoonoses of importance for men, where pigs meat has special relevance in the transmission of the infectious agent. The aim of the study was to determine the prevalence of *Toxoplasma gondii* and to contribute with epidemiological data of the disease in pigs slaughtered at three slaughterhouses: Faenadora de carnes Victoria S.A. (IX region), Frigorífico Imperial Ltda. (IX Region) and Río Bueno (XIV Region of Chile).

The presence of antibodies to *T. gondii* was determined in 340 blood samples. The samples were transported and analysed in the Preventive Medicine Institute of the Universidad Austral de Chile, Valdivia. The detection of antibodies against *T. gondii*, was done by applying ELISA assay (Enzyme linked immunosorbent assay). Data was analyzed using the statistical program GraphPad Prism, chi-squared test was used with a confidence interval of 95% and setting the significance level at  $P \leq 0.05$ . The studied variables were: ELISA results, age, sex, weight and slaughterhouse location.

The results indicate that 30/340 (8.8%) of serums presented/displayed antibodies anti *T. gondii*. The distribution of the pigs according to sex determined that 9.9% (14/141) of the serums analyzed corresponded to males and 8.0% (16/199) to females ( $P > 0.05$ ). According to age, animals of 1 year or less had a prevalence of 8.3% (26/314), for animals older than 12 months the prevalence was 15.4% (4/26), ( $P > 0.05$ ). According to live weight the greatest prevalence (14.9%) was found in individuals of 100 kg or more, animal under 100 kg of live weight had a prevalence of 7.8% ( $P > 0.05$ ). When the slaughterhouse location was analysed these serums from Faenadora de carnes Victoria, obtained the highest amount of positive serums (19.5%) against *T. gondii* ( $P < 0.05$ ).

The study puts in evidence the presence of *T. gondii* in pigs destined to human consumption. It is of importance to take preventive measures, to decrease the risk of disease in animals as in humans.

Key words: *Toxoplasma gondii*, Prevalence, ELISA, Chile.

### 3. INTRODUCCIÓN

#### 3.1 ANTECEDENTES

La toxoplasmosis es una zoonosis causada por *Toxoplasma gondii*, un protozooario coccidio intracelular obligado. El estudio de la prevalencia de este parásito en cerdos es de suma importancia por el factor económico por ser causante de abortos, retardo en el crecimiento y mortalidad perinatal en cerdos, como también es de gran interés en salud pública, por ser la carne de cerdo una de las fuentes de infección más importantes en el ser humano por parte de este protozooario (Pereira 2005).

Se estima que el 60% de personas son reaccionantes a esta parasitosis a nivel mundial (Amato Neto y col 1995). La ocurrencia de toxoplasmosis ha estado mayormente ligada a cuadros de carácter subclínico, y el interés de esta parasitosis estaba circunscrita a problemas de mortalidad neonatal y abortos, siendo muy baja la frecuencia de casos clínicos (Frenkel 1971); sin embargo, con el advenimiento del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), esta protozoonosis se ha convertido en motivo de preocupación por parte de las autoridades sanitarias internacionales de salud. Estas instituciones recomiendan actualmente la revisión de los aspectos epidemiológicos, patogenia, diagnóstico y tratamiento de la toxoplasmosis, por haberse constituido en una de las más importantes y frecuentes enfermedades oportunistas asociadas con el SIDA. En este contexto, las especies de animales domésticos de consumo humano han adquirido gran relevancia, dado que la principal forma de transmisión de la toxoplasmosis hacia el hombre, está representada por el consumo de carne infectada insuficientemente cocida (Suárez y col 2004).

#### 3.2 EL AGENTE

La clasificación del *T. gondii* ha sido modificada en numerosas ocasiones. En la actualidad prevalece el criterio: *T. gondii* forma parte del Reino Protozoa, Phylum Apicomplexa, Clase Sporozoea, Sub-clase Coccidia, Orden Eucoccidia, sub-orden Eimeria, familia Sarcosistidae, género *Toxoplasma* (Atias y Thiermann 1994).

Es un parásito intracelular obligatorio, móvil, gram negativo, sin hospedero específico (eurixeno). El parásito tiene forma arqueada, semilunar y carece de flagelos, pese a lo cual tiene autonomía de movimientos de rotación helicoidales, en los que participa toda la célula gracias a las fibrillas dispuestas sobre su superficie. Su tamaño varía según el órgano de donde procedan, entre 2-12 x 1,5-4 micras (Gómez 2002).

### 3.3 CICLO DE VIDA DEL *TOXOPLASMA GONDII*

*T. gondii* presenta un ciclo de multiplicación sexuada o esporogónico en el intestino del gato y de otros felinos salvajes; y un ciclo de multiplicación asexuada o esquizogónico en tejidos de una gran variedad de mamíferos y aves. Los felinos ocupan un rol importante en la epidemiología de la enfermedad, ya que además de ser huéspedes definitivos, al poseer la fase sexual del ciclo, son a su vez huéspedes intermediarios con un ciclo parasitario tisular, que ocurre simultáneamente con la fase enteroepitelial (Dubey y col 1970).

La fase sexual del ciclo tiene lugar en las células epiteliales del intestino delgado del gato, con la producción de ooquistes. Los gatos infectados, liberan un gran número de estos ooquistes por material fecal (Dubey y col 1970), iniciándose el ciclo extraintestinal cuando el hombre u otro huésped intermediario ingieren ooquistes esporulados o carne de animales con quistes que tienen bradizoítos (Frenkel y col 1970). Cuando el músculo o la víscera que se encuentra enquistado es ingerido por un huésped susceptible, se reinicia el ciclo en el huésped intermediario o definitivo. Los gatos se infectan al ingerir carne cruda, aves o ratones con quistes que contienen bradizoítos. Las materias fecales de éste son la principal fuente de infección para muchos mamíferos y aves, siendo el mecanismo de infección más común en los herbívoros la ingesta de pasto o forraje contaminados con ooquistes esporulados (Frenkel y col 1970). Otras formas de transmisión posibles descritas son por inhalación (Teutsch y col 1979), transfusión sanguínea (Frenkel y col 1970); señalándose también el arrastre de material fecal de gatos con ooquistes al alimento del hombre y animales por serpientes o gusanos, e ingesta de leche contaminada (Dubey y col 1970).

### 3.4 EPIDEMIOLOGÍA Y PREVALENCIA

En diversas partes del mundo como en los Estados Unidos de Norteamérica (EEUU), Costa Rica, Argentina y Japón, entre otras, se ha considerado al cerdo, (productos y carne fresca) como fuente de infección de *T. gondii* para el humano; es decir, esta especie es factor de riesgo epidemiológico en la transmisión de esta zoonosis parasitaria. El modo de transmisión es la contaminación del agua o alimentos por parte de felinos con ooquistes infectivos, e ingestión de quistes en carne u otros tejidos derivados de la canal porcina (Weigel y col 1995).

Al respecto, Damriyasa y col (2004) y Hill y Dubey (2002) indican que la manipulación de carne fresca y consumo de carne insuficientemente cocida son factores de riesgo epidemiológico en el ámbito de la salud pública. Anteriormente, Dubey (1995), reportaron que entre el 40-50% de los casos de toxoplasmosis en humanos son provocados por la ingestión de carne fresca, o productos cárnicos que contengan quistes tisulares. En porcinos, la cadena epidemiológica está influenciada por factores demográficos, de producción y biológicos, incidiendo en las altas tasas de prevalencia de *T. gondii* reportadas, de hasta un 90,4 en Brasil (Guimaraes y col 1992); 40% en EEUU (Dubey y Beattie 1988); de 43,8% en Costa Rica (Arias y col 1996); Chile 28,1% a 30,1% (Tamayo y col 1990); mientras Dubey (1995) señalan una prevalencia promedio de 23,9% para cerdos a la edad de beneficio (180 días de edad o 90 kg PV).

## 3.5 TRANSMISIÓN

La transmisión de *T. gondii* para los animales, incluido el gato y el hombre, puede producirse de varias formas:

### 3.5.1 Infección horizontal – por ingesta

La relativa importancia en la epidemiología de las fuentes de infección todavía son oscuros. Por un lado, el consumo de carne cruda o mal cocida se identifica como factor de riesgo principal en varios estudios de casos de infección por *T. gondii* o seropositividad en los seres humanos. Por otra parte, más de 47% de las personas con hábitos estrictamente vegetarianos han demostrado tener anticuerpos para *T. gondii* (Rawal 1959). Sabiendo que los taquizoítos sobreviven por un corto período de tiempo fuera del huésped, se acepta que la infección post-natal se adquiere por la ingestión de una de las dos etapas de la persistencia de *T. gondii*: quiste del tejido contenida en las carnes, y los ooquistes eliminados al medio ambiente por felinos (Tenter y col 2000). La ingesta de tejidos animales infectados que contengan quistes sin cocción adecuada, es la principal fuente de infección primaria en los gatos, debido principalmente a la ingestión de presas o carne cruda (Dubey 1994). Según Dubey y Beattie (1988), la ingesta de alimentos, principalmente hortalizas y verduras, o agua contaminados con los ooquistes provenientes de heces de gatos, y lo que es más importante, la ingestión de tejidos animales infectados que contienen quistes, sin una adecuada cocción son las dos principales fuentes de infección en la transmisión post-natal de *T. gondii* a los seres humanos. En los países industrializados, la fuente más común de transmisión de toxoplasmosis, también parece estar en relación con el consumo de carne cruda que contenga quistes de *T. gondii* (Pereira 2005).

Se estima que la prevalencia de *T. gondii* en las aves es baja y su peligro potencial es pequeño, por lo general debido a que su carne se congela y es bien cocida antes del consumo (Sherding 1998).

Otra forma de infección es a través de la ingestión de ooquistes eliminados en las heces de gatos, después de su esporulación, cuando éstos son conducidos directamente a la boca (común en los niños), o cuando se contaminan el agua o los alimentos. Baratas, moscas y gusanos pueden transportar el agente a los alimentos (Chinchilla y col 1994). A pesar de que los felinos son los únicos huéspedes definitivos del parásito y los ooquistes son importantes en la transmisión de la enfermedad para los seres humanos, no existe una correlación directa entre la incidencia de la toxoplasmosis humana y tenencia de gatos (Pereira 2005).

### 3.5.2 Infección vertical

La infección congénita o de transmisión vertical, es donde el agente en fase de taquizoíto, atraviesa la barrera placentaria para el feto. Esto se produce únicamente en las madres que sufren una infección primaria durante el embarazo (Sherding 1998).

### 3.5.3 Otras vías de infección

Puede existir la infección a través de la piel (o percutánea), a través de carne cruda contaminada, que puede ser el consumo más allá de la fuente de la infección a través de su manipulación, así como cuchillos y otros utensilios, y las áreas donde se preparan los alimentos. Esta forma de infección se produce, sobre todo cuando existe una lesión cutánea, o en las mucosas nasales y los ojos intactos. También hay informes de transmisión por transfusión de sangre, transplante de órganos, accidentes de laboratorio y la ingestión de huevos y taquizoítos en la leche cruda (Pereira 2005).

## 3.6 FACTORES DE RIESGO PARA LA INFECCIÓN

Hay varios factores que tienen un impacto sobre la epidemiología de la infección por *T. gondii*: como el tipo de gestión y producción de los animales; criterios de higiene en los mataderos, procesamiento de los alimentos; densidad de población de especies salvajes, perros o gatos, las condiciones ambientales que tienen influencia en la esporulación de ooquistes (como temperatura, humedad, viento), la ubicación geográfica (sobre todo teniendo en cuenta la latitud), así como los diferentes hábitos alimentarios de las personas (Tenter y col 2000). La presencia de los gatos y el historial de ocurrencia de abortos en propiedades agrícolas, se conocen como factores correlacionados con la toxoplasmosis (Pereira 2005).

Algunos autores consideran la profesión como un factor de riesgo para la infección por *T. gondii* (Pereira 2005). Esto no es confirmado en estudios como el de Araujo y col (2000), quienes no encontraron un mayor riesgo de infección en los estudiantes de Medicina Veterinaria en comparación con la población en general y Behymer y col (1973) quienes tampoco encontraron diferencias significativas entre la seroprevalencia en los Médicos Veterinarios (43,7%) y no Veterinarios (44,0%).

## 3.7 INMUNIDAD

Los taquizoítos de *T. gondii* son buenos antígenos, y aproximadamente dos semanas después de la infección, en huéspedes inmunocompetentes estimulan la respuesta inmune reduciendo su tasa de incremento (Swango y col 1992). El estado de quiste puede permanecer en modo de espera en el hospedador (la fase crónica de la enfermedad) y en los casos de una inmunodepresión por agentes quimioterápicos o de enfermedades como la del moquillo (en perros) y el SIDA (en humanos) se puede reagudizar la enfermedad (Dubey 1987). En individuos inmunocompetentes, *T. gondii* causa una respuesta que generalmente permanece inmune para toda la vida (Pereira 2005). La destrucción del *Toxoplasma*, en forma de taquizoíto, se produce posiblemente por una euglobulina de suero. Según Rey (1991) esta proteína se llama properdina y representa el 0,02% de las proteínas séricas. Puede resistir a la fagocitosis por los macrófagos mecanismo aún no claro, sin embargo, se sabe que impide la fusión de la pared del lisosoma con la vacuola de fagocitosis, y, por tanto, la penetración de las enzimas digestivas en este último. Hay poca información sobre la duración de los anticuerpos contra *T. gondii* en infecciones naturales en los cerdos (Pereira 2005).

### **3.8 RESISTENCIA DE PARASITO**

Los ooquistes en el medio ambiente, son pequeños, flotantes, y pueden resistir meses hasta dos años, resisten la mayoría de los desinfectantes habituales, y pueden sobrevivir, seguir siendo viables, incluso en condiciones adversas del medio ambiente, como las altas temperaturas y la salinidad (Pereira 2005). Además los ooquistes sobreviven mejor en pisos húmedos y cálidos, con temperaturas alrededor de 25°C y suficiente oxígeno, alcanzando su estado infectante en un lapso de uno a tres días, siendo éstos los factores que ayudan a explicar la alta prevalencia de la enfermedad en climas templados y tropicales. Los esporulados sobreviven en el suelo por 18 meses o más, en especial si están cubiertos y lejos de la luz solar directa. Resisten casi todos los desinfectantes, pero mueren con el calor y a una temperatura de 45°C se destruyen; sólo el amoníaco al 10% es efectivo cuando contacta las superficies contaminadas por largos períodos (Dubey y col 1970). El hecho de que los gatos cubren las heces, aumenta la supervivencia de ooquistes (Araujo y col 2000). En la etapa de quiste en el músculo puede sobrevivir en los tejidos durante unos días después de la muerte del huésped, pero se destruye por congelación a -12 ° C durante 24 horas o cocidos a 58 ° C durante 10 min (Hartley y Munday 1974).

### **3.9 TOXOPLASMOSIS HUMANA**

En humanos la infección es muy frecuente, pero la enfermedad clínica no es habitual, en la mayoría de los casos es asintomática o subclínica, y cuando la enfermedad es sintomática muchas veces el diagnóstico no se hace. La intensidad de los síntomas clínicos de infección varía de acuerdo la virulencia de la cepa y la capacidad de respuesta inmune de la persona (Dubey 1990). De vez en cuando, varios síntomas leves se pueden observar y la manifestación clínica más importante es una linfadenopatía (Dubey y Beattie 1988). Los síntomas y signos que pueden encontrarse también son hipertermia, artralgia, mialgia, dolor de cabeza y adenomegalia. Otros signos, menos frecuentes en individuos inmunocompetentes son: hepatomegalia, esplenomegalia, erupción cutánea y coriorretinitis (Bonametti y col 1997).

En la especie humana, la toxoplasmosis representa el mayor riesgo en mujeres embarazadas y pacientes inmunocomprometidos, como el VIH positivos, en tratamiento con esteroides o quimioterapia y transplantados, por lo tanto, recibe una caracterización de infección oportunista (Cesbron y col 1993). En los casos de infecciones oportunistas en los individuos inmunocomprometidos, que representan la principal causa de los síntomas debido a los cuadros neurológicos graves de encefalitis, puede evolucionar a muerte ( Frenkel 1992). En tales personas, y en los niños expuestos durante la vida intrauterina, la infección puede causar daño neurológico y oftálmico. Probablemente existen tres formas de toxoplasmosis ocular: la congénita temprana, la aparición tardía congénita (que es la más común) y la adquirida (Pereira 2005).

### 3.10 TOXOPLASMOSIS EN CERDOS

*T. gondii* causa muerte embrionaria, muerte fetal y momificación o aborto, mortinatos y muerte neonatal en ovejas y cabras y, raramente, en cerdos y otros animales. El aborto inducido por la toxoplasmosis ocurre en hembras de todas las edades, que adquieren la infección durante el embarazo (Dubey 1998).

La infección de suinos tiene importancia, sobretudo por su repercusión en salud pública. Se han realizado estudios en cerdos criados en sistemas extensivos y en granjas industriales. Dubey y col,( 1995) en un estudio realizado en granjas porcinas de Illinois, encontraron que la mayor seroprevalencia se asociaba con el acceso de los gatos a las cerdas. La cría al aire libre no se asociaba con una seroprevalencia mayor (Dubey y col 1995; Weigel y col 1995). La infección en ganado bovino y caballar es menos común que en otros animales para carne y, aunque se han encontrado animales infectados por *T. gondii*, no se han realizado estudios de toxoplasmosis clínica en estas especies animales, permaneciendo la mayoría asintomáticos (Dubey 1998).

En general, la mayoría de las infecciones de los cerdos adultos, en buenas condiciones físicas, transcurren en forma subclínica, o con escasos síntomas no específicos, que escapan al diagnóstico durante la fase aguda. Los portadores, aparentemente sanos, de estas infecciones latentes, albergan quistes en sus tejidos, convirtiéndose en portadores crónicos. El aislamiento de *T. gondii* a partir de diafragma o musculatura de cerdos aparentemente sanos fue logrado por Jacobs y col, (1960) en USA en el 24% de una muestra de 50 cerdos. La prevalencia de la infección por *T. gondii* en cerdos aparentemente sanos se ha establecido de preferencia por estudios serológicos. Esta tasa varía de un lugar a otro, debido a factores epidemiológicos, como serían la crianza, tipo de alimentación, estado sanitario, etc., de los cerdos; así como también, de acuerdo a los métodos utilizados para demostrar la infección. La mayoría de los estudios serológicos practicados en el extranjero indican una prevalencia alta ( Ramsay 1981).

Los mecanismos conocidos hasta el momento, por los cuales este animal se puede infectar son tres: el fecalismo, el carnivorismo y la transmisión congénita. Las infecciones por fecalismo ocurren en los cerdos por ingestión de ooquistes esporulados provenientes de contaminación fecal de gatos que pueden estar contenidos en los alimentos, aguas de bebidas o en el suelo. Las infecciones por carnivorismo en cerdos , se deben al consumo de vísceras y carnes crudas infectadas con quistes de *T. gondii*, así como al canibalismo, por ingestión de roedores con infección aguda o crónica (Ramsay 1981).

### 3.11 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico del *T. gondii* en los animales no es sencillo, debido a que la enfermedad es mayormente subclínica; de allí la importancia de los monitoreos serológicos a nivel de plantas faenadoras para estimar la frecuencia de infección toxoplásmica en cerdos y otras especies productoras de carne para consumo humano, con el fin de evaluar el riesgo de infección a que está expuesta la población (Romero y col 2007).

Entre las pruebas serológicas disponibles para el diagnóstico de toxoplasmosis se tienen las pruebas de fijación de complemento (Nicolaus y Ravelo 1937), Sabin-Feldman, (Sabin y Feldman 1948), Hemoaglutinación (Jacobs y Lunde 1957), Inmunofluorescencia (Goldman 1957) y ELISA (Venkatesan y Wakelin 1993).

La prueba inmunoenzimática ELISA, ha mostrado claras ventajas sobre otras pruebas. Se pueden analizar muchas muestras en forma simultánea con poco equipo sofisticado, comparado con la prueba de inmunofluorescencia, y los resultados obtenidos ofrecen mayor consistencia y son más confiables que las obtenidas con la hemoaglutinación (Waltman y col 1984). Además, la prueba de ELISA tiene alta sensibilidad y especificidad y puede detectar tanto infecciones recientes como latentes de toxoplasmosis, detectando simultáneamente anticuerpos IgM e IgG. Las técnicas de enzimoanálisis (ELISA) son muy utilizadas para la detección de IgG antitoxoplasma. Existen numerosos sistemas de ELISA, algunos de los cuales están comercializados y otros han sido puestos a punto en diversos laboratorios, por lo que es difícil establecer comparación entre los resultados obtenidos. Las principales variaciones se basan en el antígeno utilizado y la enzima conjugada en el método de detección (Corripio 1999).

En la mayoría de las pruebas, tanto propias de los laboratorios como comerciales, el antígeno utilizado es un antígeno poco purificado obtenido de la lisis de taquizoítos de la cepa RH. Otro tipo de antígeno empleado es el compuesto por taquizoítos completos, obtenidos a partir de cultivos celulares libres de suero, adsorbidos a la placa. Actualmente se están utilizando antígenos recombinantes como los H4/GST y H11/GST, con buenos resultados de especificidad y sensibilidad. Las enzimas más empleadas son la peroxidasa y la fosfatasa alcalina, sin diferencias apreciables entre ellas (Corripio 1999).

Una técnica que está siendo considerada de gran interés para la determinación de la fase de infección en la que se encuentra el paciente, es la determinación de la avidéz de IgG. La afinidad funcional o avidéz es la fuerza de enlace entre los puntos de unión del anticuerpo y el antígeno. La técnica consiste en desestabilizar el enlace de hidrógeno entre el antígeno y el anticuerpo, consiguiendo que los anticuerpos de baja avidéz se disocien del antígeno cuando los anticuerpos de alta avidéz permanecen todavía unidos. Se ha demostrado que la fuerza de unión entre el anticuerpo y los epítopes del antígeno incrementan a lo largo de la infección, determinando que los anticuerpos de baja avidéz se originen en un estadio temprano de infección y los de alta avidéz en una fase posterior. Hedman y col (1991) introdujeron la técnica para la detección de avidéz en *T. gondii* utilizando un ELISA cuantitativo, aplicado a una única muestra de suero, usando como eluyente y agente desnaturizante la urea (Hedman y col 1991). Las pruebas de IFI y ELISA adaptadas a la detección de IgM han sido ampliamente utilizadas, pero los falsos positivos originados por reacciones cruzadas llevaron a desarrollar una prueba de ELISA-IgM Doble Sandwich (Hofgertner y col 1997). El ELISA de captura es más sensible que los ELISAs convencionales y el FI. Varía según los métodos usados pero el fundamento se basa en la captura de IgM del suero problema por una antiglobulina anticadena-i.t humana absorbida en la placa de microtitulación y seguida de una segunda etapa en la que el antígeno toxoplásmico es añadido, observándose la reacción antígeno-anticuerpo mediante una reacción enzimática (Wilson y col 1997).

### 3.12 PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO:

Tanto en huéspedes intermediarios como en gatos, el tratamiento es poco práctico. El control debe estar orientado fundamentalmente a prevenir el acceso de gatos y felinos silvestres a carne y vísceras crudas de cualquier especie doméstica o silvestre. Los gatos de preferencia deben ingerir solamente alimentos comerciales no así la carne cruda (Leguía y col 1998). Asimismo extremar las medidas higiénicas, al manipular los animales abortados, especialmente las membranas fetales. Hay evidencias de títulos serológicos elevados en personas que han manipulado materiales de aborto. En humanos se debe evitar el consumo de cualquier tipo de carne insuficientemente cocida, lavarse las manos después de la manipulación de carnes crudas o el contacto con gatos. Antes de la gestación es conveniente que la mujer realice pruebas diagnósticas y durante la gestación debe extremar las medidas preventivas (Spalding y col 1999). Los fármacos disponibles, por lo general impiden la replicación de *T. gondii* y no son por completo efectivos para matar al parásito. La clindamicina es de primera elección para la toxoplasmosis clínica en perros y gatos, por su buena absorción intestinal. En el hombre se utiliza la sulfadiazina con la pirimetamina. Este tratamiento puede producir una depresión tóxica reversible, de la médula ósea, que puede evitarse administrando vitaminas B y ácido fólico (Soulsby 1987).

### 3.13 OBJETIVOS DEL TRABAJO

1-Determinar la prevalencia de *T. gondii* en cerdos faenados en tres plantas faenadoras de carnes: Faenadora de carnes Victoria S.A. (IX región), Frigorífico Imperial (IX Región) y Río Bueno (XIV Región de Chile).

2- Relacionar la prevalencia encontrada con algunas variables epidemiológicas como sexo, edad, peso de canal, matadero de origen.

3- Aportar antecedentes epidemiológicos de la enfermedad en esta zona.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

Durante los meses de febrero a marzo del año 2008 se seleccionó una muestra de la población para estudiar la prevalencia de toxoplasmosis en cerdos de tres mataderos de la zona sur de Chile: Faenadora de carnes Victoria S.A. (IX región), Frigorífico Imperial Ltda.(IX Región) y Planta faenadora Río Bueno (XIV Región de Chile).

### 4.1 MATERIAL

- Lector microplaca ELISA
- Kit Safepath *T. Gondii*, Microwell ELISA. Marca SafePath Laboratories (número de catálogo: TXP-96).
- **Reactivos Test 96 TXP-96:**
  - Microwells con antígenos de *T. gondii*.
  - Enzima: IgG anti –cerdo conjugada con peroxidada (HRP) preservada en buffer.
  - Control positivo: suero de cerdo con el anticuerpo anti *T. gondii*.
  - Control negativo: Suero de cerdo negativo para anti *T. gondii*.
  - Cromóforo: tetrametilbenzidina (TMB).
  - Solución de lavado concentrada 20X.
  - Buffer de dilución.
  - Solución de Stop: ácido fosfórico 1M
- 350 Vacutainer sin anticoagulante
- 350 tubos Eppendorf de 1.5 ml
- 350 pipetas Pasteur desechables de 3ml
- 500 Tips puntas de 0 a 200 µl

## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 Cálculo del tamaño de la muestra.

Para calcular el tamaño de muestra se utilizó la fórmula para estimar una proporción, basada en la distribución normal (Miguel 1982) mostrada a seguir:

$$n = \frac{Z^2 p q}{e^2}, \text{ donde:}$$

n: Tamaño mínimo de muestra.

Z: Nivel de confianza (95%).

p: Proporción de animales afectados (estudios anteriores).

q: Proporción de animales no afectados.

e: Precisión (5%).

$$n = \frac{1,96^2 \times 0,30 \times 0,70}{0,05^2} = 323$$

Para el estudio, el valor P = 0,30 se calculó considerando el último trabajo realizado en la misma zona relacionado con prevalencia de toxoplasmosis suina (Tamayo y col 1990). Según esta fórmula el tamaño mínimo de la muestra es de 323 cerdos. El trabajo se realizó con 340 muestras de sangre de cerdo por la disponibilidad de kits comerciales de ELISA.

### 4.2.2 Tipo de estudio y recolección de las muestras.

Se realizó un estudio de tipo transversal. Se seleccionó una muestra de la población para estudiar la prevalencia de toxoplasmosis en cerdos de tres mataderos de la zona sur de Chile. Entre los meses de febrero a marzo del año 2008 se recolectaron 340 muestras de sangre de cerdo. El muestreo se realizó en el momento del sacrificio de los cerdos, se tomaron como muestra el total de cerdos a faenar durante el día, a excepción de lotes de gran tamaño de características homogéneas y provenientes de un mismo productor en los cuales se tomó como muestra una cantidad representativa de cada lote, siendo éstos escogidos al azar. La

muestra de sangre se recogió en frascos de vidrio que fueron identificados con numeración, sexo, edad, peso estimado, procedencia y lugar de faenamiento del animal.

#### **4.2.3 Análisis de laboratorio**

Las muestras se transportaron y analizaron en el Instituto de Medicina Preventiva de la Universidad Austral de Chile, Valdivia. El suero fue obtenido mediante proceso de centrifugación que fue almacenado a  $-20^{\circ}$  hasta la realización de las pruebas.

La detección de anticuerpos contra *T. gondii*, se realizó mediante la prueba de ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay). Cada muestra de suero se analizó por duplicado y las lecturas de las absorbancias de cada pozo se realizaron en un lector automático de ELISA con filtro entre 450 a 620 nm.

#### **4.2.4 Principio del procedimiento**

Durante la primera incubación, los anticuerpos contra *T. gondii* presentes en la muestra se unen a los antígenos que están inmovilizados en la placa o presentes en solución. La siguiente incubación permite que el complejo IgG anti-cerdo-peroxidasa se una al complejo antígeno-anticuerpo formado previamente. Después de lavar para remover el exceso de reactivos se agrega un cromóforo, que en presencia de peroxidasa da un producto coloreado azul que es detectado espectrofotométricamente en un lector de ELISA.

#### **4.2.5 Protocolo**

Preparación de reactivos:

- Se diluyó el buffer de lavado 20X con agua hasta una concentración 1X.
- Los controles se diluyeron en una proporción 1:10 usando el buffer de dilución.

Preparación de muestras:

- Se removió el suero (en el caso de muestras coaguladas) o plasma de la muestra de sangre. Se congeló la muestra a  $-20^{\circ}\text{C}$ .
- En la placa de ELISA se agregó 100  $\mu\text{l}$  de cada muestra en cada pocillo, se incubó a temperatura ambiente por 10 minutos.
- Se lavó tres veces con la solución de lavado diluida.
- Se agregó 100  $\mu\text{l}$  de enzima, se incubó 10 minutos a temperatura ambiente.
- Se lavó tres veces con la solución de lavado diluida.
- Posteriormente se agregó el cromóforo en cada pocillo.
- Después de 10 minutos de incubación se agregó 100  $\mu\text{l}$  de ácido fosfórico para detener la reacción.
- Se leyó la placa en el lector de ELISA a 450/620 nm.

#### **4.2.6 Interpretación de datos**

Para interpretar los datos arrojados por el lector de ELISA se usó el siguiente criterio:

- **Positivo:** valor de absorbancia mayor o igual a 0,3 OD.
- **Negativo:** valor de absorbancia menor a 0,3 OD.

#### **4.2.7 Análisis estadístico**

Los resultados fueron ordenados en tablas diferenciando positivos de negativos para luego ser analizados en el programa estadístico GraphPad Prism , usando el test de chi-cuadrado con un intervalo de confianza del 95% y considerando significativo un  $P \leq 0,05$ .

La variable principal fue la prevalencia de toxoplasmosis en cerdos dividida en dos categorías: positivo y negativo. Las otras variables estudiadas fueron sexo, edad, peso estimado y lugar de faenamiento del animal. Las variables numéricas se categorizaron para su análisis: la edad fue categorizada en menor o igual a 12 meses y mayor a 12 meses; el peso fue categorizado en menor a 100 kg y mayor o igual a 100 kg. El sexo fue analizado en dos categorías: macho y hembra.

## 5. RESULTADOS

Fueron tomadas un total de 340 muestras en los tres mataderos en estudio; 41 en Victoria, 230 en Imperial y 69 en Río Bueno (Tabla 1). Las proporciones macho/hembra de la muestra en estudio en las plantas faenadoras de Victoria y Frigorífico Imperial presentan una distribución homogénea en cada categoría a diferencia del Frigorífico Río Bueno el cual presenta un mayor porcentaje de hembras con un 74,0%. En lo que respecta al peso, en las tres plantas faenadoras de carnes se obtuvo una media cercana a los 80 kg. La edad también expresada como media, es igual en dos mataderos; Imperial y Río Bueno con nueve meses, siendo inferior en Victoria con una media de 5 meses (Tabla 1).

En relación con la prevalencia de toxoplasmosis encontrada por separado en cada matadero se detectó un 19,5% (8/41) de sueros positivos en el matadero de Victoria, 8,7% (6/69) en el matadero de Río Bueno y un 6,9% (16/230) en el matadero de Nueva Imperial (Tabla 1). Se observaron diferencias estadísticamente significativas en la prevalencia de toxoplasmosis entre los tres mataderos ( $P \leq 0,05$ ). Por separado fue la Planta Faenadora de carnes Victoria la que marcó diferencias significativas comparada con las otras, no así entre Imperial y Río bueno las que no arrojaron diferencias estadísticas significativas entre sí.

**Tabla 1 Características descriptivas de la muestra de cerdos estudiada en tres mataderos de la zona sur de Chile.**

|  | PLANTA FAENADORA                     |                         |                       |
|--|--------------------------------------|-------------------------|-----------------------|
|  | Faenadora de Carnes<br>Victoria S.A. | Frigorífico<br>Imperial | Frigorífico Río Bueno |
| <b>Sueros reaccionantes positivos a <i>T. gondii</i> (%)</b> | 19,5<br>(8/41)                       | 6,9<br>(16/230)         | 8,7<br>(6/69)         |
| <b>Sexo (%)</b>  |                                      |                         |                       |
| Macho  | 57,0                                 | 44,0                    | 26,0                  |
| Hembra   | 43,0                                 | 56,0                    | 74,0                  |
| <b>Media Peso estimado kg</b>                                | 80                                   | 76                      | 77                    |
| <b>Media Edad meses (DS*)</b>                                | 5 (1)                                | 9 (9)                   | 9 (8)                 |

\* Desviación Estándar

En el presente estudio el 8,8% (30/340) del total de cerdos muestreados presentaron anticuerpos anti- *T. gondii*, con un intervalo de confianza de 95% entre 5,6% y 11,9% (Tabla 2).

**Tabla 2 Frecuencia de cerdos seropositivos al *T. gondii* en tres mataderos de la zona sur de Chile, mediante prueba de Elisa.**

| Diagnóstico  | Número | Porcentaje |
|--------------|--------|------------|
| Positivo     | 30     | 8,8%       |
| Negativo     | 310    | 91,2%      |
| <b>Total</b> | 340    | 100%       |

Al considerar la distribución de los cerdos según el sexo (tabla 3), se observa que en el 9,9% (14/141) de sueros de machos y 8,0% (16/199) de sueros de hembras, se detectaron anticuerpos anti- *T. gondii*. Sin embargo, a pesar de que se notó mayor frecuencia de reactores en los animales de sexo macho, la diferencia no fue estadísticamente significativa a la prueba de Chi cuadrado ( $P > 0,05$ ).

**Tabla 3 Distribución de cerdos seropositivos al *T. gondii*, mediante la prueba de ELISA, según sexo.**

| Sexo   | Número positivos | Porcentaje | Total |
|--------|------------------|------------|-------|
| Macho  | 14               | 9,9 %      | 141   |
| Hembra | 16               | 8,0 %      | 199   |
| Total  | 30               | 8,8 %      | 340   |

En la variable edad, se observó una mayor frecuencia de reaccionantes positivos al *T. gondii* en la categoría mayor a 12 meses con un valor de 15,4% (4/26), mientras la categoría menor o igual a 12 meses presentó un valor de 8,3% (26/314) sin embargo la diferencia entre ambos grupos no fue estadísticamente significativa  $P > 0,05$  (Tabla 4).

**Tabla 4 Comparación de frecuencia de cerdos seropositivos al *T. gondii*, mediante la prueba de ELISA, según edad.**

| <b>Edad</b>              | <b>Números positivos</b> | <b>Porcentaje</b> | <b>Total</b> |
|--------------------------|--------------------------|-------------------|--------------|
| Menor o igual a 12 meses | 26                       | 8,3%              | 314          |
| Mayor a 12 meses         | 4                        | 15,4%             | 26           |
| <b>Total</b>             | <b>30</b>                | <b>8,8%</b>       | <b>340</b>   |

En relación con la variable peso la mayor prevalencia se detectó en la categoría mayor o igual a 100 kg. Encontrándose un 7,8% de sueros positivos a toxoplasmosis en pesos menores a 100 kg y un 14,9% de sueros positivos en la categoría mayor o igual a 100 kg. El análisis estadístico no detecto diferencia significativa entre estas categorías de peso (  $P > 0,05$  ).

**Tabla 5 Comparación de frecuencia de cerdos seropositivos al *T. gondii* según peso, mediante prueba de ELISA.**

| <b>Peso</b>            | <b>Número positivo</b> | <b>Porcentaje</b> | <b>Total</b> |
|------------------------|------------------------|-------------------|--------------|
| Menor a 100 kg         | 23                     | 7,8 %             | 293          |
| Mayor o igual a 100 kg | 7                      | 14,9%             | 47           |
| <b>Total</b>           | <b>30</b>              | <b>8,8%</b>       | <b>340</b>   |

## 6. DISCUSIÓN

Si bien existen numerosos estudios en otros países en relación con la toxoplasmosis, con una gran variedad de prevalencias, no siempre es posible hacer comparaciones válidas, ya que tanto en humanos como en animales las frecuencias de afectados varían según las regiones, por sus costumbres y hábitos de alimentación entre otros factores ( Suárez y col 1999). Además las diferencias existentes pueden ser atribuidas a las distintas técnicas utilizadas, ya que en su gran mayoría se han usado pruebas diferentes al ELISA, no existiendo en esos estudios una estandarización de los antígenos empleados, ni existe uniformidad en las diluciones usadas en las pruebas ni en la interpretación de los resultados (D'Angelino 1983). Los trabajos realizados en Chile son escasos y con bajo número de observaciones. Ramsay (1981) en la Región Metropolitana obtuvo una prevalencia de un 51,1% y en el último estudio realizado por Tamayo y col en el año 1990 presentó una prevalencia de un 28,1% con la prueba de Sabin-Feldman y un 30,1% con la prueba Hemaglutinación Indirecta.

En el presente estudio 30 de 340 muestras analizadas arrojaron una prevalencia de 8,8% (Tabla 2). Este valor es inferior a los encontrados en estudios anteriores en Chile, lo que puede ser atribuido al cambio experimentado en la producción porcina de la Zona Sur de Chile en los últimos años, producción que se ha tecnificado para poder competir con grandes productores de la Zona Central de Chile. Este factor marca diferencia según estudios realizados en otros países, como Pereira y col el año 2005 quienes compararon en Brasil ambos tipos de producción obteniendo un 33,9% de cerdos positivos en producciones artesanales comparado con un 5,8% de las producciones industriales de ese país.

Al analizar los resultados de los sueros reaccionantes positivos a toxoplasmosis por matadero de origen (Tabla 1), fue la Planta Faenadora de Carnes Victoria la que arrojó una mayor cantidad de muestras positivas con un 19,5% (8/41), comparado con las otras dos plantas, en las cuales se obtuvo un 6,9% (16/230) y 8,7% (6/69), Imperial y Río Bueno respectivamente; encontrándose diferencias estadísticamente significativas al análisis estadístico ( $P \leq 0,05$ ). Al investigar los registros de procedencia de las muestras positivas al *T. gondii* en la Planta Faenadora Victoria se encontró que las 8 muestras positivas correspondían a un solo propietario, el cual es un pequeño productor de la zona y que la crianza de cerdos que éste posee corresponde a una explotación familiar. Esto puede explicar la mayor cantidad de sueros positivos al *T. gondii* en la planta de la ciudad de Victoria ya que en las otras dos plantas, las muestras positivas provienen de distintos productores, pudiendo ser productores más tecnificados y tener un mejor manejo sanitario.

Al analizar la variable sexo (Tabla 1), se observaron diferencias en los porcentajes hembra/macho de la muestra, siendo el Frigorífico de Río Bueno el con mayores diferencias entre la distribución de hembras y machos con un total de 74% de hembras; en los otros dos mataderos se obtuvo una proporción más cercana entre machos y hembras con 43% de hembras en Victoria y un 56% de hembras en Imperial . En el análisis de frecuencia de reaccionantes a *T. gondii* del total de la muestra, no se presentó asociación estadística ( $P \geq 0,05$ ) entre la variable sexo y frecuencia de presentación de reaccionantes positivos al ELISA para toxoplasmosis (Tabla 3). Al respecto, diversos trabajos han encontrado tasas similares para machos y hembras (Arambulo y col 1974, García y col 1979, Ramsay 1981, Tamayo y col 1990). Esto sugiere que en la distribución de la infección en cerdos según el sexo, tanto hembras como machos se encuentran expuestos a los mismos factores de riesgo para contraer la infección durante el ciclo de producción. Sin embargo, Assadi-Rad y col (1995) señalan que las hembras en etapas reproductivas son el grupo de mayor riesgo en la diseminación de *T. gondii*, esto podría deberse al estrés post parto y a la lactancia, convirtiéndose en el principal factor de diseminación para lechones lactantes, lo que perpetúa la infección en las granjas porcinas. En este último grupo de edad, se observan las consecuencias más graves de la infección clínica, sin diferencias en la susceptibilidad al agente (Dubey 1986).

La edad promedio de faenamiento de los cerdos en los tres mataderos es relativamente baja siendo en dos de los tres mataderos inferior a nueve meses de edad expresada como media (Tabla 1). Debe considerarse que la población beneficiada en mataderos no representa un buen índice de la distribución etaria poblacional (Tamayo y col 1990). A pesar de esto se subdividió las edades en dos categorías (Tabla 4), tomando en cuenta trabajos anteriores en esta zona en Chile, para poder tener datos comparables. Al respecto, en cerdos mayores a 12 meses se encontró un porcentaje mayor al de los menores de doce meses, sin embargo al análisis estadístico no se observaron diferencias estadísticamente significativas. Si bien estos resultados concuerdan con varios trabajos anteriores las diferencias entre los porcentajes pueden estar dadas por el hecho que los cerdos mayores tengan mayor probabilidad de estar infectados debido a su mayor tiempo de exposición con los factores de riesgo involucrados en esta zoonosis (Dubey 1986). Varios trabajos coinciden en señalar que las tasas de infección en cerdos aumentan con la edad (Sibalic 1966, Ikegami y col 1970).

En la variable peso se encontró una mayor frecuencia de seropositivos en la categoría mayor o igual a 100 kg (Tabla 5), con una frecuencia de un 14,9% (7/47) en comparación a un 7,8% (23/293) de la categoría menor a 100 kg. Considerando que 4 de las 7 muestras positivas en la categoría mayor o igual a 100 kg son animales mayores de 12 meses, se podría relacionar la variable peso con la edad y por lo tanto a mayor peso mayores posibilidades de estar contagiados. Sin embargo no se encontraron estudios que relacionen la variable peso con un aumento en la frecuencia de reaccionantes positivos al *T. gondii* y además al análisis estadístico, esta variable no arrojó diferencias estadísticas significativas ( $P > 0,05$ ).

La elección de la prueba de ELISA para la detección de toxoplasmosis en suinos fue basada en las ventajas sobre las pruebas de hemaglutinación e inmunofluorescencia; así, varias muestras pueden analizarse con poco equipo sofisticado comparado con la inmunofluorescencia y los resultados del ELISA ofrecen mayor consistencia y son más confiables que los ofrecidos por la hemaglutinación (Waltman y col 1984).

Los hallazgos encontrados en el presente estudio confirman la importancia de la carne de cerdo como fuente de diseminación de la toxoplasmosis y resaltan lo imprescindible de mantener un monitoreo a nivel de mataderos, siendo un hecho la presencia del *T. gondii* en nuestros cerdos destinados al consumo. Como medidas preventivas se destaca el informar a la población sobre las características de esta zoonosis y principalmente evitar el consumo de carne de cerdo cruda sobre todo en mujeres embarazadas y personas inmunodeprimidas.

## 7. REFERENCIAS

- Amato Neto V, E A Servolo, G C Levi, M I Seixas. 1995. Toxoplasmose. *Ed. Sarvier*. Sao Paulo. Brasil. Pp 112-118.
- Arambulo PV, B B Cabrera, M H Alge. 1974. Serological survey of Toxoplasmosis in pigs in the Philippines, *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 5, 9-11.
- Araújo FR, Sarti EC Crocci, AJ Seabra, VMS Amorim, JH Cusinato, FQ Araújo, c.p.de; Carvalho, c.m.e. 2000. Anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em estudantes de Medicina Veterinária de Campo Grande, MS, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria 30.Pp 1017-1019.
- Arias M A, M Chinchilla, L Neyes, E Linder. 1996. Seroepidemiology of toxoplasmosis in humans: possible transmission routes in Costa Rica. *Vet Biol Trop* 44, 377-381.
- Assadi-Rad A, New J, Patton S. 1995. Risk factors associated with transmission of *Toxoplasma gondii* to sows kept in different management systems in Tennessee. *Vet Parasitol* 57. Pp 289-297.
- Atias A, Thiermann E. 1994. *Toxoplasma* En: *Parasitología Clínica* (Publicaciones Mediterráneo) 3a ed. Santiago de Chile, Chile. Pp. 269-282.
- Behymer R D, D R Harlow, D E Behymer, C E Franti. 1973. Serologic diagnosis of toxoplasmosis and prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in selected feline, canine, and human population. *J Am Vet Med Assoc* 162, 90- 98.
- Bonametti A M, J do N Passos, E M K Silva, A L Bortoliero. 1997. Surto de toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. *Rev Soc Bras Méd Trop* 30, 21-25.
- Cesbron M F, Dubremetz J F, Sher A. 1993. The immunobiology of toxoplasmosis. *Res. Immunol*, 144, 7-13.
- Corripio I de F. 1999. Desarrollo de técnicas de ADN para el diagnóstico y caracterización de *Toxoplasma gondii*. Aplicación a estudios epidemiológicos. Tesis doctoral, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense De Madrid, España.
- Chinchilla M, O M Guerrero, A Castro, J Sabah. 1994. Cockroaches as transport hosts of protozoan *Toxoplasma gondii*. *Rev de Biol Trop* 42, 329-331.

- D'Angelino J L. 1983. Toxoplasmosis suína: contribuição para o estudo epidemiológico. Tesis de Doctorado. Fac. Salud Pública, Univ. São Paulo, São Paulo. Brasil.
- Damriyasa I M, A C Bauer , R Edelhoferb, K Failingc, P Lindd, E Petersene, G Scharesf, A M Tenterg, R Volmerh, H Zahnera. 2004. Cross-sectional survey in pig breeding farms in Hesse, Germany: seroprevalence and risk factors of infections with *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp. and *Neospora caninum* in sows. *Vet Parasitol* 126, 271– 286.
- Dubey J P, N L Miller, J K Frenkel. 1970. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. *J Exp Med* 132, 636-662.
- Dubey J P. 1986. A review of toxoplasmosis in pigs. *Vet Parasitol* 19, 181-223.
- Dubey J P. 1987. Toxoplasmosis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 17, 1389-1404.
- Dubey J P, Beattie C P. 1988. Toxoplasmosis of animals and man. Boca Raton, FL: CRC Press. Pp 1-220.
- Dubey J P. 1990. Diagnosis of livestock abortion due to *Toxoplasma gondii*. Laboratory diagnosis of livestock abortion, 3th Edition, Edited by Clyde A. Kirkbirde, Iowa State University Press: Ames, Iowa, USA. Pp 220-224.
- Dubey J P. 1994. Toxoplasmosis. *J Am Vet Med Assoc* 205, 1593 – 1598.
- Dubey J P. 1995. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. *J of Parasitol* 81, 410-415.
- Dubey J P, R M Weigel, A M Siegel, P Thulliez, U D Kitron, M A Mitchell, A Mannelli, N E Mateus-Pinilla, S K Shen, O C Kwok. 1995. Sources and reservoirs of *Toxoplasma gondii* infection on 47 swine farms in Illinois. *J Parasitol* 81, 723–729.
- Dubey J P. 1998. Toxoplasmosis, sarcocystosis, isosporosis, and cyclosporiasis. In: Palmer, S.R.; Soulsby, E.J.L.; Simpson, D.I.H. Zoonosis. *Oxford Medical Publication*. Pp 579-597.
- Frenkel J K, J P Dubey, N L Miller. 1970. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science* 167, 893-896.
- Frenkel J K. 1971. Toxoplasmosis: mechanisms of infection, laboratory, diagnosis and management. *Curr Top Pathol* 54, 28-75.
- Frenkel J K. 1992. La toxoplasmosis una zoonosis. *Notas Veterinárias* 4-13.

- García Z, R Ruppanner, D Behymer. 1979. *Toxoplasma gondii* antibodies in California swine. *J Am Vet Assoc* 174, 610-612.
- Gómez F R. 2002. Determinación de la seroprevalencia de toxoplasmosis en alpacas y llamas en la estación experimental Inia – Puno. Tesis, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú.
- Goldman M. 1957. Staining *Toxoplasma gondii* with fluorescein labeled antibody. *J Exp Med* 105, 557-573.
- Guimarães A M, M F B Ribeiro, J D Lima. 1992. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos da raça Piau. Comunicação. *Arq Bras Med Zootec* 44, 69-71.
- Hartley W J, Munday B L. 1974. Felidae in the dissemination of toxoplasmosis to man and other animals. *Australian Vet J* 50, 224-228.
- Hedman K, A Valleri, M Brumme-Korvekartio. 1991. Rapid diagnosis of hantavirus disease with an IgG-activity assay. *Lancet* 388, 1353-1356.
- Hill D, J P Dubey. 2002. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention Parasite Biology, Epidemiology, and Systematics Laboratory, Animal and Natural Resources Institute, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Beltsville, Maryland, USA, Pp 634-640.
- Hofgertner W T, S R Swazy, R M Bacina, J Condon, M Gupta, P E Matlock. 1997. Detection of immunoglobulin G (IgG) and IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*: evaluation of four commercial immunoassay systems. *J Clin Microbiol* 35, 3313-3315.
- Ikegami H, J Koga, K Yamanaka, H Yonekura, S Kunamoto. 1970. *Toxoplasma*- positive rate among pigs kept for breeding. *J Jpn Vet Med Assoc* 23, 488-493.
- Jacobs L, M N Lunde. 1957. A hemagglutination test for toxoplasmosis. *J Parasitol* 43, 308-314.
- Jacobs J, J S Remington, M L Melton. 1960. A survey of meat samples from swine, cattle and sheep for the presence of encysted *Toxoplasma*. *J Parasitol* 46, 23-28.
- Leguía G, H Samamé, C Guerrero, M Rojas, A Núñez. 1998. Prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en alpacas. *Rev Camel Sud* IVITA 6, 19-22.
- Miguel O, 1982. Técnicas de amostragem para exames laboratoriais. *Hyg Alim* 1, 84-86.
- Nicolaus S, A Ravelo. 1937. Réactions de fixation du complement dans le serum et les extracts d'organes d'animaux atteints de toxoplasmosse experimentale. *Bull Soc Path Exot* 30, 885-889.

- Pereira I C. 2005. Soroprevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em suínos e características epidemiológicas de estabelecimentos de criação industrial e artesanal da região de Pelotas-RS. Tesis Doctoral, Faculdade de Veterinaria, Universidade Federal de Pelotas, Brasil.
- Ramsay A A. 1981. Determinación de la prevalencia de la toxoplasmosis en cerdos de abasto de Santiago mediante la reacción de Inmunofluorescencia Indirecta. Tesis de grado, Fac. de Cs. Agrarias Veterinarias y Forestales, Universidad de Chile, Chile.
- Rawal B D. 1959. Toxoplasmosis: a dye-test survey on sera from vegetarians and meat eaters in Bombay. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 53, 61-63.
- Rey L. 1991. Resistência ao parasitismo. In: *Parasitologia- Parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África*. 2ª Ed. Editora Guanabara Koogan S.A. Pp. 72-93.
- Romero J A, E Sogbe, C Díaz. 2007. Estudio Serológico e Histopatológico de la Infección por *Toxoplasma gondii* en Cerdos del estado Aragua-Venezuela. *Rev Fac Cienc Vet* 48, 85-95.
- Sabin A B, H A Feldman. 1948. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasited (*Toxoplasma*). *Science* 108, 660-663.
- Sherding R G. 1998. Toxoplasmosse, Neosporose e Outras Infecções Protozoárias Multissistêmicas. En: *Manual Saunders Clínica de Pequenos animais*. São Paulo, Editora Roca, Pp 157 – 162.
- Sibalic D. 1966. Contribution a la connaissance de la frequence de Le infection de *T gondii* chez les porcs, *Acta Vet Geogr.* 16, 193-196.
- Soulsby E J L. 1987. *Helminths, artrópodos y protozoos de los animales domésticos*. 7ª Ed. Nueva Editorial Interamericana. México, D.F. Pp 178-179.
- Suárez F, Andrade H, Galisteo A. 1999. Evaluación serológica del *Toxoplasma gondii* en suínos mediante la prueba de ELISA. *Rev Inv Vet Perú* 10, 11-17.
- Suárez A F, G Flores, V Chávez, G Rivera, L Huanca . 2004. Toxoplasmosis en alpacas de la Sierra Altoandina, Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, *Rev Investig Vet Perú* 15 Lima jul./dic 2004, 170-173.
- Spalding S, Ribeiro L, Silveira C, Velloso C, Vicente R, Costa T. 1999. Estudio sero-epidemiológico de la Toxoplasmosis, de 1997 a 1999, en embarazadas de la región Noroeste del Estado de Rio Grande del Sur, Brasil. En: XIV Congreso Latinoamericano de Parasitología. México

- Swango L J, K W Bankemper, L I Kong. 1992. *Infecções bacterianas, riquetsiais, protozoais e outras*. In: ETTINGER, S.J. Tratado de Méd Int Vet. 3ª ed. São Paulo: Editora Manoele Ltda, Brasil, 2557p.
- Tamayo R, M del C Contreras, M Méndez, M Castro. 1990. Toxoplasmosis en cerdos beneficiados en plantas faenadoras de Temuco y Valdivia, Chile. *Arch Med Vet* 22, 95-99.
- Tenter A M, A R Heckerth, L M Weiss. 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol* 30, 1217–1258.
- Teutsch S M, D D Juranel, A Sulzer, J P Dubey, R K Sikes. 1979. Epidemic toxoplasmosis associated with infected cat. *N Engl J Med* 300, 695-699.
- Venkatesan P, D Wakelin. 1993. ELISA for parasitologists: or Lies, Damned Lies and ELISAs. *Parasitol Today* 9, 228-232.
- Waltman W D, D W Dreesen, M D Prickett, J L Blue, D G Oliver. 1984. Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of toxoplasmosis in swine: interpreting assay results and comparing with other serological tests. *Am J Vet Res* 45, 1719-1725.
- Weigel R M, J P Dubey, A M Siegel, D Hoefling, D Reynolds, L Herr, U D Kitron, S K Shen, P Thulliez, R Fayer. 1995. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in swine in Illinois in 1992. *J Am Vet Med Assoc* 206, 1747–1751.
- Wilson M, J S Remington, C Clavet, G Vamery, Hoc. Working group. 1997. Evaluation of six comercial Kits for detection of human Immunoglobulin M antibodies to *T. gondii*. *J Clin Microbiol* 35, 3112-3115.