

ESTUDIO SEROLOGICO SOBRE TOXOPLASMOSIS EN GANADO OVINO BENEFICIADO EN LIMA, PERU.

Olga Contreras L. y Abelardo Tejada V.

Sección Científica de Parasitología. Instituto de Medicina Tropical "Daniel A. Carrión". Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Casilla 10138. Lima, Perú.

S U M A R I O

Se ha realizado un estudio serológico para determinar la infección por *Toxoplasma gondii* en 250 ovinos, procedentes de 6 Departamentos del Perú (Arequipa, Ayacucho, Cajamarca, Ica, Lima, Puno).

Se emplearon las técnicas de la Reacción de Hemaglutinación (R.H.A.) por el micrométodo en placas y la Reacción de Fijación del Complemento (R.F.C.) según la técnica del 50% de hemólisis de Bozicevich; con antígeno de *Toxoplasma* preparado en el Laboratorio de Toxoplasmosis del Instituto de Medicina Tropical.

Con la R.H.A., 208 (83.2%) muestras resultaron positivas; y con la R.F.C., 28 (11.2%) muestras fueron positivas.

Estos resultados nos muestran que el ganado ovino estudiado se halla infectado por *Toxoplasma gondii* en alto porcentaje y se comenta la importancia epidemiológica de estos resultados.

S U M M A R Y

It has been performed a serologic study to establish the rate of infection by *Toxoplasma gondii* of 250 sheeps from 6 Departments of Perú (Arequipa, Ayacucho, Cajamarca, Ica, Lima, Puno).

The methods used were the haemagglutination test (R.H.A.) by the micro-test and the complement fixation test (R.F.C.) as the Bozicevich's technic of the 50 percent hemolysis. The antigen of *Toxoplasma* was prepared in the Laboratory of Toxoplasmosis of the Institute of Tropical Medicine.

208 (83.2%) samples were positives with the haemagglutination test, and 28 (11.2%) were them with the complement fixation test.

These results show the high rate of infection of the sheeps studied by *Toxoplasma gondii* and the epidemiologic importance of these findings are discussed.

INTRODUCCION

Casos de Toxoplasmosis humana, casos en animales domésticos y de abasto, así como en animales silvestres se han descrito en todo el mundo. En 1958, el Comité Mixto OMS/FAO, de expertos en Zoonosis, la incluye dentro de estas afecciones por tener importancia veterinaria y en patología humana.

En el Perú se han realizado estudios serológicos que muestran altas tasas de infección en la población humana (Buck y cols., 1967; Náquira y cols., 1972), que podría sugerir la amplia distribución de esta parasitosis en nuestro país.

Rozver-Bonnet (1957), Beverley y Watson (1962), Mandoul (1965) encuentran un elevado porcentaje de infección en ovejas, señalando las posibles consecuencias económicas que podría ocasionar, y la posibilidad de que la carne de ovinos insuficientemente cocida, que

contengan quistes de *T. gondii* sirvan de fuente de infección para el hombre.

Bardet (1965) en Lima, realiza la prueba de intradermoreacción con Toxoplasmina en 300 vacunos con resultados negativos.

En relación al ganado ovino, no se han realizado investigaciones en torno a la Toxoplasmosis en nuestro medio.

El presente trabajo se ha elaborado, con la finalidad de determinar por métodos serológicos la infección por *Toxoplasma* en el ganado ovino, y de esta manera, contribuir al conocimiento de esta parasitosis en el país.

MATERIAL Y METODOS

Material.—

Se tomaron 250 muestras de sangre de ganado ovino, beneficiados en el Ca-

mal "La Colonial" de Lima, en los meses de Agosto, Setiembre y Octubre de 1971; para el estudio serológico de Toxoplasmosis.

De los 250 ovinos, 127 (50.8%) ejemplares, correspondían al sexo masculino y 123 (49.2%) al sexo femenino.

La procedencia del ganado fue la siguiente: Ayacucho (22), Arequipa (14), Cajamarca (27), Ica (29), Lima (147) y Puno 11).

Métodos.—

Recolección de muestras.—Las muestras de sangre se colectaron en el momento del sacrificio del ganado, obteniéndose aproximadamente unos 40-60 c.c. en frascos estériles, debidamente numerados y taponados.

Las muestras colectadas, se trasladaron al laboratorio y se dejaron en reposo a temperatura ambiente por 3 a 4 horas, removiéndose a los 30 minutos con baguetas de vidrio individuales, para facilitar el desprendimiento del coágulo.

Separado el coágulo, los sueros fueron centrifugados a 2,500 r.p.m. durante 15 minutos; luego, guardados en pequeños frascos estériles y dejados en congelación a -20°C hasta el momento de realizar las pruebas correspondientes.

Pruebas Inmunológicas.—Para el estudio de la infección toxoplasmósica, en las 250 muestras se emplearon dos pruebas serológicas: la Reacción de Hemaglutinación Indirecta, por el Micrométodo en placas modificado por Knierim y Saavedra (1966) y la Reacción de Fijación del Complemento del 50% de Hemólisis de Bozicevich y col. (1946) y Knierim (1958). Las reacciones serológicas fueron realizadas en la Sección Científica de Parasitología del Instituto de Medicina Tropical (I. M. T.) "Daniel A. Carrión" de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

El antígeno empleado en las reacciones serológicas, fue preparado en el Laboratorio de Toxoplasmosis del mencionado Instituto según la técnica utilizada en este Laboratorio. El exudado peritoneal obtenido de ratones de laboratorio,

previamente inoculados con cepa virulenta de **T. gondii** (Cepa Santiago), se recibe en tubos (previamente pesados) que contengan 20 c.c. de solución salina taponada de p.H 7.2 y cuyos constituyentes son:

Fosfato de Potasio:
 KH_2PO_4 0.15 M. 180 c.c.

Fosfato de Sodio:
 Na_2HPO_4 0.15M. 60 c.c.

Suero fisiológico:
 CINA 0.85 grs.
 H₂O c.s.p. 100 ml.

y seguidamente este exudado se somete a la luz ultravioleta por 30 minutos.

Luego se centrifuga a 3,000 r.p.m. durante 20 minutos; los sedimentos, se pesan y se prepara una suspensión al 1:5 en solución salina estéril (CINA 0.85% + H₂O destilada c.s.p. 100 ml.). La suspensión se agita por 30 minutos y para conseguir romper la mayor cantidad de células se pasa a través de una jeringa con agujas de calibres 18, 20 y 23 (respectivamente) procurando aspirar por lo menos 10 veces con cada una de las agujas.

Posteriormente se somete a congelación y descongelación por 6 veces sucesivas, para después, centrifugar a 2,000 r.p.m. durante 30 minutos a 2°C .

El sobrenadante se obtiene cuidadosamente y se diluye en un volumen igual de Cloruro de Sodio al 1.7% estéril. El antígeno así obtenido se guarda en refrigeración hasta el momento de ser titulado.

RESULTADOS

Las muestras de los 250 ovinos estudiados dieron los siguientes resultados: 208 muestras (83.2%) fueron positivas a la Reacción de Hemaglutinación y 28 muestras (11.2%) fueron positivas a la Reacción de Fijación del Complemento.

Observando la Tabla 1 vemos que, de las 127 muestras pertenecientes a ovinos machos estudiados mediante la R.H. A., 108 muestras (85.03%) resultaron positivas y 19 (14.96%) fueron negati-

vas. Para la R. F. C., 18 (14.17%) muestras dieron resultados positivos, 29 (22.83%) muestras resultaron negativas y 80 muestras (62.99%) fueron anti-complementarias.

De los 123 ovinos hembras estudiados mediante la R.H.A., 100 muestras (81.30%) resultaron positivas y 23 (18.69%) muestras fueron negativas. Para la R.F.C., 10 (8.09%) muestras dieron resultados positivos, 29 (23.59%) muestras resultaron negativas y 84 muestras (68.29%) fueron anticomplementarias.

En la Tabla 2, se muestran los títulos de positividad de la Reacción de Hemaglutinación y porcentaje de la positividad de la Reacción de Fijación del Complemento de acuerdo a la procedencia. En la R.H.A., 58 muestras tenían títulos comprendidos entre 1:4, 1:8 y 1:16; 122 muestras entre los títulos de 1:32, 1:64 y 1:128; y 28 cuyos títulos estaban comprendidos entre 1:256, 1:512 y 1:1,024.

DISCUSION

La Toxoplasmosis es una zoonosis que ocasiona, tanto al hombre como a los animales, diversos grados de infección, desde los clínicamente inaparentes (que son la mayoría) hasta cuadros sintomáticos graves, generalizados y aún mortales. La enfermedad puede presentarse como casos aislados o como brotes epidémicos y epizooticos importantes (Alcaino, 1964).

Buck y cols. (1967) en el Perú, al hacer un estudio epidemiológico en la población general de los Departamentos de Loreto (San Antonio), Huánuco (Cachicoto), Moquegua (Yacango) y Puno (Pusi) sobre enfermedades infecciosas y parasitarias, entre éstas señalaron la presencia de Toxoplasmosis mediante la Hemaglutinación indirecta, encontrando que de 100 sueros procedentes de cada uno de estos Departamentos, 43% resultaron positivos en Loreto, 75% en Huánuco, 17% en Moquegua y 23% en Puno.

Olafson y Monlux (1942) comunican la presencia de *T. gondii* por primera vez en un carnero. Dicho ejemplar, presentó durante dos semanas síntomas nerviosos, disnea, secreción nasal y falleció en co-

ma. En la necropsia no se hallaron lesiones macroscópicas, pero histológicamente existía una encefalomiелitis difusa, con ligera meningitis. Estructuras quísticas con la morfología típica de *Toxoplasma* estaban presentes en y al borde de las áreas inflamadas a lo largo de la médula y algunos organismos alargados estaban dispuestos formando hileras.

Roever-Bonnet (1957), realiza un descarte serológico en 22 ovejas, encontrando 14 de ellas positivas al dye test.

Eyles y cols. (1958), en un trabajo realizado en Memphis, utilizando la reacción de Sabin Feldman, encuentra que de 29 ovejas estudiadas, todas mostraron positividad a dicha reacción. Rawal (1959), empleando el mismo método en 100 ovejas sacrificadas en un camal de Inglaterra, encontró que 11 eran positivas, con títulos hasta de 1:64.

Garnham y Lainson (1960), en un estudio experimental, al alimentar a 10 ratas con músculos de ovejas previamente infectadas con *T. gondii*, dos ratas contrajeron la infección. Señalan que las ovejas albergan al *Toxoplasma* manteniéndose ellas en buen estado sin mostrar cambios patológicos macroscópicos. Los autores sugieren, que la ingestión por el hombre de carnes o de otros productos del animal (hígado, bazo, pulmones, etc.) que contengan toxoplasmas, podría provocar la infección y luego la producción de anticuerpos.

Beverley y Watson (1962), por descarte serológico comprobó la infección por *T. gondii* en 6 de 7 grupos de rebaños. Beverley y Mackay (1962) al estudiar 192 ovejas aislaron al parásito de la placenta de 18 de ellas.

Roever-Bonnet (1963), al estudiar a 175 ovinos por medio de la reacción de Sabin Feldman, encontró que el 11% presentaban títulos menores de 1:16, el 12% 1:16 y el 77% tenían 1:64 o más altos. Mandoul (1965), en un estudio serológico en ovinos en Limousin, muestra que alrededor del 35% de los animales estaban infectados con *Toxoplasma*.

La reacción de Hemaglutinación (R. H.A.) es una prueba que guarda un 88% de concordancia con la prueba de Sabin

Feldman (R.S.F.) (Knierim y cols., 1960) que es de alta especificidad y sensibilidad, por lo que se puede considerar que los resultados obtenidos son comparables con trabajos similares.

La reacción de Hemaglutinación tiene ventaja sobre la Fijación del Complemento en el sentido de detectar los casos de infección latente y además que los sueros anticomplementarios pueden ser detectados con la R.H.A.

La reacción de Fijación del Complemento indica "actividad serológica" de la infección, probablemente acompañada de la actividad de la infección en el hombre (Apt y cols., 1968; Niedman y cols., 1963); en nuestro material podría indicarnos que la infección de algunos de los ovinos estaba en actividad.

En la población de ovinos estudiada, encontramos un alto grado de positividad en la R.H.A. (83.2%) y 11.2% a la R. F.C., este último estaría en relación con cuadros agudos o crónicos reagudizados. En ovejas hembras la R. H. A. fue de 81.3% lo que plantea la posibilidad de que se produzcan abortos y mortinatos, que podrían ocasionar pérdidas económicas.

El escaso número de muestras de sangre de ovinos procesados de cada uno de los 6 Departamentos estudiados, no nos permite apreciar la magnitud del problema en torno a la infección por **Toxoplasma** para cada Departamento, salvo en el de Lima que sobre 147 muestras, el 80.9% dio reacción de Hemaglutinación positiva y 11.5% a la Fijación del Complemento.

La infección que encontramos en el ganado ovino, por las repercusiones económicas que podría significar, nos permite señalar la importancia de continuar estudios epidemiológicos, tendientes a determinar la verdadera incidencia de **T. gondii** no sólo en el ganado ovino, sino también en el ganado porcino, vacuno, caprino y otros, cuyo estudio en nuestro país, aún no ha sido realizado.

AGRADECIMIENTOS

A la Bióloga Frida Náquira V., por su valiosa colaboración en la realización del presente trabajo.

Al Dr. César Náquira V. por la revisión y sugerencias hechas al mismo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALCAINO, H. - 1964. Toxoplasmosis en animales domésticos. **Bol. Chil. Parasit.** 15:21-25.
- APT, W., NIEDMAN, G. y ATIAS, A. - 1968. Tratamiento antitoxoplásmico aplicado durante el embarazo. **Bol. Chil. Parasit.** 23:102-107.
- BARDET, L. - 1965. Encuesta de toxoplasmosis en vacunos (Intradermoreacción). Tes. Bach. Vet. U.N.M.S.M. Lima.
- BEVERLEY, J. K. and WATSON, W. A. - 1962. Further studies in toxoplasmosis and ovine abortion in Yorkshire. **Vet. Record.** 74:548.
- BEVERLEY, J. K. and MACKAY, R. R. - 1962. Ovine abortion and toxoplasmosis in the East Midlands. **Vet. Record.** 74:499-501.
- BOZICEVICH, J., HOYEN, H. and WALSTON, V. V. - 1946. A method of conducting the 50 percent hemolysis end point complement-fixing test for parasitic diseases. **Public. Health Rep.** 61:529-534.
- BUCK, A., SASAKI, T. T., ANDERSON, R. I., HITCHCOCK, J. C. and LEIGH, G. R. - 1967. A comprehensive epidemiologic studies of four contrasting peruvian villages. Publication of the Geographic Epidemiology Unit of the Johns Hopkins University, Baltimore. Maryland. U.S.A. Edic. 1967.
- EYLES, D. E., GIBSON, C. L., COLEMAN, N. et al. - 1958. The prevalence of Toxoplasmosis in wild and domesticated animals of the Memphis Region. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 64:320-335.
- GARNHAM, P. C. and LAINSON, R. - 1960. Sheep as a potential reservoir of toxoplasma for man. **Lancet.** 2:71-74.
- KNIERIM, Feliza. - 1958. Técnica de la reacción de fijación del complemento según el método del 50% de hemólisis de Bozicevich. **Bol. Chil. Parasit.** 13:75-78.
- KNIERIM, Feliza, NIEDMAN, G. y THIERMAN, E. 1960. La reacción de hemaglutinación aplicada al diagnóstico serológico de la toxoplasmosis. **Bol. Chil. Parasit.** 15:48-50.

- KNIERIM, Feliza y SAAVEDRA, P. - 1966. Técnica de la reacción de hemaglutinación aplicada al diagnóstico serológico de las parasitosis. **Bol. Chil. Parasit.** **21**:39-44.
- MANDOUL, R. - 1965. Problems posed by the transmission of toxoplasmosis in sheep. **Bull. Soc. Path. Exot.** **58**:428-432.
- NAQUIRA, Frida, CORNEJO, A., NAQUIRA, C., VILCHEZ, M., CASTILLO, C. y CACERES, Irma. - 1972. Estudio serológico de la toxoplasmosis en el Perú. **Rev. Per. Med. Trop. U.N.M.S.M.** **1**:28-32.
- NIEDMANN, G., THIERMAN, E. y NEGhme, A. - 1963. Toxoplasmosis en Chile. Estado actual de los estudios epidemiológicos y clínicos. **Bol. Chil. Parasit.** **18**:86-92.
- OLAFSON, F. and MONLUX, W. S. - 1942. Toxoplasma infections in animals. **Cornell. Vet.** **32**:176-190.
- RAWAL, B. P. - 1959. Toxoplasmosis in sheep in England. **Lancet**, **i**. 881.
- ROEVER-BONNET, H. de. - 1957. Toxoplasmosis in slaughter cattle, particularly in sheep. **Coc. Med. Geograph. Trop.** **9**:336:338. (Citado por Jacobs, L. 1960).
- ROEVER-BONNET, H. de. - 1963. Toxoplasmosis in sheep in the Netherlands. **Trop. Geograph. Med.** **15**:431-437.
-

TABLA 1
RESULTADOS DE LAS REACCIONES DE HEMAGLUTINACION (R. H. A.) Y FIJACION DEL COMPLEMENTO
(R. F. C.) PARA TOXOPLASMOSIS EN 250 OVINOS, SEGUN PROCEDENCIA Y SEXO

DEPARTAMEN- TOS DE PROCEDENCIA	S E X O S												
	M A C H O S						H E M B R A S						
	R. H. A.		R. F. C.		TOTAL		R. H. A.		R. F. C.		TOTAL		
	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	AC	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	AC	Pos.	Neg.	AC
Arequipa . . .	13	1	4	2	8	14	—	—	—	—	—	—	—
Ayacucho . . .	5	1	—	1	5	6	11	5	—	1	15	16	16
Cajamarca . . .	5	1	2	1	3	6	15	6	2	4	15	21	21
Ica	22	—	3	1	18	22	7	—	—	—	7	7	7
Lima	59	16	9	24	42	75	60	12	8	22	42	72	72
Puno	4	—	—	—	4	4	7	—	—	2	5	7	7
TOTAL: . . .	108	19	18	29	80	127	100	23	10	29	84	123	123

L E Y E N D A

Pos. : Positivo.

Neg. : Negativo.

AC : Anticomplementario

TABLA 2
TITULO DE LA POSITIVIDAD DE LA REACCION DE HEMAGLUTINACION (R. H. A.) Y
PORCENTAJE DE LA POSITIVIDAD DE LA REACCION DE FIJACION DEL COMPLEMENTO
(R. F. C.) PARA TOXOPLASMOSIS EN 250 OVINOS DE ACUERDO A LA PROCEDENCIA

DEPARTAMEN- TOS DE PROCEDENCIA	Nº DE MUESTRAS EXAMINADAS	REACCION DE HEMAGLUTINACION					R. F. DEL COMPLEMENTO	
		PO- SI- TI- VO	%	T I T U L O S			PO- SI- TI- VO	%
				1:4 - 1:16	1:32 - 1:128	1:256 - 1:1024		
Arequipa . . .	14	13	93.8	6	7	—	4	28.00
Ayacucho . . .	22	16	72.7	5	8	3	—	00.00
Cajamarca . .	27	20	74.0	7	7	6	4	15.10
Ica	29	29	100.0	6	21	2	3	10.30
Lima	147	119	80.9	32	73	14	17	11.50
Puno	11	11	100.0	2	6	3	—	00.00
TOTAL: . . .	250	208	83.2	58	122	28	28	11.20