

## EVALUACIÓN SEROLÓGICA DEL *Toxoplasma gondii* EN SUINOS MEDIANTE LA PRUEBA DE ELISA

Francisco Suárez<sup>1</sup>; Heitor Andrade Jr.<sup>2</sup> y Andrés Galisteo<sup>2</sup>

### Abstract

The present research, carried out in Sao Paulo, Brazil, was designed to determine the frequency of *Toxoplasma gondii* infection in swine destined for human consumption. Serum samples (n=303) were collected from a slaughterhouse and analyzed by ELISA test. The frequency of positive sera was 9.57% (0.270 cut off) with a 95% confidence interval (6.26-12.88%). Although some difference in the incidence of positive sera was found in female (10.31%) and male (9.22%) pigs, it was not statistically significant ( $P > 0,05$ ). These results show that pig meat consumption may be an important source of *Toxoplasma gondii* infection in humans.

**Key words:** Toxoplasmosis, swine, antibodies, ELISA.

### Resumen

El presente trabajo se realizó en São Paulo, Brasil con la finalidad de establecer la frecuencia de infección toxoplásmica en cerdos destinados al consumo humano. Mediante la prueba de ELISA, se analizaron 303 sueros de suinos beneficiados en un camal de la ciudad. Los resultados dieron 9.57% de sueros reactivos al *Toxoplasma gondii* (cutoff de 0.270) con un intervalo de confianza de 95% entre 6.26% y 12.88%. Al analizarse la variable sexo, se encontró un 10.31% de infectadas entre las hembras y 9.22% entre los machos ( $P > 0,05$ ). Estos hallazgos confirman la importancia que tiene la carne de cerdo como fuente de infección de la toxoplasmosis para el hombre.

**Palabras clave:** Toxoplasmosis, suinos, anticuerpos, ELISA.

### Introducción

La toxoplasmosis es una de las zoonosis parasitarias más importantes para la población humana en el mundo.

Las investigaciones de esta parasitosis se iniciaron el año 1908 en el Brasil, cuando Splendore descubrió el agente en conejos de laboratorio, simultáneamente,

Nicolle & Manceaux describieron el parásito en gondis, roedores africanos, siendo posteriormente clasificado como *Toxoplasma gondii*. En 1958, el Comité Mixto OMS/FAO de expertos en zoonosis incluyó, por su relevancia, esta parasitosis dentro de las zoonosis (Contreras & Tejada, 1974). Así, aspectos epidemiológicos, parasitológicos, diagnósticos y clínicos, además de los relacionados con los mecanismos de transmisión se tornaron cada vez más conocidos, incorporándose esta protozoonosis dentro de las actividades médico-asistenciales y en la actualidad la

<sup>1</sup>UNMSM - FMV. Apdo. 41-0068

<sup>2</sup>Universidad de São Paulo - Instituto de Medicina Tropical

toxoplasmosis forma parte de la cotidiana actividad de los profesionales ligados a la Salud Pública (Amato Neto, 1995).

La transmisión de esta zoonosis es principalmente por la ingestión de carne, leche, huevos crudos o insuficientemente cocidos (Silva *et al.*, 1981) y por la manipulación de carcasas infectadas de cerdos (Beverley & Beattie, 1954; Ishizuka, 1978). Cabe destacar que el hombre puede infectarse por tres vías: carnivorismo, contaminación fecal y transmisión congénita.

El gato constituye el principal hospedador definitivo del *Toxoplasma gondii* (Hutchison & Dunachie, 1971), eliminando con sus heces los ooquistes del parásito. Estos ooquistes son muy resistentes en el medio ambiente, manteniéndose viables por largo tiempo, constituyendo fuente de infección para el hombre y animales domésticos como el bovino y el suino (Catár *et al.*, 1969), localizándose posteriormente en los músculos de los animales (Sasaki *et al.*, 1974; Okolo, 1985), siendo la especie suina la que presenta mayor frecuencia de infección.

La importancia de la infección en el ámbito de la salud pública reside por un lado, en el hecho de que la toxoplasmosis representa una apreciable causa de natimortalidad y fundamentalmente de morbilidad neonatal, principalmente lesiones oculares de intensidad variable y alteraciones cerebrales graves (Frenkel, 1973) y por otro lado, a que en los últimos años el panorama se tornó más severo con el advenimiento del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), enfermedad que permite que la toxoplasmosis cause graves disturbios, principalmente en el sistema nervioso central (Amato Neto, 1995; Wanke, 1987).

La prevalencia de la toxoplasmosis humana en adultos a nivel mundial presenta variaciones regionales, observándose valores entre 30 y 60% (Amato Neto *et al.*, 1995). En los cerdos, la prevalencia varía, dependiendo del área, método de diagnóstico y de su interpretación; reportándose valores entre 0,8 y 0,9% en Austria (Edelhofer, 1994), hasta 90,4% en el Brasil (Guimarães *et al.*, 1992).

El diagnóstico del *Toxoplasma gondii* en los animales no es simple, debido a que la enfermedad es mayormente subclínica y por ello los monitoreos serológicos a nivel de mataderos son de importancia para estimar la frecuencia de infección toxoplásmica en suinos, así como también para evaluar el riesgo de infección a que está expuesta la población humana. El presente estudio tuvo por objetivo estimar la frecuencia de cerdos reactivos a la toxoplasmosis.

## Material y Métodos

### Tamaño de 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%).

$$n = \frac{1,96^2 \times 0,21 \times 0,79}{0,05^2} = 255 \cdot$$

- Para el estudio, el valor 0,21 se calculó considerando los trabajos relacionados con prevalencias de toxoplasmosis suina, ponderadas por el número de animales estudiados. Siendo 255 el tamaño mínimo de la muestra, para una mejor estimativa, trabajamos con 303 cerdos.

### Toma de Muestras

Las muestras de sangre fueron colectadas en el momento del sacrificio de los cerdos en el Frigorífico Rajá del Municipio de Carapicuíba, en São Paulo-Brasil. Las muestras fueron colectadas en frascos de plástico, identificándolas por numeración y según sexo; transportándolas al Laboratorio donde se separaron los sueros mediante centrifugación, para luego almacenarlas en congelación (-20°C) hasta la ejecución de las prueba.

### Serología

La detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*, fue realizada mediante la prueba de ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay), empleando la técnica estandarizada previamente. Cada muestra de suero se analizó por duplicado y la lectura de las absorbancias de cada pozo se realizó en un lector automático de ELISA con filtro a 492 nm. Los resultados se expresaron como la media de las absorbancias; el valor límite o cut off se determinó en 0,270.

### Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos en las pruebas, fueron expresados en proporciones y porcentajes, teniendo en consideración la positividad de los sueros a la prueba, estableciéndose además, su intervalo de

confianza. Igualmente se realizaron los cálculos según el sexo y, para establecer la independencia entre sexo y la presencia de anticuerpos anti-toxoplasma, se aplicó la prueba de Chi Cuadrado (Daniel, 1995).

## Resultados y Discusión

Los resultados de los monitoreos serológicos en mataderos a fin de determinar la frecuencia de cerdos reactivos al *Toxoplasma gondii*, muestran diversos resultados, posiblemente debido a la variedad de técnicas diagnósticas utilizadas, con diferentes grados de sensibilidad y especificidad, así como al origen de los animales.

En el presente estudio, 9,6% (29/303) de los suinos presentaron anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii*, con un intervalo de confianza de 95% entre 6,3% y 12,9% (Cuadro 1); hallazgos similares han sido reportados por muchos autores en diversos lugares del mundo como: 9,25% por Prosek & Hejlícek (1981) en Checoslovaquia; 12,3% por Jamra (1969) y 7,2% por Silva *et al.* (1981) en el Brasil; 11,2% por Tanaka *et al.* (1966) y 11,1% por Katsube *et al.* (1975) en Japón y el 11,4% por Zimmerman *et al.* (1990) Iowa, Estados Unidos de Norteamérica.

Cuadro 1. Frecuencia de suinos reactivos al *Toxoplasma gondii*, mediante la prueba de ELISA, São Paulo, 1997.

Diagnóstico	Nº	%
Positivo	29	9.6
Negativo	274	90.4
Total	303	100.0

Sin embargo, nuestros hallazgos muestran divergencias con otros, así, Edelhofer *et al.* (1994) en Austria reportaron 0,8% y 0,9%; mientras que otros fueron mayores, como el 29,9% de Schenk *et al.* (1976); 32,2% de Ishizuka (1978); 33,4% de Passos *et al.* (1984); 46,6% y 54% de D'Angelino (1986); 60% de Sogorb *et al.* (1972), hasta el 90,4% de Guimarães *et al.* (1992), todos éstos en el Brasil; igualmente en otros países existen reportes de valores superiores al nuestro como el de Hugh-Jones (1986) en Louisiana (USA) con 19,2%; el 26% de Torres *et al.* (1991) en Costa Rica; 28,1% de Tamayo *et al.* (1990) en Chile y en el Perú el 60% reportado por Vásquez (1988).

Al considerar la distribución de los cerdos según el sexo, mostrado en el Cuadro 2, se observa que en el 9,2% (19/206) de sueros de machos y 10,3% (10/97) de sueros de hembras, se detectaron anticuerpos toxoplásmicos. Sin embargo, a pesar de que se notó mayor frecuencia de reactores en los animales de sexo hembra, no fue estadísticamente significativa a la prueba de Chi cuadrado ( $P > 0,05$ ); dato que concuerda con los reportados por Vasconcelos *et al.* (1979) en Brasil; Arámbulo *et al.* (1974) en Filipinas; y García *et al.* (1979) en California.

Las diferencias observadas entre nuestros hallazgos y los reportados por

Cuadro 2. Frecuencia de suinos reactores al *Toxoplasma gondii* mediante la prueba de ELISA, según sexo, São Paulo, 1997.

Sexo	Nº	%	Total
Machos	19	9,2	206
Hembras	10	10,3	97
Total	29	9,6	303

diferentes autores pueden deberse al método de diagnóstico utilizado, pues en su gran mayoría usaron pruebas diferentes al ELISA, que ofrecen diferente sensibilidad y especificidad. En aquellos trabajos, utilizaron con mayor frecuencia las reacciones de Sabin-Feldman, inmunofluorescencia indirecta y hemaglutinación; no existiendo en esos relatos 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). Además, tanto en humanos como en animales las frecuencias de afectados varía según las regiones, por sus costumbres y hábitos de alimentación, entre otros factores. Estos factores hacen que no siempre sea posible realizar comparaciones válidas de las frecuencias encontradas.

La elección de la prueba de ELISA para la detección de toxoplasmosis en suínos fue basada en las ventajas sobre las pruebas de hemaglutinación e inmunofluorescencia; así, muchas 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 *et al.*, 1984).

Estos hallazgos confirman la importancia de los suinos como fuente de transmisión de la toxoplasmosis y como manifestado por Ruiz *et al.* (1973), los suinos se infectan con mayor frecuencia que los bovinos posiblemente por una menor resistencia y por que usualmente su crianza es más cercana de los hogares, relación que permitiría que los cerdos se infecten más fácilmente con alimentos mezclados con tierra, que pueden estar contaminada con ooquistes del parásito. Esto obliga a mantenernos alertas, aún más, considerando la costumbre cada vez más significativa de comer carne insuficientemente cocida y

embutidos, factores que incrementan el riesgo de infección del ser humano.

### Literatura Citada

1. **Amato Neto, V., E.A.S. Medeiros, G.C. Levi & M.I.S. Duarte, 1995.** Toxoplasmose. 2ª ed., p.3. Ed. Sarvier, São Paulo.
2. **Arámbulo III. P.V., B.D.Cabrera & M.H. Alge. 1974.** Serological survey of toxoplasmosis in pigs in the Philippines. South As. J. Trop. Med. Pub. Hlth, 5(1):9-11.
3. **Beverley, J.K.A. & C.P. Beatty. 1954.** Human toxoplasma infection. J. Hyg., 52(1):37-46.
4. **Catár, G., L. Bergendi & R. Holková. 1969.** Isolation of *Toxoplasma gondii* from swine and cattle. J. Parasitol., 55(5):952-955.
5. **Contreras, O. & A. Tejada. 1974.** Estudio serológico sobre toxoplasmosis en ganado ovino beneficiado en Lima, Perú. Rev. Per. Biol.,:147-153.
6. **D'Angelino, J.L. 1983.** Toxoplasmose suína: contribuição para o estudo epidemiológico. Tesis de Doctorado. Fac. Salud Pública, Univ. São Paulo, São Paulo. 112 p.
7. **D'Angelino, J.L. & M.M. Ishizuka. 1986.** Toxoplasmose suína. 3. Avaliação da prevalência de infecção toxoplásmica em rebanhos suínos pela prova de imunofluorescência indireta e hemaglutinação. Bol. Of. Sanit. Panam., 100(6):634-645.
8. **Daniel. W.W. 1996.** Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. 3ª ed., p. 657-665. Ed. Limusa, México.
9. **Edelhofer, R. 1994.** Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in pigs in Austria – an evaluation of data from 1982 and 1992. Parasitol. Res., 80(8):642-644.
10. **Frenkel, J.K. 1973.** Toxo-plasmosis in and around us. Bioscience, 23:343-352.
11. **García, Z., R. Ruppanner & D. Behymer. 1979.** *Toxoplasma gondii* antibodies in California swine. JAVMA, 174(6):610-612.
12. **Guimarães, A.M., M.F.B. Ribeiro, J.D. Lima & T.M.B. de Almeida. 1992.** Freqüência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos da raça Piau. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 44(1):69-71.
13. **Hugh-Jones, M.E., J.J. Broussard, T.B. Stewart, C. Raby & J.E. Morrison. 1986.** Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in southern Louisiana swine in 1980 and 1981. Am. J. Vet. Res., 47(5):1050-1051.
14. **Hutchison, W.M. & J. Dunachie. 1971.** The life cycle of the coccidian parasite *Toxoplasma gondii* in the domestic cat. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 65(3):380-399.
15. **Ishizuka, M.M. 1978.** Avaliação da freqüência de reagentes ao *Toxoplasma gondii*, pela prova de imunofluorescência indireta, em suínos de matadouro do município de São Paulo. Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. São Paulo, 15(2):151-154.
16. **Jamra, L.F., M.P. Deane & E.C. Guimarães. 1969.** On the isolation of

- Toxoplasma gondii* from human food of animal origin. Partial results in the city of São Paulo (Brazil). Rev. Inst. Med. Trop., São Paulo, 11(3):169-176.
17. **Katsube, Y., T. Hagiwara, K. Imaizumi, & K. Masuda. 1975.** Latent infection of toxoplasma in swine. Jap. J. Vet. Sci., 37(3):245-252.
  18. **Miguel, O. 1982.** Técnicas de amostragem para exames laboratoriais. Hyg. Alim., 1(2): 84-86.
  19. **Okolo, M.I.O. 1985.** Toxoplasmosis in animals and the public health aspects. Int. J. Zoon., 12(4):247-256.
  20. **Passos, L.M.F., J.D. Lima & B.L. Figueiredo. 1984.** Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos abatidos em Belo Horizonte, Minas Gerais. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 36(6):649-657.
  21. **Prosek, F. & K. Hejlicek. 1981.** Serological examination and demonstration of *Toxoplasma gondii* in slaughter pigs. Acta Vet. Brno., 50(3-4):229-230.
  22. **Ruiz, A., J.K. Frenkel & L. Cerdas. 1973.** Isolation of toxoplasma from soil. J. Parasitol., 59(1):204-206.
  23. **Sasaki, Y., T. Iida, K. Oomura, Y. Tsutsumi, K. Tsunoda, S. Ito & H. Nishikawa. 1974.** Experimental toxoplasma infection of pigs with oocysts of *Iso spor a bigemina* of feline origin. Jap. J. Vet. Sci., 36(6):459-465.
  24. **Schenk, M.A.M., J.D. Lima & F.C. Viana. 1976.** Frequência da toxoplasmose em suínos abatidos em Belo Horizonte, Minas Gerais. Arq. Esc. Vet. UFMG., 28(3):261-265.
  25. **Silva, N.R.S., E.L. Chaplin, L.D.V. Mendez & F.A.P. Araújo. 1981.** Determinação de anticorpos toxoplásmicos em soros de suínos abatidos em matadouros, na região do Alto Taquarí, RS, Brasil. Arq. Fac. Vet. UFRGS, Porto Alegre, 9:33-38.
  26. **Sogorb, S., L.F. Jamra, E.C. Guimarães & M.P. Deane. 1972.** Toxoplasmose espontânea em suínos domésticos e silvestres em São Paulo. Rev. Inst. Med. Trop., São Paulo, 14(5):314-320.
  27. **Tamayo, R., M. Contreras, M. Méndez & M. Castro. 1990.** Toxoplasmosis en cerdos beneficiados en las plantas faenadoras de Temuco y Valdivia, Chile. Arch. Med. Vet., 22(1):95-99.
  28. **Tanaka, H., S. Takada, J. Shibuya, H. Kuroda, et al. 1966.** Studies on swine toxoplasmosis (III). Jap. J. Parasitol., 15:322.
  29. **Torres, A.L., M. Chinchilla & L. Reyes. 1991.** Anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en cerdos de Costa Rica: importancia epidemiológica. Rev. Latinoamer. Microbiol., 33(2-3):129-133.
  30. **Vasconcelos, O. T., A.J. Costa & F.A. Avila. 1979.** Aspectos epidemiológicos da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos. Científica, 7(Esp):83-87.
  31. **Vásquez, R. 1988.** Estudio serológico sobre toxoplasmosis en ganado porcino beneficiado en Lima-Perú, 1985. Tesis de Bachiller. Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor de San Marcos, Lima. 43 p.
  32. **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(9):1719-1725.
33. **Wanke, CH. 1987.** *Toxoplasma* encephalitis in patients with acquired immune deficiency syndrome: diagnosis and response to therapy. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 36(6): 509-516.
34. **Zimmerman, J.J., D.W. Dreesen, W.J. Owen & G.W. Beran. 1990.** Prevalence of toxoplasmosis in swine from Iowa. *JAVMA*, 196(2):266-270.