



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

TESIS

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* EN GATOS
DOMÉSTICOS (*Felis silvestris catus*) DE LA URBANIZACIÓN ZARATE - DISTRITO
DE SAN JUAN DE LURIGANCHO

Para optar El Título Profesional de
MEDICO VETERINARIO

ITALO ROBERTO RAZURI GAMIO

Bachiller

Lima-Peru

2014

DEDICATORIA

A mis padres Roberto y Elena por apoyarme en todos los proyectos que emprendí y animarme a nunca renunciar a mis sueños y convertirlos en los suyos. A mis abuelos por ser tan buenos y generosos y enseñarme valores para convertirme en un hombre de bien.

AGRADECIMIENTO

A Dios por brindarme la vida y la fuerzas para dar este paso y concluir mi carrera.

A mis padres por brindarme los recursos y consejos necesarios no solo como estudiante sino para la vida.

Un especial agradecimiento a la doctora Nidia Puray por la paciencia y dedicación en la asesoría de mi tesis.

A Jenny Arellano por sus consejos y compañía desde la época de estudiante hasta el momento de la realización de la tesis.

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo determinar la presencia de *Toxoplasma gondii* en gatos domésticos (*Felis silvestris catus*) de la urbanización Zarate del distrito de San Juan de Lurigancho. El estudio se llevó a cabo durante los meses de julio a septiembre de 2013 en gatos provenientes de campañas de esterilización del distrito en mención. Para el estudio se contó con 168 muestras de suero provenientes de gatos (*Felis silvestris catus*) las cuales fueron extraídas mediante punción tanto de la vena yugular como cefálica posterior a la cirugía de esterilización. Los sueros fueron conservados a -20°C en viales hasta la utilización del kit comercial HAI Wiener lab y fueron analizados en el laboratorio central de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Universidad Alas Peruanas. Del total de muestras analizadas, resultaron positivas a anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* 26 siendo el 15,48%. Con el fin de determinar si dichas muestras presentaban IgG o IgM característico de la fase crónica y aguda respectivamente se procedió a la utilización de 2-Mercapto etanol dando como resultado que 10 muestras presentaban IgM deduciéndose que tales muestras se encontraban en fase aguda. Se analizaron las variables edad, sexo, alimentación y acceso a la calle mediante Chi cuadrado no encontrándose una relación entre ellas. Concluyéndose que un grupo de felinos del distrito en estudio son seroreactivos al *Toxoplasma gondii* pudiendo ser fuente de diseminación de la enfermedad.

PALABRAS CLAVE: *Toxoplasma*, Coccidia, suero, HAI, hospedero definitivo.

ABSTRAC

The investigation had as objective determine the presence of toxoplasm *gondii* on pet cats (*Felis silvestris catus*) on Zárate urbanization from San Juan de lurigancho district. The study was made during months of july to September, 2013 in cats coming from sterilization campaigns of the metioned district. In order to make the study was counted with 168 samples of blood serum coming from cats (*Felis silvestris catus*) that were extracted by puncture from the jugular vein as well as cephalic after the surgery of sterilization. The blood serum were preserved on -20 ° C in vials until the use of the commercial kit HAI Wiener lab and they were analized at the central lab of the department of farming sciences of the Alas Peruanas university. From the whole of analized samples became positives to antyodies against *toxoplasm gondii* 26 being the 15,48%. In order to determine if those samples shown up IgG or IgM characteristic in the chronic and intense phase respectively proceeded the use of 2 – Mercapto ethanol giving as a result that 10 samples presented IgM deducing that these samples were in the intense phase. variables of age, sex, food and access to the street were analized by a squared chi finding no relation between them. Concluding that a group of felines of the district are seroreactive to Toxoplasm gondii, being these able to be the source of spreading the illness.

Key words: Toxoplasm, Coccidia, Blood serum, HAI, definitive innkeeper

INDICE

DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTO	III
RESUMEN	IV
ABSTRAC	V
INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	3
MATERIALES Y MÉTODOS	16
RESULTADOS	20
DISCUSIÓN	22
CONCLUSIONES	24
RECOMENDACIONES	25
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
ANEXO	30

I. INTRODUCCION

Toxoplasma gondii es un protozoo de distribución mundial, afecta a todo animal vertebrado incluyendo aves, reptiles y peces. Es un parasito que merece atención debido a que la población humana expuesta son mujeres embarazadas y personas inmuno comprometidas.

La toxoplasmosis está relacionada con la presencia de felinos domésticos y silvestres ya que ellos son los hospederos definitivos. Los gatos domésticos son la fuente de diseminación de este protozoo en la ciudad y posiblemente responsables de abortos consecutivos en animales y personas tanto en áreas urbanas como rurales.

El porcentaje de personas adultas que han sido expuestos a la enfermedad a lo largo de su vida está alrededor del 50 %, dependiendo de la región, los hábitos de higiene y las condiciones sanitarias.

Estudios de prevalencia en el Perú han sido realizados en varias especies; en ovinos se reportaron prevalencias de 39 y 40%, mientras que en caprinos se halló 59,9%. Generalmente los animales no presentan signos clínicos, pero todos pueden ser portadores considerándose una fuente más para la parasitosis.

En los felinos adultos la toxoplasmosis es de presentación subclínica pero se puede manifestar tanto en felinos menores de 3 meses infectados por primera vez, como en aquellos que sufren una reactivación de una infección latente a cualquier edad.

Si el animal manifiesta signos clínicos es dependiente del órgano afectado y el grado de necrosis. Se pueden evidenciar lesiones en estómago, intestino, hígado, páncreas, pulmón, musculatura, SNC, ojo, piel y ganglios. Además los signos clínicos son más

severos en felinos jóvenes que adquieren la parasitosis por transmisión transplacentaria o lactogénica y en felinos inmunodeprimidos.

En el año 2007 se desarrollo el primer estudio de *Toxoplasma gondii* en los gatos de Lima Metropolitana, hallándose que aproximadamente el 11,2% de las muestras procesadas fueron positivas.

Por tal razón, el presente estudio busca actualizar los datos, así como, determinar la presencia de *Toxoplasma gondii* en gatos (*felis silvestris catus*) de la urbanización Zarate del distrito de San Juan de Lurigancho ya que dicho distrito representa aproximadamente el 12% de la población de Lima Metropolitana y es considerado el distrito más populoso. Además se estima que tiene 240000 habitantes pobres, lo que lo convierte en el distrito con mayor número de pobres en Lima. Este hecho es importante debido a que esta enfermedad está relacionada con los hábitos de salubridad ya que su contagio no solo se da mediante un contacto directo con los felinos sino también puede ser por otros medios como aguas contaminadas y carne infectada El motivo de la obtención de las muestras en campañas de esterilización es debido a lo difícil del manejo de los felinos.

II. MARCO TEORICO

1. *Toxoplasma gondii*

1.1. Generalidades

Toxoplasma gondii es un parásito con una especificidad muy baja ya que su gama de hospederos intermediarios es amplia y tiene diversas formas de propagación, además su distribución es mundial (1) y en los animales de producción es importante ya que causa abortos y enfermedades del recién nacido provocando serias pérdidas económicas. (2)

1.2. Taxonomía

Reino:	Protista.
Subreino:	Protozoa.
Phylum:	Aplicomplexa.
Clase:	Sporozoa.
Subclase:	Coccidia.
Orden:	Eucoccidia.
Suborden:	Eimeriideae.
Familia:	Eimeridae
Género:	<i>Toxoplasma</i>
Especie:	<i>gondii</i> .(3)

1.3. Morfología

Toxoplasma gondii presenta tres formas principales: 1) taquizoito o forma proliferativa denominada también trofozoito ;2) bradizoito también denominada merozoito,o cistozoito que se encuentra enquistados en los tejidos y 3) ooquiste que se forma exclusivamente en el intestino de los felinos (4).

El taquizoito es arqueado, la porción anterior más fina lleva el “complejo apical”, por detrás el núcleo eucariótico y el aparato de golgi; este protozoo mide 4 a 8 μm de longitud por 2 a 3 μm ancho (5).El bradizoito es esférico mide 50-200 μm de diámetro. El ooquiste mide 12-14 μm de diámetro (5) (Ver Anexo 1,2).

1.4 Ciclo biológico

Toxoplasma gondii es de ciclo de vida indirecto, donde los hospederos definitivos son los felinos tanto domésticos como silvestres. En el ciclo biológico se describen dos fases:

- Fase entero epitelial: Sólo se desarrolla en el hospedero definitivo (felinos).
- Fase extra intestinal: se da en hospedadores intermediarios así como en los felinos (6).

En el ciclo entero epitelial el hospedero definitivo se infecta preferentemente por la ingestión de ooquistes esporulados o quistes con bradizoítos; los pseudoquistes no resisten bien la digestión. En el intestino quedan libres los zoitos que invaden las células de la mucosa intestinal, realizando hasta cinco esquizogonias. Luego de esto se produce la gametogonia donde se realiza la diferenciación de macro y micro gametos, y tras la fecundación, se forma el cigoto, que se reviste de una cubierta para dar lugar al ooquiste, el cual sale con las heces. La esporogonia se produce en el medio ambiente cuando las condiciones son favorables, formándose dos esporoquistes con cuatro esporozoitos. El periodo pre patente es de 3 a 5 días y el patente de 7 a 20 días.(6)

En la fase extra intestinal los hospederos intermediarios así como también los felinos se infectan mayormente por la ingestión de ooquistes esporulados en pastos y suelos contaminados, así como por pseudoquistes y quistes debido al carnivorismo (6).

Cuando un hospedero intermediario ingiere un ooquiste, los parásitos son liberados en el tubo digestivo e invaden distintas células ahí se multiplican velozmente por endopoligenia dando lugar a la formación de pseudoquistes o agrupación de taquizoitos que se encuentran de 8-32 por células dentro de una vacuola (7).

Luego estos taquizoitos o pseudoquistes por endodiogenia formaran bradizoitos que corresponden a la fase crónica de la enfermedad. Estos bradizoitos se enquistan principalmente en cerebro, diafragma, corazón, tanto en los hospederos intermediarios como en los definitivos. (Ver Anexo3) (6).

Los resultados de un reciente estudio confirma que los periodos pre-patentes de eliminación de ooquistes de *Toxoplasma gondii* dependen de la fase (la ingestión de bradizoitos tiene un periodo prepatente mas corto que la ingestión de esporozoitos) y no de la dosis (8).

Los gatos y otros felinos son hospederos definitivos que excretan los ooquistes y todos los demás animales son huéspedes intermediarios que albergan quistes en los tejidos. Se advierten tres estadios infecciosos: Esporozoito en los ooquistes, taquizoito (estadio de multiplicación activa) y bradizoito (estadio de multiplicación lenta) encerrados en los quistes tisulares. Los ooquistes son excretados en las heces mientras los taquizoitos y bradizoitos se encuentran en los tejidos (9).

El ciclo entero epitelial en felinos puede llevarse a cabo entre 3-10 días posterior a la ingesta de quistes tisulares y ocurre hasta en un 97% de los gatos. Sin embargo, luego de la ingesta de oocistos o taquizoitos, la formación de oocistos se retrasa hasta 18 días o más y sólo un 20% de los gatos desarrolla una manifestación evidente. Mientras que en el ciclo extraintestinal es compartido por todos los animales y no depende si se ingieren quistes tisulares u ooquistes.(10)

1.5 Transmisión

En los hospederos definitivos e intermediarios la transmisión es de forma horizontal principalmente. Esta dada tanto por fecalismo como por carnivorismo, es decir, por ooquistes liberados por el gato en las heces y esporulados en el ambiente como por la ingestión de carne que en su interior contienen bradizoitos forma capaz de resistir la digestión (11).

También existe la transmisión vertical, a través de la cual la madre gestante pasa la infección por vía transplacentaria al feto que se desarrolla en su útero (11,12). Esta transmisión vertical corre a cargo de los taquizoitos que aislados o dentro de sus pseudoquistes, pueden hallarse circulantes por el torrente circulatorio de la madre durante el periodo primario o agudo de su infección, también puede ser adquirida por la transfusión de sangre, trasplante de tejidos y leche no pasteurizada (11,12). Dada la corta duración de este periodo proliferativo, que dura unas pocas semanas, la madre gestante sólo puede transmitir la infección al feto cuando ha adquirido la enfermedad poco tiempo antes de iniciarse el embarazo o cuando la adquiere en el transcurso del mismo (12). El feto es susceptible de ser infectado en cualquier momento del embarazo y la severidad de las lesiones será mayor entre más temprano el feto se infecte. Sólo el 10% de los fetos infectados durante el primer trimestre de la gestación presenta infecciones subclínicas, el 90% restante presenta cuadros clínicos severos y variadas manifestaciones clínicas donde se observa abortos, reabsorciones (11).

Un estudio realizado en Cuba en el año 2010 señala que de 562 muestras de sangre de pacientes aparentemente sanos resultaron positivas a *Toxoplasma gondii* 267 muestras. Esto no tiene mayor importancia en pacientes inmuno competentes pero cobra una gran importancia en aquellos pacientes inmunosuprimidos y mujeres embarazadas (13).

Investigaciones recientes han esclarecido en cierta forma la infección de los pobladores de la selva tropical, donde no hay gatos domésticos y los pobladores no consumen carne cruda. Se ha demostrado que varias especies de félidos silvestres pueden

desarrollar ooquistes en su intestino. El hábito de los felinos de evacuar cerca del agua explicaría la alta tasa de reactividad de los pobladores que habitan cerca de los ríos (4).

La toxoplasmosis se ha identificado como causa de morbilidad y mortalidad en mamíferos marinos. Estos animales tal vez contraigan la enfermedad a través de los residuos líquidos contaminados que se vierten en el océano. Los moluscos o invertebrados marinos pueden actuar como hospederos paraténicos (10).

1.6 Respuesta inmunitaria

La respuesta inmunológica del hospedero inmunocompetente contra *Toxoplasma gondii*, en el curso de la infección aguda es responsable del enquistamiento del parásito en la musculatura esquelética, cerebro y otros órganos. En este aspecto, los taquizoitos adquieren la forma bradizoítica, la cual puede permanecer latente por toda la vida del individuo sin causar daño o muerte. Sin embargo en pacientes inmunosuprimidos la toxoplasmosis es una infección mucho más severa, siendo considerada entre las enfermedades oportunistas de mayor frecuencia (14).

Se sabe que la mayoría de personas adultas adquieren rápidamente inmunidad antes de que se presenten lesiones, síntomas o signos. Pero la mayoría de niños infectados en el útero, aunque no siempre presenten síntomas al nacer, albergan un número tan elevado de parásitos que acaban por sufrir lesiones. Esto demuestra lo importante de que la respuesta inmunitaria este madura para que la infección no presente signos clínicos. Esta madurez se alcanza en ratas en la segunda semana de vida, en pollos a los dos días de la salida del cascarón; en gatos se da al tercer mes y en los niños entre los seis a doce meses. (15)

Los quistes al llegar al estómago deben pasar la barrera natural del jugo gástrico. Después de multiplicarse en el intestino, los taquizoitos se propagan a los ganglios mesentéricos y por vía hemolinfática invaden los macrófagos y otras células nucleadas (16).

La respuesta inmune contra el *Toxoplasma gondii* activa tanto la respuesta humoral (anticuerpos) como la celular (Linfocitos T y sus productos).

La primera respuesta que tiene el cuerpo se da a nivel de los macrófagos, quienes activan la inmunidad T dependiente.

Los anticuerpos, al actuar en conjunto con el complemento, pueden eliminar a los microorganismos libres en los líquidos corporales y así disminuir la diseminación del parásito (17)

El primer anticuerpo que produce el organismo frente a la toxoplasmosis es la IgM características de la fase aguda. Estas aparecen a partir de la primera semana alcanzando su máxima concentración al mes y van disminuyendo aproximadamente en los 6 meses posteriores.

Luego aparecen las IgG características de la fase crónica. Estas aparecen a partir de los 12 a 14 días alcanzando el pico máximo alrededor de los 2 a 3 meses y permanecen durante años (17,18).

Sin embargo, la inmensa mayoría de las primeras infecciones son asintomáticas, después de una o dos semanas se forman los anticuerpos específicos y a las tres o cuatro semanas, hay inmunidad celular protectora con infiltrado inflamatorio de linfocitos y macrófagos. Las personas inmunodeficientes generalmente tienen reactivación de la neuroinfección por ruptura de los quistes; el parásito invade los astrocitos y la microglía, generándose la encefalonecrosis focal. A nivel citomolecular se ha observado la participación de los linfocitos CD4+ y CD8+ productores del interferón gamma y del factor de necrosis tumoral alfa (16).

Estas dos citoquinas activan los macrófagos (efecto parasitostático) e inducen la síntesis de radicales libres del oxígeno y la formación de óxido nítrico (No parasiticida). El fagocito infectado produce también interleucinas -12 (IL-12) e interleucina I-beta (IL-1 β), las que de modo sinérgico activan a las células asesinas naturales (NK) capaces a su vez de lisar las células infectadas. El IFN γ ocasiona también carencia de triptófano e inhibe la replicación del *Toxoplasma gondii* (5,16)

Según estudios con infecciones experimentales en roedores, la inmunidad citomediada dependiente del interferon γ (IFN- γ) y los factores humorales son importantes en la resistencia contra la encefalitis por toxoplasma. La resistencia está causada por la interacción entre los linfocitos B y T, las células no T productoras de IFN- γ , las microglías, los astrocitos y las células dendríticas (17,18).

1.7 Epidemiología

Los factores de riesgo aumentan para los hospederos intermediarios como para los hospederos definitivos cuando estos se encuentran en climas cálidos y húmedos, zonas de poca elevación sobre el nivel del mar ya que el *Toxoplasma gondii* puede sobrevivir y esporular en agua salada, así como permanecer viable durante 6 meses en una amplitud térmica de 4-24°C.(10)

El humano puede adquirir la infección mediante:

- Ingesta de carne contaminada con **quistes tisulares** cruda/malcocida o su manipulación.
- Ingesta de agua/alimentos contaminados con **ooquistes** esporulados

Transmisión congénita (transplacentaria) — **taquizoítos**

- Manipulación inadecuada de las cajas de arena de gatos/ otros objetos contaminados con **ooquistes**
- Trasplante de órganos —**quistes tisulares, taquizoítos**
- Transfusión sanguínea — **taquizoítos**
- Inoculación accidental en laboratorios (19).

Como en otras enfermedades, la tasa de reactivos se incrementa con la edad, al aumentar las posibilidades de adquirir la enfermedad (4).

La progresión y gravedad de la enfermedad difiere entre pacientes por variables que incluyen la genética del hospedero y el parásito.

Algunos investigadores mencionan la existencia de linajes clónales de *Toxoplasma gondii* los cuales, son llamados tipo I, II y III, corresponden bien con el análisis genético del locus polimórfico del antígeno de superficie SAG2. Las cepas tipo II y III presentan igual prevalencia en animales naturalmente infectados; sin embargo, el genotipo II está asociado con la mayoría de aislamientos humanos (20).

Según un estudio realizado en Norte América la cepa de tipo III fueron frecuentemente encontradas en animales, mientras que la cepa II se asocia con la reactivación de infecciones crónicas y la cepa de tipo I se encuentra asociada más frecuentemente a Toxoplasmosis congénita humana (21).

La prevalencia de personas infectadas se ha efectuado por medición de los títulos de anticuerpos séricos específicos. En Francia, 90% de las personas han sido infectadas al cumplir los 40 años. En la República Mexicana, la prevalencia poblacional determinadas con técnica de inmunofluorescencia fue de 30,0% y la mayor prevalencia se da en las regiones húmedas(10).

Los estudios realizados por E.Roch mostraron infecciones en gatos del 52%, y la cifra para otros animales fueron: 36,0% en conejos, 10,5% en cerdos y solo 4% en perros. Este mismo autor encontró 72,2% personas con uveítis anterior 80,7% de 1327 enfermos afectados por coreorretinitis. La tasa de infección congénita fue de 2% en Ciudad de México contra 3% en Paris, Francia (5).

La transmisión del *Toxoplasma gondii* es más eficaz cuando los gatos consumen quistes tisulares (carnivorismo) y cuando los hospederos intermediarios consumen ooquistes (transmisión fecal oral) (9).

La infección de *Toxoplasma gondii* hace cambiar el comportamiento de los roedores disminuyendo la aversión a los gatos. Esto hace que aumente la probabilidad de que el hospedero definitivo sea infectado (22).

Un estudio realizado en estados Unidos y el mundo demuestra que el 60% de los gatos que son serológicamente positivos adquieren la infección por el hábito de salir a la calle ya que ellos son más susceptibles a la exposición de ooquistes del medio y la ingesta de presas (23).

1.8 Signos clínicos y lesiones

Los signos clínicos se pueden dar tanto en gatos infectados por primera vez como en aquellos que sufren reactivación de una infección latente. La severidad del cuadro clínico depende del órgano afectado y del grado de necrosis. Las lesiones se pueden producir en cualquier órgano como estómago, intestino, hígado, páncreas, pulmón, musculatura, sistema nerviosos central. Los signos clínicos son más severos en felinos jóvenes con diseminación transplacentaria y en felinos jóvenes inmunodeprimidos (24).

En humanos la infección es generalmente asintomática. Las dos principales poblaciones afectadas son las mujeres embarazadas y las personas inmuno deficientes como personas VIH positivas o transplantadas. Si una mujer gestante se infecta el daño al feto va a ir aumentado con respecto al tiempo de embarazo, pudiéndose presentar desde abortos hasta malformaciones, ceguera, daño visceral, coreoretinitis, hidrocefalia y calcificaciones intracerebrales (24,25). En enfermos de VIH se suele presentar encefalitis subaguda necrotizante caracterizada por convulsiones, hemiparesia, dislalia, alteraciones sensoriales, mareos, somnolencia, estupor, parálisis de nervios craneales. La toxoplasmosis ocular en 10 a 50% de los casos precede a la lesión del sistema nervioso central pudiendo ser el primer síntoma de diseminación (5,26, 27). La infección en animales es tan severa como en los humanos (24,25).

1.9 Diagnóstico:

Las pruebas de diagnóstico utilizadas de rutina se dividen en coproparasitológico y serológico.

Coproparasitología:

Se dividen en cuantitativo y cualitativo. Para el diagnóstico de *Toxoplasma gondii* de la forma del ooquiste se prefiere un método cualitativo. Dentro de los métodos cualitativos tenemos sedimentación y flotación. Para la detección de ooquistes se prefiere el método de flotación con sulfato de zinc. En todos los casos es necesario el diagnóstico diferencial con el resto de coccidios propios del gato (6).

Es importante recordar que existe otro coccidio muy parecido al ooquiste de *Toxoplasma gondii* que también se encuentra en las heces de los felinos que es el *Hammondia Hammondii* (28)

Serológica.

Dentro del serológico podemos encontrar el método de hemoaglutinación indirecta (HAI), ELISA, inmuno fluorescencia indirecta (IFI).

La hemoaglutinación indirecta (HAI):

Se basa en el principio de la inhibición de la hemaglutinación. Para su realización se precisan glóbulos rojos tratados con glutaraldehído a los cuales se les ha unido la misma sustancia que se desea detectar o cuantificar. Si estos glóbulos rojos son puestos en presencia de anticuerpos preparados frente a dicha sustancia se producirá su aglutinación. Por el contrario, cuando se añade un suero problema que contiene la sustancia a cuantificar entonces los anticuerpos se unirán a dicha sustancia y no a los glóbulos rojos. En este caso no se producirá la hemaglutinación. Por tanto, *aglutinación* (+) indica ausencia de la sustancia a estudiar, y *aglutinación* (-) indica presencia de la misma (29).

La principal deficiencia de este método es que no detecta infecciones agudas pues alcanza títulos diagnósticos a los 30 días. Para infecciones agudas se utiliza el 2-mercaptoetanol (2-ME). En condiciones de infección aguda, el patrón de aglutinación cae varios títulos, denotando la presencia de este anticuerpo de fase aguda y proporcionando la diferenciación entre infecciones agudas y crónicas (15).

Inmunofluorescencia Indirecta (IFI):

El principio básico es utilizar un anticuerpo marcado con una sustancia fluorescente para detectar la presencia de un antígeno en los tejidos. En la reacción indirecta, el

anticuerpo primario no se conjuga con la sustancia fluorescente, ya que esta se encuentra asociada a un segundo anticuerpo, el cual se halla dirigido contra las inmunoglobulinas del animal del cual se obtuvo el anticuerpo primario. De esta forma al aumentar la cantidad de sitios activos de los antisueros marcados, se amplifica la reacción y por ende, la sensibilidad del sistema (14).

Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA):

Esta técnica permite determinar en forma cuantitativa la concentración de anticuerpos o antígenos, mediante el uso de uno de ellos en fase sólida y el otro en solución. Por lo general, el material fijado a la fase sólida es aquel cuya presencia o concentración se quiere determinar. A este se le fija un anticuerpo específico marcado con una enzima (método directo) o un complejo Ac-anti-Ac marcado (método indirecto, el cual puede ser puesto en evidencia por la adición del sustrato (24).

Reacción en Cadena de la Polimerasa :(PCR)

Esta técnica se fundamenta en la aplicación específica de determinados genes o fragmentos de genes, en concreto, el gen B1 o parte del gen P30.

La técnica es muy sensible y los experimentos muestran que el método de PCR puede detectar 0,1 pg de ADN del *Toxoplasma gondii*.(14)

1.10 Tratamiento:

Las mujeres que adquieran la primoinfección durante el embarazo deben de ser tratadas. La espiramicina es el antibiótico de elección en el tratamiento de toxoplasma en hembras gestantes. Durante el primer tercio de gestación. Luego se puede variar la medicación a una combinación de sulfanamidas y de pirimetaminas. Por tal motivo, es recomendable efectuar un análisis serológico en mujeres al principio de la gestación (4).

La clindamicina es el tratamiento de elección de la toxoplasmosis clínica en perros (10-20 mg/kgpv/12h, 2 semanas) como en gato (12-25 mg/kgpv/12h, 2 semanas) por vía parenteral, ya que por vía oral se producen casos de intolerancia con cuadros de anorexia, vómitos, diarrea o ambos (6,30).

1.11 Prevención y control:

Los gatos que viven en el exterior presentan un mayor riesgo de adquirir la toxoplasmosis debido a los hábitos de caza (31,32, 33,34).Y que generalmente las presas presentan bradizoitos en su musculatura, siendo esto un factor importante ya que basta un solo bradizoito para producir la infección (35).

Es por ello que se recomienda tanto en personas como en animales evitar el consumo de alimentos crudos ya que al alcanzar temperaturas mínimas de $-12,8^{\circ}\text{C}$ o máximas de $67,8^{\circ}\text{C}$ los quistes mueren (36,37 ,38).

También se recomienda el uso de cajas de arena para evitar que los felinos defecuen en cualquier lugar y así restringir la diseminación de los ooquistes (34, 39).

Las mujeres previa y durante la gestación debe desarrollar exámenes de sangre con títulos de anticuerpos de *Toxoplasma gondii*. (7)

El perro puede ser considerado como un animal centinela debido al estrecho contacto con el medio ambiente, gatos, modo de crianza muy parecido al del gato y a su fácil manipulación (40).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Espacio y tiempo:

El estudio se realizó en la ciudad de Lima, distrito de San Juan de Lurigancho urbanización Zarate. El tiempo que se desarrolló la investigación fue desde julio hasta septiembre del 2013.

Las muestras fueron obtenidas en campañas de esterilización que se realizaron en el distrito. El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el laboratorio central de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Alas Peruanas.

2. Población y muestra

La población es los felinos domésticos del distrito de San Juan de Lurigancho. La muestra se obtuvo de los gatos que asistieron a campañas de esterilización en dicho distrito

El tamaño muestral se calculó en base a la fórmula de poblaciones infinitas tomando como referencia la prevalencia previa $(p) = 0.112$. (8)

Las muestras fueron seleccionadas en forma aleatoria sin distinción de género (macho, hembra), raza, edad.

$$n=(z^2 \cdot p \cdot q)/e^2$$

n=Tamaño muestral mínimo

p=Probabilidad de éxito (prevalencia)

q=1-p (probabilidad de fracaso)

e=Precisión (0.05)

z=Distribución estándar con 95% de confianza

Reemplazando:

$$n=(1.96^2 \times 0.112 \times 0.888)/0.05^2$$

El tamaño muestral obtenido por la formula fue de 153 animales como mínimo, habiéndose utilizado 168 muestras.

3. Diseño de la investigación

Para la obtención del sujeto de estudio se busco contactarse con grupos que realizan campañas de esterilización en el distrito de San Juan de Lurigancho en gatos (*Felis silvestris catus*).en la urbanización Zarate Luego bajo el consentimiento del dueño se extrajo sangre de la vena yugular o cefálica. La extracción fue de aproximadamente 2ml en tubos vacutainer sin anticoagulante. Luego las muestras fueron trasladadas al laboratorio central de la Universidad Alas Peruanas. (Ver Anexo 4). En el laboratorio se procedió a centrifugar la muestra con el objetivo de extraer el suero. Luego se extrajo el suero y fue colocado en viales de 1.8ml para ser conservado a -20°C hasta el procesamiento con el kit HAI Wiener lab (41).

En la investigación se consideraron las siguientes variables:

- Edad
- Sexo
- Alimentación

- Acceso a la calle

4. Materiales y equipos

1. Pipetas

2. Tips

3. Mandil

4. Guantes

5. Kit de hemaglutinación.

Reconstituyente HAI

Antígeno HAI

GR no sensibilizados

Buffer HAI

Solucion Proteica

2-Mercaptoetanol

Control positivo

Control negativo

6. Agujas

7. Tubos vacutainer

8. Viales

9. Tips

10. Bozal para gatos

11. Bolsa de contención para gatos

12. Centrifuga

5 Procedimientos

5.1 Elaboración de publicidad

Se elaboraron volantes informativos, explicando a los asistentes a la campañas de esterilización ¿qué es el *Toxoplasma gondii*? ¿Cómo se transmite? y qué medidas tomar para evitar el contagio.

5.2 Permiso de los dueños y registro de los datos de los animales.

Por escrito se le pide los datos del propietario y el respectivo permiso de consentimiento para extraer la muestra al gato. Una vez procesado se remitirá los resultados al dueño (Ver Anexo 5)

5.3 Extracción de muestra

Usando una aguja de 23" se extrajo aproximadamente 2ml de sangre, la cual pudo ser de la vena cefálica como de la yugular dependiendo de la docilidad del gato. La sangre fue colocada en tubos vacutainer de sin anticoagulante.

5.4 Obtención de suero

La sangre fue centrifugada a 3000 rpm durante 10 minutos con la finalidad de extraer el suero. Este suero fue absorbido con una jeringa de 1ml y transportado a viales de 1,8ml para su almacenamiento a menos 20⁰C.

5.5 Utilización del kit

Titulación sin 2-ME

- Las policubetas fueron limpiadas con un trapo húmedo para eliminar la carga electrostática.
- Se colocó 25µl de diluyente de suero de Hemoaglutinación indirecta en todos los pocillos de la policubeta.
- Enseguida se colocó 25µl de suero control y de la muestra a ensayar en los pocillos de la fila 1. Donde se utilizó tantas columnas horizontales como sueros se procesaron.
- Se realizaron diluciones a partir de la fila 1 (dilución $\frac{1}{2}$) pasando los microdilutores hacia la fila 2 (dilución $\frac{1}{4}$) y así sucesivamente hasta la fila 6 (dilución $\frac{1}{64}$).
- Luego se colocó en la fila 1 y 2 (dilución $\frac{1}{2}$ y $\frac{1}{4}$). 25 µl de GR no sensibilizado para el control de la heterofilia.
- En el resto de los pocillos, se agregó 25 µl del antígeno .HAI.
- Se agitó la policubeta durante 30 segundos.
- Luego se dejó en reposo en un lugar seguro donde no hallan vibraciones durante 90 minutos.
- Por último se procede a la lectura:

Titulación con 2-ME

- Colocar una gota de suero o controles en cada uno de los pocillos de la columna 1 (y 7 si es necesario). empleando goteros .

- Agregar un gota de 2-ME al 1% a los mismos pocillos utilizando un gotero descartable.
- Sellar los pocillos y agitar la policubeta golpendo con los dedos en las paredes laterales.
- Incubar durante 30-60 minutos a 37°C o 90 minutos a temperatura ambiente.
- Retirar la cinta adhesiva, pasar un trapo húmedo por la base de la policubeta y, con microgotero de 25µl, colocar una gota de diluyente de suero HAI en los pocillos restantes de las hileras utilizadas.
- Y realizar los pasos desde el tercer punto hasta el octavo de la técnica sin mercapto.

6 Interpretación de los resultados

Titulación sin 2-ME

Títulos ≥ 16 significan mayor probabilidad de infección toxoplásmica.

A fin de determinar una primoinfección reciente deben procesarse 2 muestras tomadas con un intervalo de 2-3 semanas. Un aumento de título mayor de 2 diluciones entre la 1ra y 2da muestra indican infección recientemente adquirida.

Titulación con 2-ME

La aparición de títulos bajos en la titulación sin 2-ME y reactividad con glóbulos rojos no sensibilizados que desaparece al efectuar la titulación con 2-ME y/o absorción con GR no sensibilizados, serían indicativos de la existencia de heterofilia. Por el contrario, títulos elevados sin el empleo de 2-ME que disminuyen considerablemente al utilizar 2-ME indicarían la presencia de IgM, característica de infección aguda. Los controles de heterofilia en este caso deben dar reacción negativa en el suero sin tratar o tras absorción con GR no sensibilizados.

No reactivo: presencia de un sedimento en forma de botón o anillo de bordes regulares.

Reactivo: formación de una película o manto que cubre el 50% o más del fondo de los pocillos.

Se tomo como positivo valores mayores a 1/16 (punto de corte) de acuerdo al kit comercial Toxotest HAI (41).

7 Diseño estadístico:

El diseño estadístico se baso en la estadística descriptiva

- El intervalo de confianza se obtuvo:

$$IC = p \pm Z \sqrt{p \cdot q / n}$$

- La prevalencia se obtiene de la siguiente manera:

$$\% = (\text{Número de animales positivos} / \text{Total de animales}) \times 100 + - IC 95\%$$

- Chi cuadrado

$$x^2 = n(ad-bc)^2 / [(a+c)(b+d)(a+b)(d+c)]$$

- OR

$$OR = ad/bxc$$

IV RESULTADOS

1. Determinación de anticuerpos frente a *Toxoplasma gondii* en felinos domesticos (*Felis silvestris catus*) en el distrito de San Juan de Lurigancho.

En el cuadro 1 de un total de 168 muestras obtenidas, 26 fueron positivos a *Toxoplasma gondii* mediante el método de HAI lo cual representa el 15,48% y 142 negativas siendo un 84,52%.

Cuadro N 1°. Determinación de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* mediante la HAI en gatos (*Felis silvestris catus*) del distrito de San Juan de Lurigancho en el año 2013.

Método de hemaglutinación indirecta (HAI)								
	Positivos			Negativo			Total	
	n	%	IC	n	%	IC	n	%
Anticuerpos contra <i>Toxoplasma gondii</i> (Títulos ≥ 16)	26	15,48	0,1547±0,0547	142	84,52	0,8452±0,0547	168	100

Se observa una policubeta con muestras positivas y negativas en el anexo 6.

2. Determinación de felinos domésticos (*Felis silvestris catus*) positivos según las variables de estudio.

Los animales positivos según edad menores o iguales a 1 año fueron 8,51% (8/94), de mayores a 1 años fueron 24,32% (18/74), mientras que según el sexo las hembras y los machos resultaron positivos en un 15,38% (20/130) y 15,79% (6/38) respectivamente. En cuanto al tipo de alimentación los que consumen balanceado y comida casera resultaron positivos 13,51% (5/37) y 16,03% (21/131) respectivamente. Por último los felinos con acceso a la calle presentaron 16,67% (21/126) y los que no 11,9 (5/42).

Cuadro N 2°. *Toxoplasma gondii* en gatos (*Felis silvestris catus*) de acuerdo a las variables: edad, sexo, alimentación y acceso a la calle en el distrito de san Juan de Lurigancho.

Variable		Total de muestras	Positivos	
			n	%
Edad(años)b	≤1	94	8	8,51
	1< a mas	74	18	24,32
Sexo	Hembra	130	20	15,38
	macho	38	6	15,79
alimento	balanceado	37	5	13,51
	casero	131	21	16,03
Acceso a la calle	sin acceso	42	5	11,90
	Con acceso	126	21	16,67
Total		168	26	<10;20>

3. Determinación de X^2 , O.R e intervalo de confianza de los resultados obtenidos

Cuadro N 3°

Variable		X^2	O.R	I.C 95%	interpretacion
Edad	≤ 1	*	3,46	1,46 ; 8,21	Existe asociación
	1 < a mas	7,91			
Sexo	Hembra	0,003	0,97	0,38 ; 2,49	No existe asociación
	macho				
alimento	balanceado	0,14	1,22	0,43 ; 3,46	No existe asociación
	casero				
Acceso a la calle	sin acceso	0,55	1,48	0,52 ; 4,17	No existe asociación
	Con acceso				

- *El valor de 7,91 obtenido de X^2 al ser mayor que 3,84 de la tabla de chi cuadrado, nos indica que existe una asociación entre la edad y el hecho que se presente la enfermedad y mediante el IC podemos decir que existe mayor riesgo en los animales mayores de 1 año

4. Cuadro en donde se describe la cantidad de muestras sin 2ME con respecto a cada titulación y su variación al utilizarse el 2ME.

Cuadro N4°

n	Titulación inicial sin 2ME	n	Titulación con 2ME	Etapas de infección
		6	1/64	
20	1/64	3	1/32	Crónico
		3	1/16	Agudo
		8	Negativos	Indeterminado
4	1/32	2	1/32	Crónico
		1	1/16	
		1	Negativo	Indeterminado
2	1/16	1	1/16	Agudo
		1	negativo	Indeterminado

VIII DISCUSIÓN

Se evaluaron 168 felinos domésticos del distrito de San Juan de Lurigancho (cuadro 1), para determinar la exposición de *Toxoplasma gondii* mediante la recolección de suero sanguíneo. Detectándose que el 15,48% (26/168) presenta anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*. Al compararlo con el estudio realizado por Cerro (14) se puede decir que el resultado hallado fue similar ya que él halló $11,2 \pm 4,6\%$ y en el presente estudio se halló $15,48 \pm 5,4\%$. Además en ambos estudios se muestreo animales sin signos clínicos y la literatura menciona que los animales pueden estar expuestos a la parasitosis dependiendo de la edad, estado inmunitario, tipo de alimentación, cepa y carga parasitaria (1, 3, 7). Así mismo, Schaer (31) dice que independientemente del lugar donde viven los animales pueden estar alimentándose con carne parasitada al consumir roedores y aves de su entorno.

Con respecto a la edad los resultados estadísticos del X^2 nos estaría diciendo que a mayor edad existen más posibilidades de adquirir la enfermedad, el valor de 3,46 que se obtuvo en el OR de la edad, nos indica que existe 3,46 veces más posibilidades que un animal mayor de 1 año se contagie frente a uno menor de 1 año. Un factor importante es la transmisión horizontal que se da por el consumo de carne cruda o consumo de ooquistes y vertical (6,7). Entre los mayores de un año y menores se encontró una proporción de 3,46:1 corroborando lo dicho por Vignau, Morales, Dubey(11,12,40)

Al evaluar la variable genero se obtuvo los porcentajes de 15,38% y 15,79% evidenciando que tanto las hembras como los machos están expuesto al parasito (32) pero se contrapone a lo expresado por Ovalle (33) que manifiesta que las

hembras están más expuestas ya que ellas cazan para alimentar a sus crías y también para enseñarles como cazar.

La alimentación de los felinos por su instinto de caza y la costumbre de los propietarios del distrito de San Juan de Lurigancho en darle carne cruda predispone a la infección (1, 24, 5). Por ello que no se observa diferencia en los porcentajes de los animales que comen alimento balanceado y casero siendo de 13,51% y 16,03% respectivamente confirmándose que ambos grupos presentan la misma posibilidad de estar expuestos (24, 33,34) Esto se confirma al calcular el X^2 ya que no se encontró asociación significativa entre las diversas formas de alimentación. Esto se contrapone con lo hallado con Svoboda (37) ya que el haya una mayor seroprevalencia en animales que son alimentados con dietas que incluyen carnes crudas o mal cocidas y viseras.

Por último en el cuadro 2 se evaluó animales que no tenían acceso a la calle y aquellos que si tenían hallándose un porcentaje de 11,9 y 16,67 % respectivamente y la literatura dice (1, 31,34) que la infección se presenta más en animales de vida libre. Al comparar el estudio con el realizado por Castillo, Elmore y Lopez (36,35,36) se llega a un resultado similar. Pudiéndose deber a la presencia de roedores o aves independientemente de los hábitos de salida de los felinos

Al usar el kit de HAI sin 2ME se obtuvo 26 muestras positivas lo cual indica la presencia de IgG y IgM característica de la infección crónica. Con el fin de poder determinar cuántas muestras se encontraban en la fase aguda se procedió a analizar con 2ME solo las muestras anteriormente positivas. Se obtuvieron 16 positivos lo que indica solamente la presencia de IgG. Esto nos puede decir por diferencia cuantas muestras estan cursando por la fase aguda es decir por una infección reciente o una reinfección. Esto no significa que necesariamente en ese momento se esté dando la eliminación de ooquistes

VI. CONCLUSIONES

- La presencia de *Toxoplasma gondii* en el distrito de san Juan de Lurigancho Urbanización Zarate fue de $15.5 \pm 5.4\%$.
- Los felinos domésticos de la Urbanización Zarate distrito de San Juan de Lurigancho son seroreactivos a la infección de *Toxoplasma gondii* y pueden ser fuente de infección a la población tanto de humanos como de otros animales
- Entre las variables sexo, acceso a la calle y alimentación no existe asociación
- A mayor edad aumenta la posibilidad de haber estado expuesto al *Toxoplasma gondii*.

VII. RECOMENDACIONES

- Concientizar a los dueños que los felinos no deben de ser usados como control de plagas sino como animal de compañía
- Realizar campañas de esterilización para controlar la población felina ya que existe la transmisión transplacentaria.
- Realizar estudios comparativos entre felinos vagabundos y felinos de casa para determinar la presencia de Toxoplasmosis.
- Evaluar un mayor número de diluciones para poder determinar con mayor exactitud el estado agudo o crónico.

VIII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1) Soulsby E. Parasitología y enfermedades Parasitarias en animales domésticos. México: Editorial Interamericana; 1987.
- 2) Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales 3^a ed. Estados Unidos:OMS;2003;580:88-96.
- 3) Siachoque H. Inmunología diagnostico e interpretación de pruebas de laboratorio. Colombia: Centro Editorial Universidad del Rosario; 2006.
- 4) Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles Comunes.2.^a ed. Estados Unidos: OMS; 1992.
- 5) Carrada Bravo T. Toxoplasmosis: Parasitosis reemergente del nuevo milenio. Rev Mex Patol Clín. 2005; 52(3):152-162.
- 6) Cordero de Campillo M, Rojo FV, Martinez AF, Sanchez MA, Hernandez SR, Navarrete IL. Parasitología Veterinaria. España: Mc Graw-Hill.Interamericana; 1999.
- 7) Vignau M, Venturini L, Romero J, Eiras D, Basso W. Parasitosis Practica y Modelo de la enfermedad Parasitaria en los animales domésticos. Argentina: Facultad de Ciencias Veterinarias; 2005.
- 8) Dubey JP.Comparative infectivity of oocysts and bradyzoites of *Toxoplasma gondii* for intermediate (mice) and definitive (cat) host. Vet parasitol 140:69, 2006.
- 9) Craig E. Greene. Enfermedades infecciosas .2^{da} edición. Buenos Aires Argentina .Editorial intermedica,2008.

- 10) Craig E. Greene: Enfermedades infecciosas 3^{era} edición. Buenos Aires Argentina. Editorial Inter-Medica. 2008.
- 11) Rojas CM. Nosoparasitosis de los rumiantes domésticos peruanos. 2da ed. Lima: Martegraf. 2004:124-128.
- 12) Gallego Berenguer J. Manual de parasitología: Morfología y biología de los parásitos de interés sanitario. Barcelona, Edicions Universitat. 2007.
- 13) Sánchez Artiga R, Góngora Amores W, Goya Batista Y. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en donantes de sangre en la provincia de Guantanamo. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2012; 31(1):101-107.
- 14) Cerró TL. Frecuencia de *Toxoplasma gondii* en gatos de Lima Metropolitana y concordancia entre las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y hemaglutinación indirecta [tesis de grado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2007.
- 15) Frenkel JK. La inmunidad en la toxoplasmosis. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OPS). 1986; 100(3):283-99.
- 16) Hernandez I, Garcia SI. Bioquímica: Toxoplasmosis en el hombre. medigraphic.com. 2003. 28(3):19-25.
- 17) Ettinger SJ, Edward C. Signos clínicos y lesiones: Tratado de Medicina interna veterinaria 7^{ta}. Elsevier. Madrid España. 2007.
- 18) Schaer. Clinical medicine of the dog and cat. 2^{da}. Mason Publishing. 2010.
- 19) Uribarren TB. *Toxoplasma*. Hallado en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/toxoplasmosis.html>. Acceso el 19 febrero de 2014.

- 20) Gallego C, Castaño JC, Giraldo A, Ajzenberger D, Darde ML, Gonzales JE. Características biológicas y moleculares del aislamiento CIBMUQ/HDQ una cepa colombiana de referencia para *Toxoplasma gondii*, Biomedica; 2004; 24:289-90.
- 21) Silbey L,D Mordue,M Robben,D Howe.2002. Genetic approaches to studying virulence and pathogenesis in *Toxoplasma gondii*. The royal society 18:81-87.
- 22) Nelson R,Couto C. Small Animal Internal Medicine 4^{ta} ed.Barcelona,España:Elsevier,2010.
- 23) Gauss C, S Almoría A Ortuño F garcia J,Dubey.2003.Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* Antibodies in Domestic cats from Barcelona, España. J parasitol.89(5): 1067-1068.
- 24) Palmero Colado ML, Carballés PV. Enfermedades infecciosas felinas. Servet editorial-Grupo Asis Biomedía S.L. 2010.
- 25) Quiroz HR. Parasitología y enfermedades Parasitarias de Animales domesticos. MexicoDF Mexico: Editorial Limusa S.A de C.V Grupo Noriega editores; 2005.
- 26) Rozo RU, Alvares CM. Infectología Práctica y Procedimientos. Guías de Práctica Clínica tomo VIII. Bogotá Colombia. Ediciones Medicas Latinoamericanas: 2003.
- 27) Porter RS, Kaplan JL, Homeier BP. Manual Merck de signos y síntomas del Paciente: diagnostico y tratamiento.Editorial Medica Panamericana SA. Madrid España:2010.
- 28) Ash LR, Orihel TC. Atlas of Human Parasitology 5^{ta}ed. Buenos Aires Argentina. Editorial Panamericana.2010.

- 29) González R, Tarazona R, Galiani MD, Espinosa JM, Peña J. Métodos Basados en la unión Ag-Ac. Hallado en:<http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular/inmunologia/tema17/etexto17.htm>. Acceso el 10 de Mayo de 2013.
- 30) Wills J, Wolf A. Manual de medicina felina. Editorial Acriba S.A. Zaragoza – España.1993.
- 31) Schaer M. Medicina clínica del perro y el gato.Masson.2006.Barcelona-españa.106-107.
- 32)Rojas CM. Nosoparasitosis de perros y gatos peruanos. Lima: Martegraf. 2003:44 -48.
- 33). Ovalle F,García A,Thibault J,Lorca M.Frecuencia de Anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en gatos de la ciudad de Valdivia.Bol Chil Parasitol.2000.55(3-4):94-99.
- 34)Leguía GP. Enfermedades Parasitarias de Perros y Gatos epidemiología y control. Editorial de Mar. 1996.Lima Peru.
- 35)Elmore SA, Jones JL,Conrad PA, et al. *Toxoplasma gondii*: Epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. Elsevier.2010; 26(4):190-6.
- 36)Lopez A, Cardoso L, Rodriguez M. Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats from northeastern Portugal. Elsevier. 2008; 155: 184-9.
- 37)Svoboda M, Svobodova V, Effects of breed, sex, age,management and nutrition on the incidence of *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs and cats.Acta Vet Brns.1987;56:315-330.
- 38)Kotula AW, Dubey JP, Sharar AK, et al. Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork.J.Food.Protect 54. 1991:687-690.

- 39)Castillo LV, Noe NM, Falcon NP, Chavez AV. Tipos de crianza de felino domesticos como factor de riesgo para la presentación de infección por *Toxoplasma gondii*. Rev inv Vet Peru. 2012; 23(4): 448-53.
- 40)Morales JT, Noe NM, Falcon NP, Chavez AV. Presencia de gatos como factor de riesgo para infecciones por *Toxoplasma gondii* en canes. Rev inv vet Peru. 2009; 20(1):128-133.
- 41)Weiner lab2000.Toxotest HAI.Rosario-Argentina.

ANEXO

ANEXO 1

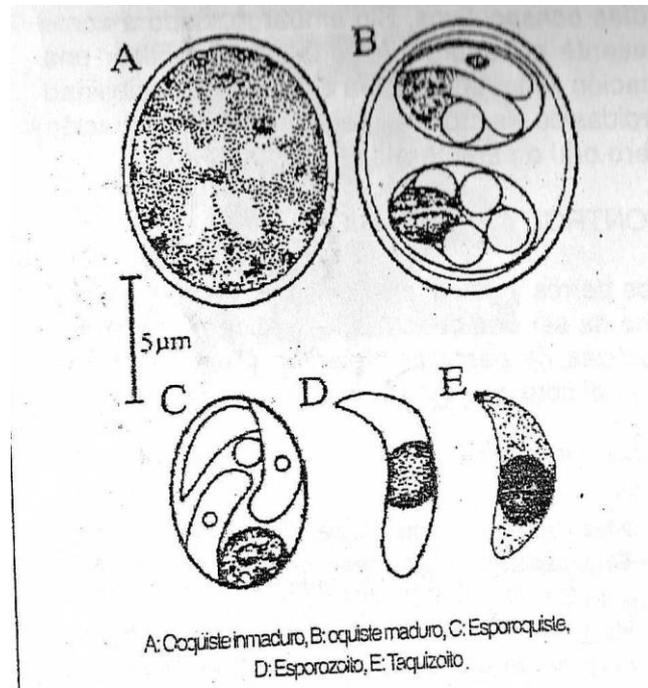


FIGURA 1: Formas infectivas

Fuente Rojas CM; 2004(6).

ANEXO 2

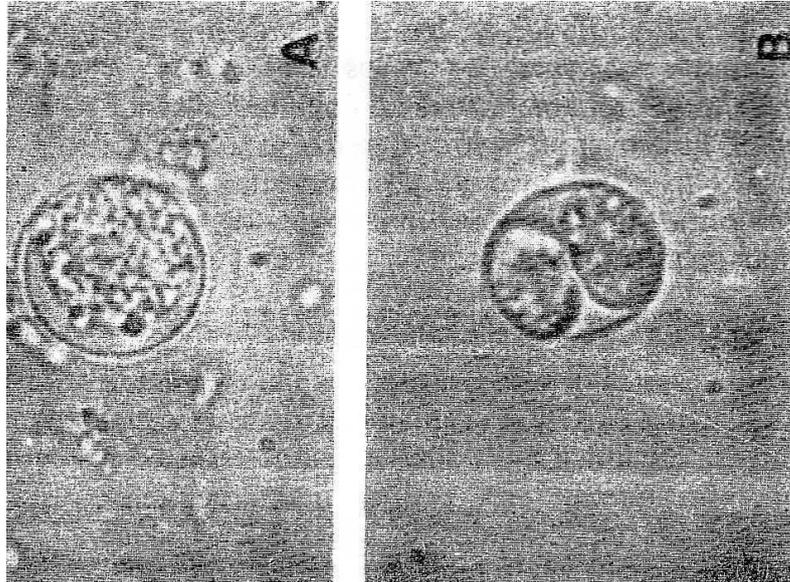


FIGURA 2: Ooquiste sin esporular(A) ooquistes esporulado(B)

Fuente: Soulsby E; 1987 (1).

ANEXO 3

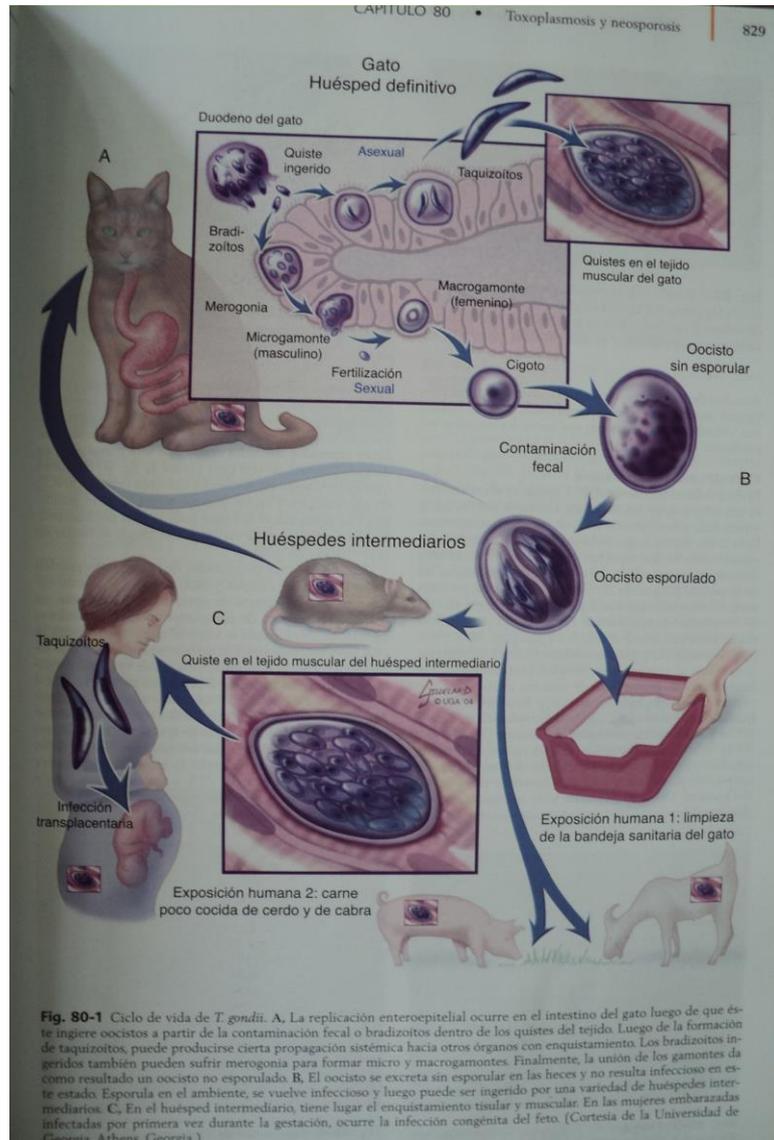


FIGURA 3: Ciclo biológico del parásito.

Fuente: Greene; 2008(9).

ANEXO 4

Formato 1: Carta de permiso para el uso de las instalaciones del laboratorio

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Agropecuarias -EPMV

Señor Decano:

Yo, Italo Roberto Rázuri Gamio; identificado con DNI 41725150. Alumno de la escuela profesional de Medicina Veterinaria con código de matrícula 2007135546. Me dirijo a usted para saludarlo manifestarle que siendo alumno egresado de la Universidad Alas Peruanas, deseo pedirle que me brinde las facilidades para utilizar el laboratorio principal de la facultad, debido a que realizare las practicas de investigación; para la elaboración de mi tesis.

Agradeceré tener a bien atender a lo solicitado.

Lima, de de 2013.

.....

Italo Roberto Rázuri Gamio

Fuente: Elaboración propia, 2013.

ANEXO 5

FORMATO 2: Ficha de registro de animales

Nombre del animal:.....

Edad:..... Sexo:..M H

Nombre del Propietario:.....

Dirección:.....

Correo electrónico:.....

Teléfono:.....

Tipo de alimentación: casera balanceado mixta

Observaciones:.....

Frecuencia de desparasitación:.....

Producto:.....

Fuente: Elaboración propia, 2013.

ANEXO 6

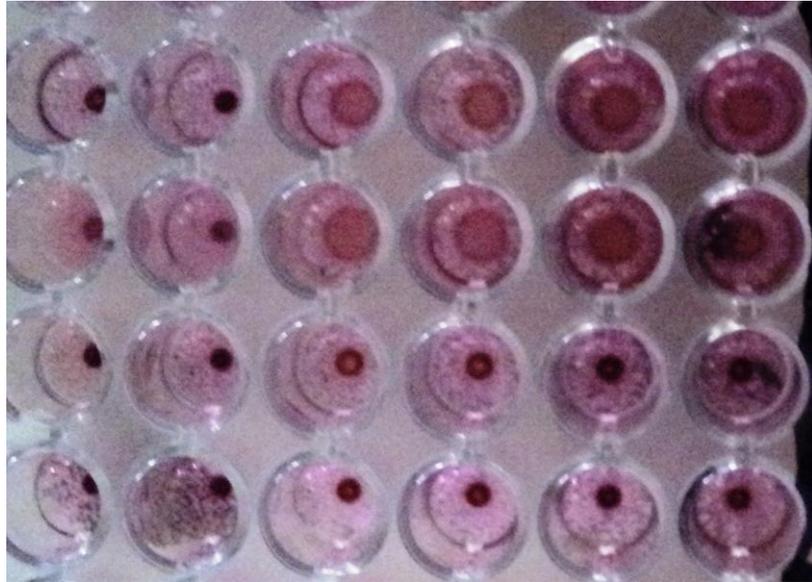


FIGURA 4: Poli cubeta en la cual se observa las dos primeras filas dos muestras positivas y las dos siguientes dos muestras negativas a *Toxoplasma gondii*

Fuente: Elaboración propia, 2014