

INFECCION POR *TOXOPLASMA GONDII* EN AMERINDIOS DE LA SELVA AMAZONICA DE VENEZUELA

MERCEDES DE LA ROSA, JOSE BOLIVAR, HILDA A. PEREZ

Centro de Microbiología y Biología Celular, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, IVIC, Venezuela

Resumen Se hizo una encuesta serológica para *Toxoplasma gondii* en un grupo de Amerindios de la etnia Guajiba, residentes en el estado Amazonas, en el bosque húmedo de Venezuela. Se estudiaron 121 individuos con edades comprendidas entre 4 y 45 años. El 88% de la población mostró evidencia serológica de exposición a *T. gondii*. El perfil de prevalencia y títulos de anticuerpo, para los distintos grupos de edad, es compatible con una exposición frecuente. Las tasas de prevalencia resultaron similares para ambos sexos, pero los títulos de anticuerpos fueron significativamente más elevados entre las mujeres. El estudio sugiere que estas comunidades Amerindias enfrentan factores de riesgo que favorecen la infección con *T. gondii* desde la niñez.

Abstract *Toxoplasma gondii* infection in Amerindians of the Venezuelan Amazon. We conducted a serological survey for *Toxoplasma gondii* in 121 Amerindians of the Guajibo ethnic group, 4 to 45 years of age, inhabiting Amazonas State, in the Venezuelan rain forest. The overall prevalence was 88%. Pattern of prevalence and antibody titres were compatible with constant transmission. Sex differences in antibody prevalence were not detected but antibody titres were significantly higher in females. The study is consistent with the presence of risk factors, which favour a frequent exposure of these Amerindians to *T. gondii* since childhood.

Key words: toxoplasmosis, Amerindians, rain forest, Venezuela

La toxoplasmosis es causada por la infección con un parásito intracelular, *Toxoplasma gondii*, el cual infecta a una amplia gama de hospedadores vertebrados. La transmisión natural ocurre a través de los ooquistes presentes en suelos contaminados con las heces de gatos infectados o por la ingestión de carne contaminada con quistes tisulares. Otras formas de transmisión, aunque raras, son a través de la placenta y por el trasplante de órganos¹. La infección con *T. gondii* es cosmopolita y generalmente transcurre sin mayores complicaciones. Sin embargo, este parásito es causa de enfermedad severa durante el desarrollo fetal y en los individuos inmuno-suprimidos¹. En los pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), la activación de una infección latente con *T. gondii* causa una variedad de síndromes, uno de los más frecuentes y más graves es la encefalitis toxoplásmica, asociada a una tasa elevada de mortalidad². En América Latina los estudios sobre la seroprevalencia de toxoplasmosis demuestran que un 65% de los individuos mayores de 60

años tiene anticuerpos a *T. gondii*³. La mayoría de los estudios ha tomado en cuenta a la población urbana, pocos han atendido a la población rural³ y con la excepción de algunas investigaciones realizadas en el bosque húmedo de Brasil⁴ y de Ecuador⁵, casi no se tiene información sobre la prevalencia de toxoplasmosis en las comunidades indígenas. Este trabajo refiere indicadores de la infección con *Toxoplasma* en Amerindios de la etnia Guajiba, residentes en el estado Amazonas, al sur de Venezuela.

Estudiamos 121 muestras de sueros, obtenidas de sujetos con edades comprendidas entre 4 y 45 años. Sesenta y ocho pertenecían a la comunidad de Alcabala de Guajibo, (AG), (5° latitud norte, 67° longitud oeste) conformada por 225 individuos y 53 se encontraron en las comunidades de Munduapo (M) y Caño Merey (CM), aledañas al Río Orinoco (4° latitud norte, 67° longitud oeste), cada una de ellas de aproximadamente 100 personas. El acceso a la primera comunidad fue por vía terrestre y a las dos últimas, por la fluvial. Las muestras de sangre fueron recogidas con motivo de una pesquisa para la búsqueda activa de malaria. Cada comunidad fue informada en su lengua nativa y con la ayuda de los líderes respectivos, que se le practicaría un examen de sangre para el diagnóstico de malaria y otros estudios serológicos. La toma de muestra fue mediante punción del pabellón auricular. De cada persona se obtuvo una

gota de sangre que sirvió para el examen microscópico de la gota gruesa (GG) y extendido y otros 50 µl recogidos en un tubo capilar. Todos los individuos con una GG positiva para malaria, fueron tratados por el personal de campo de servicio de Malariología, de acuerdo a los esquemas terapéuticos aprobados por el Programa Nacional de Control de Malaria. Las muestras fueron trasladadas, el mismo día, al laboratorio regional del Servicio de Malariología en Pto. Ayacucho, donde fueron inmediatamente centrifugadas para separar los sueros. Estos fueron congelados a -10°C y en los próximos tres días transportados, bajo refrigeración, hasta el laboratorio de Inmunoparasitología del IVIC y guardados a -70°C hasta su uso posterior. El ensayo de anticuerpos se efectuó con la prueba de ELISA para la pesquisa de anticuerpos IgG a *T. gondii*⁶. El antígeno se obtuvo a partir de taquizoítos de la cepa RH de *T. gondii*, obtenidos *in vitro* mediante infección de la línea celular K562⁷. Los parásitos libres en el medio de cultivo fueron purificados por centrifugación diferencial y filtración a través de una columna de "nylon" para eliminar cualquier contaminación con restos celulares, y utilizados para preparar un antígeno sonicado de *T. gondii*⁶. Se utilizaron placas flexibles de cloruro de polivinilo, de 96 pozos, (Laboratorios Dynatech, Va., E.U.A). Cada pozuelo fue sensibilizado con 1 µg de proteínas⁷. El anticuerpo secundario fue un conjugado de IgG de cabra anti-IgG humana acoplado a peroxidasa de rábano picante (Nordic Immunology, Bélgica). El cromógeno ABTS (2,2'-azino-di-3-ethylbenthiazoline-6- sulphonic acid, Sigma Chemical Co., Mo., E.U.A) sirvió de indicador de la reacción de la peroxidasa con el H₂O₂. Las lecturas de densidad óptica (DO) a 405 nm procedieron con un lector automático Titertek Multiskan® MCC/340 (Laboratorios Flow, Mc Lean, Va., E.U.A). Un lote de 30 sueros de individuos negativos a las pruebas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) y de hemaglutinación indirecta para toxoplasmosis, fue utilizado para calcular el umbral de referencia. El valor promedio de DO para los sueros controles negativos fue 0.170 (desviación estándar de la media, DEM = 0.042). El umbral significativo (media + 3 DEM) fue > 0.3. Cuatro sueros de pacientes con historia de toxoplasmosis, positivos en las pruebas antes mencionadas y con títulos > de 1:256 en IFI, fueron utilizados como controles positivos. El ensayo de cada dilución fue por duplicado e incluyó en cada placa 4 sueros negativos y otro tanto de positivos. La dilución de ensayo fue 1:100. Todos los sueros con un valor significativo de DO fueron posteriormente diluidos para establecer el título respectivo, según el inverso de la dilución para la cual el valor de DO alcanzó el umbral positivo (> 0.3). Los resultados se expresan como el porcentaje de individuos (prevalencia) con un valor significativo en la prueba de ELISA para toxoplasmosis o según la media geométrica del título (MGT). Las diferencias entre los valores de

prevalencia fueron examinadas con la prueba exacta de Fisher y la corrección de Yates cuando necesario. La comparación entre los títulos fue con la prueba de *t*. Las pruebas fueron efectuadas con un paquete estadístico computarizado InStat (GraphPAD Software, San Diego, Ca., E.U.A). La MGT ± DEM para los 4 sueros positivos de referencia fue (1 448 ± 1,5).

El 88% (107/121) de la población Guajiba evaluada fue reactiva para *T. gondii* (Tabla 1). Los valores de prevalencia para AG, M y CM fueron 93, 78 y 87%, respectivamente, siendo significativamente mayor aquel encontrado en la comunidad de AG con respecto a M (*p* < 0.02). La comunidad de AG presentó los valores de MGT más elevados, diferencia que fue significativa con respecto a las otras dos comunidades (AG vs M; *p* < 0.0001; AG vs CM, *p* < 0.0001). La prevalencia de anticuerpos a *T. gondii* no mostró diferencias significativas según el sexo, pero en las tres comunidades estudiadas la MGT de la población femenina fue más elevada que la de población masculina, respectiva, diferencia que en todos los casos alcanzó significación estadística (*p* < 0.001), (Tabla 1).

La estratificación de cada comunidad según la edad (menores de 10, 20 y 30 años y mayores de 30 años), indicó que en las tres comunidades los valores de prevalencia eran elevados en todos los grupos y sin diferencias estadísticamente significativas, entre los distintos grupos de edad, (Tabla 2). En las tres comunidades, la intensidad de la respuesta de anticuerpo aumentó progresivamente con la edad y la MGT del grupo de 10-19 años fue más elevada en comparación con el grupo menor de 10 años correspondiente (AG, *p* < 0.0001; M, *p* < 0.0001; CM, *p* < 0.0001), (Tabla 2).

Estos resultados indican que la infección con *T. gondii* es común entre los grupos Guajibos estudiados y que la infección inicial ocurre en los primeros años de la niñez. El estudio no incluyó una evaluación de los factores de riesgo para toxoplasmosis, pero la infección por *T. gondii* en edades tempranas está fuertemente influenciada por la exposición a los ooquistes de los gatos, generalmente, como consecuencia del contacto con suelos contaminados^{1,9}. La ingestión de carne contaminada es siempre una posibilidad, pero la dieta de los indígenas Guajibos está conformada básicamente por pescado, "casabe" (un derivado de la yuca) y algunas frutas; periódicamente aprovechan la cacería de animales de la fauna selvática cuya carne asan al fuego. En la comunidad de AG observamos algunos gatos cerca de las viviendas, no así en las otras comunidades. Sin embargo, bajo condiciones selváticas, la participación de felinos salvajes en el ciclo de *T. gondii*^{10,11}, la ingestión de agua contaminada con los ooquistes expulsados por los gatos y felinos salvajes¹² y la presencia de roedores salvajes que actúan como hospedadores intermedios persistentes¹³ son factores de riesgo a considerar.

TABLA 1.— Prevalencia y niveles de anticuerpos a *Toxoplasma gondii* en Amerindios de la etnia Guajibo residentes en el estado Amazonas, Venezuela

Localidad	Sexo		Total
	Femenino	Masculino	
Alcabala de Guajibo	28/30 (93%)* 2 786 ± 6**	35/38 (92%) 1 460 ± 4	63/68 (93%) 1 947 ± 4
Munduapo	9/12 (75%) 2 125 ± 6	9/11 (82%) 1 216 ± 5	18/23 (78%) 1 634 ± 5
Caño Merey	15/18 (83%) 2 841 ± 6	11/12 (92%) 821 ± 2	26/30 (87%) 1 680 ± 5
Total	52/60 (87%) 2 591 ± 6	55/61 (90%) 1 264 ± 3	107/121 (88%) 1 778 ± 4

*: Prevalencia; **: Media geométrica del título (MGT ± DEM)

TABLA 2.— Prevalencia y niveles de anticuerpos a *Toxoplasma gondii* en los sueros de tres comunidades Amerindias de la etnia Guajibo, residentes en el estado Amazonas, Venezuela

Grupo de edad	Comunidad		
	Alcabala de Guajibo	Munduapo	Caño Merey
2-9 años	17/19 (89%)* 951 ± 2**	5/9 (55%) 1 194 ± 2	12/15 (80%) 1 602 ± 2
10-19 años	13/15 (86%) 1 640 ± 8	4/5 (80%) 1 413 ± 3	6/6 (100%) 3 896 ± 9
20-29 años	13/13 (100%) 3 035 ± 6.0	9/9 (100%) 2 004 ± 7	8/9 (88%) 960 ± 2
≥ 30 años	20/21 (95%) 1 144 ± 5		

*: Prevalencia; **: (MGT ± DEM)

Un hecho interesante fue el hallazgo de títulos más elevados en la población femenina de las tres comunidades estudiadas. La literatura refiere una mayor proporción de serorreactivos a *Toxoplasma* en la población femenina, en la masculina o ninguna entre sexos, según hábitos alimenticios y culturales^{9, 14}. En nuestro estudio, la diferencia entre sexo podría derivarse de una mayor exposición de las mujeres a los ooquistes ya que por razones culturales, ellas tienen a su cargo las faenas agrícolas y en consecuencia, una mayor exposición al contacto con suelos contaminados.

Desconocemos, en qué medida la infección por *Toxoplasma* se extiende entre las comunidades Amerindias de la región amazónica. Una alta prevalencia de toxoplasmosis y la amenaza de contacto con el HIV supone un riesgo considerable para la supervivencia de las etnias indígenas de la selva amazónica. Hace tiempo que se ha alertado acerca del riesgo que para la

diseminación del HIV en la región amazónica, representarían los buscadores de oro infectados con HIV¹⁵.

Agradecimientos: Agradecemos la colaboración del Servicio de Malariología y Saneamiento Ambiental en Pto. Ayacucho, estado Amazonas, por su ayuda logística y constante apoyo en la colección de los especímenes biológicos.

Bibliografía

1. Anderson S. *Toxoplasma gondii*. En: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds). Principles and practice of infectious diseases. New York: John Wiley & Sons, 1979; 2127-37.
2. Selik RM, Karon JM; Ward JW. Effect of human immunodeficiency virus epidemic on mortality from opportunistic infections in the United States in 1993. *J Infect Dis* 1997; 176: 632-6.
3. Sousa OE, Saenz RE, Frenkel J. *Toxoplasma* in Panama: a 10 yr study. *Am J Trop Med Hyg* 1988; 38: 315-22.
4. Baruzzi RC. Contribution to the study of toxoplasmosis

- epidemiology. Serologic survey among the Indians of the Upper Xingu River, Central Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1970; 12: 93-4.
5. Kaplan JE, Larrick JW, Yost J, et al. Infection disease patterns in the Waorani, an isolated Amerindian population. *Am J Trop Med Hyg* 1980; 29: 298-312.
 6. Verhofstede C, Sabbe L, Van Renterghem L. Ability of the enzyme linked immunosorbent assay to detect early immunoglobulin G antibodies to *Toxoplasma gondii*. *Eur J Clin Microbiol* 1987; 6: 147-51.
 7. Subauste CS, Dawson L, Remington JS. Human lymphokine-activated killer cells are cytotoxic against cells infected with *Toxoplasma gondii*. *J Exp Med* 1992; 176: 1511-9.
 8. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976, 72: 248-54.
 9. Etheredge GD, Frenkel J. Human *Toxoplasma* infection in Kuna and Embera children in the Bayano and San Blas, eastern Panama. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 53: 448-57.
 10. Jewell ML, Frenkel JK, Johnson KM, Reed V, Ruiz A. Development of *Toxoplasma* oocysts in neotropical Felidae. *Am J Trop Med Hyg* 1972; 21: 512-7.
 11. Aramini JJ, Stephen C, Dubey JP. *Toxoplasma gondii* in Vancouver Island cougars (*Felis concolor vancouverensis*): serology and oocyst shedding. *J Parasitol* 1999; 84: 438-40.
 12. Bowie WR, King AS, Werker DH, Isaac-Renton JL, Bell A, Eng SB, Marion SA. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. *Lancet* 1997; 350: 173-7.
 13. Webster JP. Prevalence and transmission of *Toxoplasma gondii* in wild brown rats, *Rattus norvegicus*. *Parasitology* 1994; 108: 407-11.
 14. Excler JL, Williams KA. Seroepidemiological survey of toxoplasmosis in Burundi. *Tropenmed Parasitol* 1988; 39: 139-41.
 15. Linhares AC, Mello W. The prevalence of HIV-antibody in a gold mining camp in the Amazon region as a guide to the date of entry of AIDS into Brazil: the future importance of such communities as "distribution centres". *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1989; 31: 59.

Quando se está ocupado en trabajos de esta naturaleza, siempre es bueno observarse uno mismo a la par de los animales, y con un sentido tan crítico e imparcial como sea posible —lo cual, claro está, es una ardua tarea. Con frecuencia me he preguntado por qué me satisfacían tanto los resultados de estos experimentos. A un racionalista probablemente le gustaría imaginar que la causa era que dichos resultados concordaban totalmente a lo previsto. Estoy convencido de que este era un factor de gran importancia; pero había otro más importante aún, si bien menos noble: disfrutaba, saboreaba la satisfacción del deseo de poder. Que este factor estaba presente lo corrobora el hecho de que otras personas que realizaron la experiencia sin estar interesados en su aspecto científico, también disfrutaban al ver que habían engañado a las avispas. Estoy convencido, además, de que mi alegría por haber hallado la solución al problema no era totalmente pura, pues iba mezclada con el orgullo de haber tenido éxito en los experimentos.

Niko (Nikolaas) Tinbergen* (1907-1988)

Naturalistas curiosos (1958), Primera Parte: ¿Cómo encuentran las avispas el camino de casa?
 Barcelona: Salvat, 1995, p 20
 (Versión de *Curious Naturalists*. London: Reed, 1974; traducción de Manuel Crespo).

* Premio Nobel de Medicina y Fisiología, 1973. Compartido con Konrad Lorenz (1903-1989) y Karl Ritter von Frisch (1886-1982)