

PRESENCIA DE TOXOPLASMA GONDII EN SUERO SANGUÍNEO DE GANADO BOVINO EN EMPRESAS DE RASTRO

PRESENCE OF TOXOPLASMA GONDII IN BLOOD SERUM OF CATTLE IN SLAUGHTER CENTERS

iD	¹ Juan Ramón*	juan.ramonez@ucuenca.edu.ec
iD	¹ Paola Ortiz	paola.ortizm@ucuenca.edu.ec
iD	¹ Fabián Aguilar	fabian.aguilar@ucuenca.edu.ec
iD	¹ Omar Andrade	omar.andrade@ucuenca.edu.ec
iD	¹ Andrea Vintimilla	andrea.vintimillar@ucuenca.edu.ec
iD	¹ Marco Picón	marco.picon@ucuenca.edu.ec
iD	² Alex Villafuerte	avillafuerte@esPOCH.edu.ec
iD	^{1, 3} Andrés Haro Haro	andresharo86@hotmail.com

¹ Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencia Agropecuarias, Departamento de Ciencias Veterinarias, Cuenca, Ecuador.

² Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencia Pecuarias, Departamento de Ciencias Veterinarias, Riobamba, Ecuador.

³ Departamento del Conocimiento Ganadero, Consultora independiente Milk and Meat, Riobamba, Ecuador.

E-mail: * juan.ramonez@ucuenca.edu.ec

RESUMEN

Considerables enfermedades infecciosas como la toxoplasmosis se desarrollan por replicación sexual en mamíferos, incluidos bovinos y el humano. En el ganado bovino puede causar abortos, fiebre, inapetencia, patologías respiratorias y alteraciones del sistema nervioso. Esta investigación tuvo como objetivo analizar la presencia de animales seropositivos a *Toxoplasma gondii* antes del sacrificio del ganado bovino en la Provincia del Azuay-Ecuador. Se muestrearon 148 animales y se identificaron anticuerpos mediante la técnica ELISA. El estudio mostró 48 bovinos seropositivos, con una frecuencia relativa de 33% de animales serorreactivos a *Toxoplasma gondii*. Conjuntamente, se detectó una frecuencia positiva a la presencia de la enfermedad entre grupos de bovinos menores y mayores a 24 meses de edad. La frecuencia relativa de portadores de la enfermedad antes del sacrificio en distintas regiones es del 35% en el cantón Girón definiéndose como la zona de mayor incidencia de animales infectados y portadores de la enfermedad. Entre los grupos de bovinos faenados se incrementa la frecuencia seropositiva por diferencia de sexo y región, por ello, se considera a la toxoplasmosis como una enfermedad invasiva a nivel mundial y de fácil transmisión para los seres humanos por parte ganado bovino.

Palabras clave: Toxoplasmosis; seropositividad; serorreactividad; bovinos; factores de riesgo.

ABSTRACT

Infectious diseases such as toxoplasmosis develop by sexual replication in mammals, cattle and humans. In cattle it can cause abortions, fever, low feed intake, respiratory pathologies and nervous system disorders. The objective of this study was to analyze the frequency of bovines seropositive to *Toxoplasma gondii* before slaughter, in slaughterhouses in the Province of Azuay-Ecuador. From three areas, 148 animals were sampled and antibodies were identified using the ELISA technique. The study showed 48 seropositive cattle and a relative frequency of 33% of animals seroreactive *Toxoplasma gondii*. Together, a positive frequency of carrying the disease was observed among groups of cattle under and over 24 months of age. The frequency of carrying the disease by region before slaughter shows a 35% relative frequency in Giron slaughterhouse, defined as the area with the highest incidence of infected animals and carriers of the disease. Among the groups of cattle slaughtered, the seropositive frequency increases due to differences in gender and Region, therefore, toxoplasmosis is considered an invasive disease Worldwide and easily transmitted to humans by animals.

Keywords: Toxoplasmosis; seropositivity; cattle; risk factors.

1. INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una enfermedad zoonótica y puede alcanzar una mortalidad del 10% en humanos inmunocompetentes, distribuida en el mundo, generando riesgos en las poblaciones humana y animal. La enfermedad produce infecciones subclínicas ocasionada por el parásito intracelular *Toxoplasma gondii* [1, 2]. El *Toxoplasma gondii* tiene replicación sexual o asexual dependiendo del hospedador [3]; en los felinos como hospedador definitivo se desarrollan por replicación sexual y en bovinos (*Bos taurus*) y humanos como hospedador intermediario por replicación asexual [4, 5].

El parásito que se transmite a los seres humanos es por consumo de carnes crudas o por malos tratamientos de cocción recibidos, manteniendo los quistes en los tejidos cárnicos consumidos, también pueden transmitirse por ingesta de agua y alimentos contaminados por los ooquistes del mismo [2, 6]. La replicación del *Toxoplasma gondii* en animales como el ganado bovino puede causar abortos, linfadenopatía, fiebre, inapetencia, patologías respiratorias y del sistema nervioso, sobre todo en animales jóvenes [6, 7]. Al mismo tiempo, durante los controles de transmisión en el ganado bovino se han encontrado quistes del parásito en el diafragma y en la membrana ocular, así se muestra la contribución de los bovinos en la transmisión [8].

Conocer la replicación y frecuencia del *Toxoplasma* en animales bovinos es transcendental para prevenir la posibilidad de abortos y mortalidad perinatal en esta especie, se puede evitar que los bovinos infectados con quistes tisulares sean sacrificados para el consumo humano en los centros de faenamiento animal [2, 6, 7]. La toxoplasmosis es una de las principales enfermedades resultantes de una infección parasitaria en los seres humanos, representa una preocupación de gran magnitud a nivel mundial en términos de salud pública, la cual es transmitida mediante el consumo de alimentos [9, 10]. Por lo tanto, analizar la frecuencia de bovinos seropositivos a *Toxoplasma gondii* previo al sacrificio en centros de faenamiento autorizados en la provincia del Azuay, fue el objetivo de este estudio.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Las técnicas utilizadas con el ganado bovino se ejecutaron de acuerdo con las normativas ecuatorianas para la protección de animales, de acuerdo con la legislación y los procedimientos de toma de muestras

aprobados por la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario Ecuatoriana (AGROCALIDAD) de la República del Ecuador. La investigación se realizó en tres centros oficiales de faenamiento animal de la Provincia del Azuay certificados por AGROCALIDAD y ubicados en los cantones de Girón, Santiago de Gualaceo y Paute.

Muestreo e identificación de anticuerpos

Las muestras de sangre del ganado bovino se tomaron siguiendo la metodología modificada de Miller y Fowler [11]. Se extrajo una muestra de sangre (10 mL) de la vena coccígea a 148 animales sacrificados por mes en los mataderos. Las muestras fueron identificadas y almacenadas en tubos vacutainer (SENNA Científica, EUA) sin anticoagulante para su posterior procesamiento.

Las muestras de sangre fueron centrifugadas a 10000 G en una centrífuga (Dynac, Clay Adams, EUA) durante 15 min. Se extrajo 1 mL del suero y se almacenó en tubos eppendorf (Citotest® Labware Manufacturing Co, China) a -20 °C (Congelador Indurama, Ecuador), hasta su procesamiento. Las muestras serológicas fueron analizadas según la modificación de la metodología de Györke et al. [12]. El kit comercial de ensayo ELISA-indirecto para inmunoabsorción ligado a enzimas (ID Screen® Toxoplasmosis Indirect Multi-species, IDVET®, Montpellier, Francia) y el conjugado antimultiespecie IgG-HRP, para detección de anticuerpos en suero de animales rumiantes (sensibilidad y especificidad diagnóstica de 95% y 97%, respectivamente) fueron utilizados en este estudio. En relación 2:400, se diluyeron 10 µL del control negativo y positivo en 90 µL de diluyente y distribución con el suero sanguíneo, la mezcla se incubó a 37 °C por 1 h en una estufa de precisión universal (Digitronic-TFT, España). A continuación, las placas fueron aclaradas por 3 ocasiones en 300 µL de con un medio de lavado. Así mismo, en relación de 2:400 se preparó un conjugado con peroxidasa agregando 100 µL de la dilución de anticuerpo secundario multi-especie. Seguidamente, se incubó las microplacas a 37 °C por 1h, las placas fueron aclaradas por 3 ocasiones con solución de lavado. También, se agregó 100 µL de solución de revelado y se incubó a 26 °C por 15 min (Digitronic-TFT, España). Posteriormente, a cada pocillo de la placa se agregó 100 µL de una solución de detención de la reacción para ser analizadas en el lector de microplacas por absorbancia Epoch, Biotek Microplate Spectrophotometer, EEUU. Los análisis para la determinación del porcentaje de presencia o ausencia (S/P: muestra/control positivo) de las muestras de suero se realizaron por triplicado.

Cálculos y análisis estadísticos

Las ponderaciones para la validación de los controles fueron calculadas por diferencia de absorbancia de las muestras y la absorbancia media del control positivo, para obtener el valor S/P. bajo la siguiente fórmula matemática recomendada por el Kit para la detección de anticuerpos: $CN\bar{x} = (CN1 A (450) + CN2 A (450))/2$ y $CP\bar{x} = (CP1 A(450) + CP2 A(450))/2$, por lo tanto, $CN\bar{x} \leq 0,500$, $CP\bar{x} \leq 2,00$ y $CP\bar{x} - CN\bar{x} \geq 0,300$. Por otro lado, $S/P (\%) = 100 * [Muestra A (450) - CN\bar{x} / CP\bar{x} - CN\bar{x}]$.

Los datos por la prueba ELISA se analizaron por estadística descriptiva con tablas de frecuencia cruzada [12] y procesados con el paquete estadístico SPSS V22.0. Para determinar la asociación y probabilidad de riesgo existente entre la seroprevalencia del *Toxoplasma gondii* y el factor de transmisión, se analizó mediante el cálculo del Chi cuadrado y Odds Ratio [13].

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del estudio de *Toxoplasma gondii* reveló 48 animales seropositivos de un total de 148 animales evaluados (Tabla 1), lo que correspondió a una frecuencia relativa de 33% de animales seroreactores a *Toxoplasma gondii*. Al mismo tiempo, se observó una frecuencia positiva de portar la enfermedad entre grupos de bovinos menores y mayores a 24 meses de edad, alrededor de 29% y 35 %, respectivamente.

Por otro lado, bajo los parámetros de diagnóstico en este estudio, se observó que el ganado bovino entre machos y hembras presentan la enfermedad entre 70 y 65 % de frecuencia de portar *Toxoplasma gondii*.

La frecuencia de portar la enfermedad de Toxoplasmosis en bovinos por regiones antes del sacrificio expone al centro de faenamiento del cantón Girón como la zona de mayor incidencia de animales infectados o portadores de la enfermedad, a comparación con los bovinos de los centros de faenado del cantón Santiago de Gualaceo y Paute (35, 33 y 31%, respectivamente), consiguiendo precisar un alto índice de frecuencia de la enfermedad en el cantón Azuay.

Ítem	Reacción	Nro. Positivos	Frecuencia relativa %
Muestra total	Positivo	48	33,0
	Negativo	100	67,0
Edad, años			
< 2,0	Positivo	15	28,8
	Negativo	37	71,2
≥ 2,0	Positivo	33	34,7
	Negativo	63	65,3

Género			
Hembra	Positivo	23	30,3
	Negativo	54	69,7
Macho	Positivo	25	35,2
	Negativo	46	64,8
Región			
Gualaceo	Positivo	25	32,9
	Negativo	52	67,1
Paute	Positivo	16	31,4
	Negativo	35	68,6
Girón	Positivo	7	35,0
	Negativo	13	65,0

Tabla 1. Presencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en ganado bovino antes del sacrificio (Tamaño de la muestra de 148 bovinos a reacción serológica).

4. DISCUSIÓN

Nuestros resultados coinciden con la frecuencia y condiciones de la enfermedad por investigadores Fernández y García [14]; Suárez-Hernández et al. [15], conjuntamente, Guanes et al. [16], coinciden que los animales adultos tienden a presentar con mayor frecuencia de la enfermedad en zonas de incidencia a *Toxoplasma gondii*.

Evidencias de otros mataderos en Ecuador y países de Latinoamérica muestran frecuencias semejantes a nuestro estudio sobre el vínculo de la enfermedad y la edad de infección. Severino-Lendechy et al. [17] en un estudio de cortes observaron que los bovinos de entre 2 y 5 años de edad eran portadores de la enfermedad, así mismo, en Perú [18] y Colombia [19]. Se muestra que animales mamíferos y de producción pecuaria mayores de 2 años son los más susceptibles al contagio con *Toxoplasma gondii*.

Los resultados expuestos en el porcentaje entre sexo muestra un alto contagio, evento que se expone a nivel mundial en zonas donde la enfermedad es invasiva, los genotipos de *Toxoplasma* en las últimas décadas se encuentran distribuidos por Europa, América, África y Asia, enfermando principalmente a machos bovinos [20, 21].

Se puede demostrar que los resultados expuestos anteriormente sugieren que la enfermedad producida por *Toxoplasma gondii* es de fácil transmisión a los humanos [22], por vínculos con animales de interés pecuario y domésticos en la provincia y el país [7, 8, 23].

5. CONCLUSIONES

El 33% de los animales fueron serorreactivos, indicando la disposición de toxoplasmosis en el ganado bovino que son sacrificados en las empresas de rastro de la provincia del Azuay. Entre los grupos de bovinos sacrificados se incrementa la frecuencia seropositiva según aumenta la edad y por diferencia de género y región, por ello, se considera a la toxoplasmosis como una enfermedad invasiva a nivel mundial y de fácil transmisión para los seres humanos por parte de los animales.

6. AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH y a la Consultora Internacional Milk and Meat.

7. CONFLICTOS DE INTERES

Los autores de este documento declaran no tener conflictos de interés.

8. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- [1] Özlü H, Atasever M, Atasever MA. Knowledge, attitude, and practices of cattle farmers regarding zoonotic diseases in Erzurum, Turkey. [Internet]. Austral J Vet. Sci. 2020; 52(3):79-85. <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-81322020000300079>
- [2] Asiyabi-Aghdam S, Hajipour N, Moosavy MH. Use of PCR to determine *Toxoplasma gondii* in milk samples from camels (*Camelus dromedarius*), cattle (*Bos taurus*) and buffalos (*Bubalus bubalis*) in East Azarbaijan province, Iran. [Internet]. Vet. Med. Sci. 2023; 9(1):400-404. <https://doi.org/10.1002/vms3.1047>
- [3] Howe DK, Sibley LD. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. [Internet]. J. Infect. Dis. 1995; 172(6):1561-1566. <https://doi.org/10.1093/infdis/172.6.1561>
- [4] Sibley LD, Khan A, Ajioka JW, Rosenthal BM. Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* in animals and humans. [Internet]. Biol. Sci. 2009; 364(1530):2749-2761. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0087>
- [5] Tomasina R, Francia ME. The structural and molecular underpinnings of gametogenesis in *Toxoplasma gondii*. [Internet]. Front. Cell Infect. 2020; 10:608291. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.608291>
- [6] Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. [Internet]. Intern. J. Parasitol. 2000; 30(12-13):1217-1258. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(00\)00124-7](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00124-7)
- [7] Dubey JP, Murata FHA, Cerqueira-Cézar CK, Kwok OCH, Yang YR. Public Health Significance of *Toxoplasma gondii* Infections in Cattle: 2009–2020. [Internet]. J. Parasitol. 2020; 106(6):772-788. <https://doi.org/10.1645/20-82>
- [8] Buxton D, Maley SW, Wright SE, Rodger S, Bartley P, Innes EA. *Toxoplasma gondii* and ovine toxoplasmosis: new aspects of an old story. [Internet]. Vet. Parasitol. 2007; 149(1-2): 25-28. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.07.003>
- [9] Food and Agriculture Organization. FAO. [Internet]. [Consultado 20 Jul 2023]. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112672/9789241564700_eng
- [10] Greye H, Wex T, Taneva E, Redlich A, Costa SD, Rissmann A. Cytomegalovirus seronegativity rate in pregnant women and primary cytomegalovirus infection during pregnancy in rural Germany. [Internet]. BMC. Pregnancy Childbirth. 2023; 23(1):1-9. <https://doi.org/10.1186/s12884-023-05612-7>
- [11] Miller ER. Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine. [Internet]. Elsevier Health Sci. 2014. <https://doi.org/10.1016/C2012-0-01362-2>
- [12] Györke A, Opsteegh M, Mircean V, Iovu A, Cozma V. *Toxoplasma gondii* in Romanian household cats: evaluation of serological tests, epidemiology and risk factors. [Internet]. Prev. Vet. Med. 2011; 102(4):321-328. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.07.015>
- [13] García-García JA, Reding-Bernal A, López-Alvarenga JC. Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica. [Internet]. Educ. Med. 2011; 2(8):217-224. [https://doi.org/10.1016/S2007-5057\(13\)72715-7](https://doi.org/10.1016/S2007-5057(13)72715-7)
- [14] Fernández-Fernández JG, García F. Diagnóstico serológico de neosporosis bovina en fincas de la región de Tucacas, estado Falcón, Venezuela.

- [Internet]. Zoot. Trop. 2013; 31(4):291-298. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692013000400003&lng=es&nrm=iso
- [15] Suárez-Hernández M, González-Fernández A, Gardón-Quirola BY, Martínez-Sánchez R. Infección y enfermedad por *Toxoplasma gondii* en animales y humanos en 23 años de observación en la provincia de Ciego de Ávila, Cuba. [Internet]. Bio-med. 2005; 16(1):21-27. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v16i1.40>
- [16] Guanes JR, Zambrano DC, de la Torre A. El *Toxoplasma gondii* Diversidad de genotipos del parásito. [Internet]. En: *Toxoplasmosis ocular: ¡No coma cuento, ni carne cruda!*. 2022; p. 1-16 <https://doi.org/10.12804/urosario9789587849370>
- [17] Severino-Lendechy VH, Ra PG, Reséndiz-Martínez R, Blanco-Camarillo M, Zelaya-Molina LX, Sánchez-Casas RM, Segura-Correa JC. Detección de *Brucella abortus* y *Toxoplasma gondii* en ganado criollo nunkiní. [Internet]. AICA. 2022; 17:34-38. <https://www.profile/Mario-Blanco-Camarillo/publication/361901275>
- [18] Chang K, Chávez A, Li O, Falcón N, Casas E, Casas G. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en llamas hembras de la sierra central del Perú. [Internet]. RIVEP. 2009; 20(2):306-311. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v20n2/a23v20n2.pdf>
- [19] Cárdenas JEP, Giraldo HJA, Ríos SMC, Garay LAG, Osorio JA M, Salgado RAC. Prevalencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en cuatro especies de consumo humano en Caldas-Colombia. [Internet]. Biosalud. 2006; 33-43. www.link.gale.com/apps/doc/A258132024/IFME
- [20] Hernández SM, Flores RM. *Toxoplasma gondii*, un patógeno asesino re-emergente. [Internet]. REB. 2009; 28(2):52-58. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2009/reb092d.pdf>
- [21] Maia ARA, Bezerra RA, Silva SS, Álvares FBV, Santos CDSAB, Alves CJ, ... Azevedo SSD. Herd-level based seroprevalence and associated factors for *Toxoplasma gondii* in cows in the state of Paraíba, Northeastern Brazil. [Internet]. RBPV. 2023; 32(2):e017222. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612023025>
- [22] Lora F, Aricapa HJ, Pérez JE, Arias LE, Idarraga SE, Mier D, Gómez JE. *Toxoplasma gondii* infection of meat for human consumption detected by PCR assay in three cities from the coffee region of Colombia. [Internet]. Infect. 2007; 11(3):117-123. <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v11n3/v11n3a04.pdf>
- [23] Ordoñez EP, Maza AV. Estudio del *Toxoplasma gondii* en bovinos como hospedero intermedio de la toxoplasmosis en humanos. Revisión bibliográfica. [Internet]. Rev. Ecuator. Cien. Anim. 2019; 3(2):226-253. <http://revistaecuatorianadecienciaanimal.com/index.php/RECA/article/view/146>