



Maestría en Epidemiología para la Salud Pública

Título

Seroprevalencia de patógenos protozoarios (*Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*) en muestras colectadas de bovinos de la isla Santa Cruz, Galápagos.

Autor

Patricio Alejandro Vega Mariño

Director

Cesar Yumiseva

Fecha

11/12/2023

Primera página - Artículo Científico

- **Título**

Seroprevalencia de patógenos protozoarios (*Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*) en muestras colectadas de bovinos de la isla Santa Cruz, Galápagos.

- **Nombres y filiaciones de autores y autoras.**

Patricio Vega-Mariño(a,b), Miguel García(c), Cesar Yumiseva(d)

a Programa de Maestría en Epidemiología en Salud Pública, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador

b Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos, Santa Cruz, Galápagos, Ecuador

c One Health Research Group, Universidad de las Américas UDLA, Quito, Ecuador

d CISEAL (Centro de Investigación para la Salud), Pontificia Universidad Católica del Ecuador PUCE, Quito, Ecuador

- **Autor/autora de correspondencia.**

Patricio Vega-Mariño (patricioalejandro.vegamarino@gmail.com) y Miguel García (magbereguiain@gmail.com)

- **Recuento de palabras.**

198

- **Contribuciones de autoría.**

Patricio Vega-Mariño con el análisis de muestras, análisis de resultados y redacción del documento. Miguel García con la dirección y financiamiento de la investigación. César Yumiseva con la revisión y corrección del documento.

- **Financiación.**

El presente trabajo de investigación se realizó con el financiamiento de la Universidad de las Américas (UDLA) y el apoyo en infraestructura y logística de la Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos (ABG).

- **Agradecimientos.**

A mi esposa por ser el pilar fundamental dentro de familia, a mis padres por su apoyo incondicional, a la Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos por el apoyo en el desarrollo de esta investigación, a la Universidad de las Américas y su equipo de investigación por el financiamiento y el seguimiento a toda la investigación.

- **Conflictos de intereses.** Ninguno

- **Registro.** No Aplica

Segunda página - Cuerpo del Manuscrito

Resumen

Las infecciones ocasionadas por *T. gondii* y *N. caninum* generan grandes pérdidas económicas debido a su alto índice de abortos en los bovinos. Además, los productos derivados de los animales infectados con *T. gondii* representan una fuente importante de infección en los seres humanos. La detección de anticuerpos contra estos parásitos en la isla Santa Cruz, perteneciente a la provincia de Galápagos, se realizó mediante un estudio serológico transversal a nivel regional. Un total de 281 animales y 13 granjas fueron analizadas mediante kits de ELISA comerciales. La seroprevalencia encontrada para *T. gondii* en bovinos fue de 54% y a nivel de granjas del 86,20%. Por otro lado, con *N. caninum* se detectó una seroprevalencia de bovino de 30,52% y de granja de 62,41%. Además, se estableció que el área con mayor presencia de animales seropositivos para ambos agentes causales fue el sector de El Camote en la zona agrícola-productiva de la isla. Estos resultados revelan una alta prevalencia de ambos parásitos en los bovinos de la isla Santa Cruz y sugieren que el consumo de carne cruda o poco cocida de bovinos infectados con *T. gondii* pueden representar un riesgo para la salud pública en la región.

Palabras clave

Toxoplasma, Neospora, Bovinos, Carne, Leche, Vigilancia, Prevalencia, Galápagos

Introducción

Neospora caninum y *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa, Sarcocystidae) son parásitos protozoarios intracelulares obligados que tienen la capacidad de infectar a especies homeotérmicas alrededor de todo el mundo (1). Ambos parásitos poseen ciclos de vida heteroxenos con carnívoros como huéspedes definitivos y representan pérdidas económicas en la producción ganadera debido a que causan trastornos reproductivos producto de su infección. Ambos parásitos experimentan un ciclo intestinal en sus huéspedes definitivos (es decir, *T. gondii* en felinos domésticos y salvajes, *N. caninum* en perros, coyotes, dingos y lobos), que son responsables de la contaminación del suelo al desprender ooquistes en las heces durante unos días-semanas después de la infección. Los ruminantes pueden infectarse con ambas especies de parásitos ya sea horizontalmente, mediante la ingestión de ooquistes esporulados que contaminan el pasto, el forraje o el agua, o verticalmente, mediante transmisión transplacentaria de la madre al feto (2, 3).

La toxoplasmosis en seres humanos puede ocurrir por el consumo de carne cruda o poco cocida de animales infectados que contienen quistes tisulares con bradizoítos de *T. gondii*. La ingestión accidental de ooquistes de *T. gondii* mediante el consumo de alimentos o agua contaminados o después del contacto con suelo o heces de gato contaminados son otra posible vía de infección. Los taquizoítos de *T. gondii* son los agentes causantes de la

infección congénita, que puede ocurrir por transmisión transplacentaria en el curso de una infección primaria durante el embarazo. La transmisión a través de trasplantes de órganos o transfusiones de sangre a través de taquizoítos o bradizoítos también es posible, pero rara vez ocurre (4, 5). Por otro lado, la neosporosis es una enfermedad emergente responsable de un impacto económico considerable debido principalmente a las pérdidas del ganado vacuno (6). Su potencial zoonótico sigue siendo desconocido, aunque existen informes de anticuerpos contra el agente en seres humanos y mujeres con cuadros de abortos espontáneos (7, 8, 9).

El Ecuador continental cuenta con pocos estudios sobre la prevalencia de anticuerpos anti- *N. caninum* y anti- *T. gondii* en animales, reportándose en la literatura seroprevalencia en bovinos y caprinos, con tasas que oscilan entre el 23% y 50% en el centro sur del país respectivamente (10, 11). Por un lado, en las islas Galápagos se ha reportado la presencia de *T. gondii* en diversas especies de aves silvestres en islas pobladas y no pobladas relacionando su positividad a la presencia de especies introducidas (gatos asilvestrados), seguido de la ingestión de plantas e insectos contaminados por ooquistes como vías de transmisión indirecta (12, 13). Por otro lado, los reportes de prevalencia de *N. caninum* en las islas Galápagos son inexistentes por lo cual su afectación a las especies presentes en territorio es incierta. En el censo poblacional realizado por la Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos (ABG) en 2018, se indica que la isla Santa Cruz contaba con un aproximado de 7 398 cabezas de ganado, 143 granjas ganaderas registradas (el más alto del archipiélago) y que se produce además la mayor parte de la leche de la región, motivo por el cual develar los posibles riesgos asociados a enfermedades de importancia en salud pública, son necesarios en la provincia.

El objetivo de la investigación fue estudiar la aparición, distribución e importancia de las infecciones por *T. gondii* y *N. caninum* en bovinos de la isla Santa Cruz en la provincia de Galápagos y analizar la información recopilada para develar los factores que podrían favorecer la infección por estos parásitos para posteriormente desarrollar programas de control y así evitar la transmisión de estas enfermedades al ser humano y/o establecer protocolos de prevención de contagio de los agentes causales hacia la fauna silvestre en las islas Galápagos.

Métodos

Muestreo de animales

Se recolectaron un total de 1254 muestras de suero sanguíneo de bovinos provenientes de 32 predios pertenecientes a la isla Santa Cruz en la provincia de Galápagos - Ecuador. Sobre este muestreo, se realizó un muestreo aleatorio estratificado para las dos enfermedades investigadas (toxoplasmosis y neosporosis) con una prevalencia esperada superior al 30%. En este caso, se analizaron 281 muestras de suero sanguíneo provenientes de 13 predios distribuidos por toda la isla Santa Cruz.

Pruebas serológicas

Todas las muestras de suero se procesaron mediante ELISA indirectos para detectar anticuerpos contra *T. gondii* y *N. caninum* utilizando dos kits comerciales: ID Screen® *Neospora caninum* Indirect (NCS; ID.vet, Grabels, Francia), validado para la detección de anticuerpos contra *N. caninum* en suero, plasma o leche de bovinos, ovejas o cabras; e ID Screen® Toxoplasmosis Indirect Multi-Species (TOXO-MS; ID.vet, Grabels, Francia), validado para la detección de anticuerpos (IgG) en perros, gatos, cabras, ovejas, bovinos y porcinos. Las pruebas se realizaron según lo indicado por el fabricante. En ambos ensayos, se calculó una relación de muestras-positividad (S/P%) de acuerdo a la siguiente ecuación: $S/P\% = (OD_{muestra} - OD_{cn} / OD_{cp} - OD_{cn}) \times 100$, donde OD es la densidad óptica registrada, tanto de las muestras como de los controles positivos (cp) y controles negativos (cn). Según el fabricante, los animales con $S/P\% \leq 40\%$ se consideraron negativos, no concluyentes si $40\% < S/P\% > 50\%$ y positivos si $S/P\% \geq 50\%$.

Resultados

Análisis de datos

Un total de 13 granjas fueron analizadas en este estudio, todas ellas con animales destinados a la producción de leche y carne con un total de 281 animales testeados. El 86,5% (243/281) fueron hembras mientras que el restante 13,5% (38/281) fueron machos. La disposición por categorías establece que, de los animales monitoreados, el 64,1% (180/281) son vacas productoras de leche mientras que el 35,9% (100/281) son animales destinados a la producción de carne. Se encontró que la mayor seroprevalencia para ambas enfermedades de animales positivos en este estudio se localizó en el sector de El Camote en la isla Santa Cruz. Los resultados de seroprevalencia de todas las muestras positivas a *T. gondii* y *N. caninum* se resumen por sexo, edad, especie y localización geográfica en la Tabla 1. En este estudio, la prevalencia de coinfecciones (*T. gondii* y *N. caninum*) fue del 20,9 %.

Tabla 1. Resumen de análisis de datos de animales seropositivos por sexo, edad, especie y localización geográfica.

Agente causal	Seroprevalencia % IC (+n/N)	Sexo	Edad (promedio)	Especie (+n/N)	Localización geográfica
<i>T. gondii</i>	14,78% (9,73-21,61) (23/150)	Macho	5,82	Brown swiss (11/23)	El Camote (12/23)
	86,25% (79,42-91,30) (127/150)	Hembra	8,77	Brown swiss (52/127)	El Camote (83/127)

N. <i>caninum</i>	12,16% (6,49-21,10) (11/86)	Macho	6,17	Brown swiss (6/11)	El Camote (7/11)
	88,88% (79,93-94,54) (75/86)	Hembra	8,77	Simmental (25/75)	El Camote (45/75)

Detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*.

El análisis de las muestras de suero bovino reveló que 150/281 dieron positivo para *T. gondii*, 103/281 dieron negativo, 26/281 no fueron concluyentes y 2/281 no pudieron analizarse por falta de volumen de muestra. . La seroprevalencia a nivel de animal para *T. gondii* fue de 54,00 % (IC 95 %: 47,98–59,93), sin incluir animales, cuyas pruebas no fueron concluyentes. A nivel de granja, la seroprevalencia de *T. gondii* fue del 86,20% (IC 95%: 58,52–97,60%) (11/13). La proporción de hembras y machos seropositivos detectados con *T. gondii* en este estudio fue de 127/281 y 23/281 respectivamente. La distribución geográfica de todas las granjas bovinas analizadas en la isla Santa Cruz, indicando las granjas en las que se detectaron animales seropositivos para *T. gondii*, se muestra en la Figura 1.

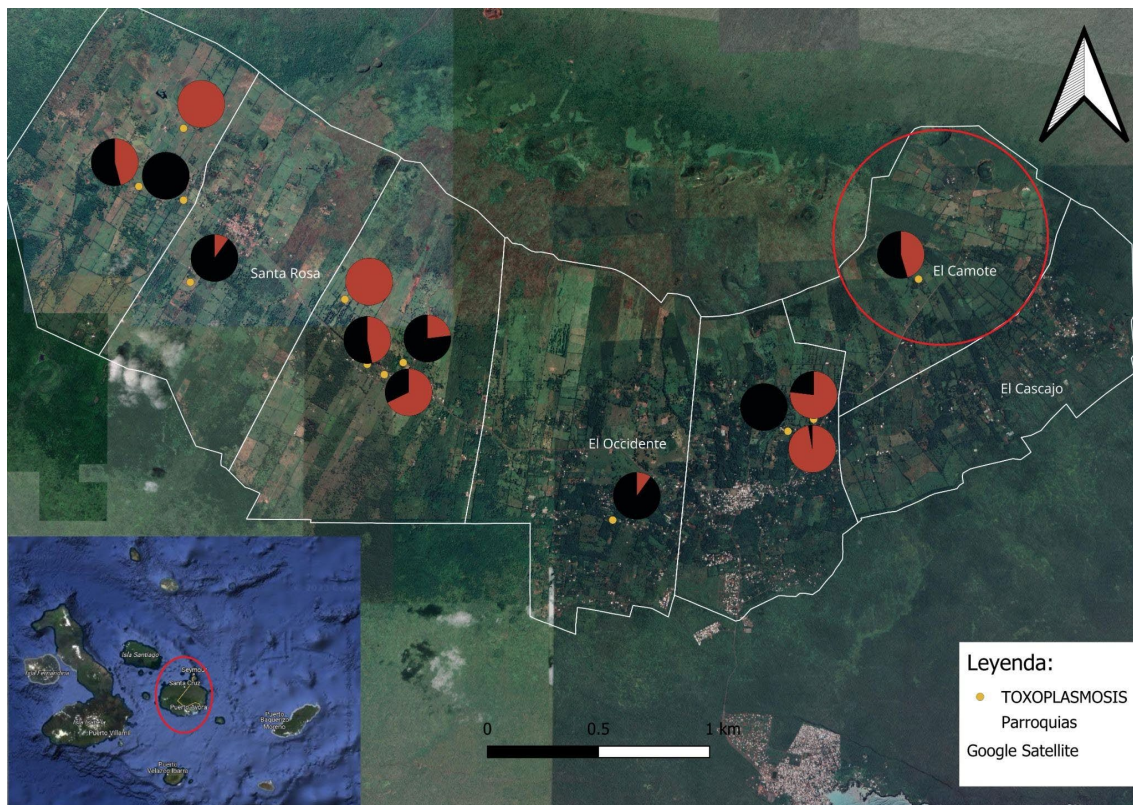


Figura 1. Distribución geográfica de todas las granjas analizadas en la isla Santa Cruz por parroquia, indicando las granjas en las que se detectaron animales seropositivos para *Toxoplasma gondii*. Los puntos en el mapa indican el porcentaje de positividad (rojo) de

los animales en cada cada granja los cuales son contrastados con los animales negativos (negro). La granja con mayor presencia de animales positivos se localiza en El Camote con 95 animales positivos.

Detección de anticuerpos contra *Neospora caninum*.

Los resultados obtenidos de las muestras de suero bovino demostraron que 86/281 bovinos dieron positivo y 195/281 dieron negativo para *N. caninum*. La seroprevalencia a nivel de animal para *N. caninum* fue de 30,52 % (IC95 %: 25,27–36,31). A nivel de granja, la seroprevalencia de *N. caninum* fue del 62,41% (IC 95%: 35,59–83,80%) (8/13). Por otro lado, los animales seropositivos para *N. caninum* fueron de 75/281 en hembras y 11/281 en machos. La distribución geográfica de todas las granjas bovinas analizadas en la isla Santa Cruz, indicando las granjas en las que se detectaron animales seropositivos para *N. caninum*, se muestra en la Figura 2.

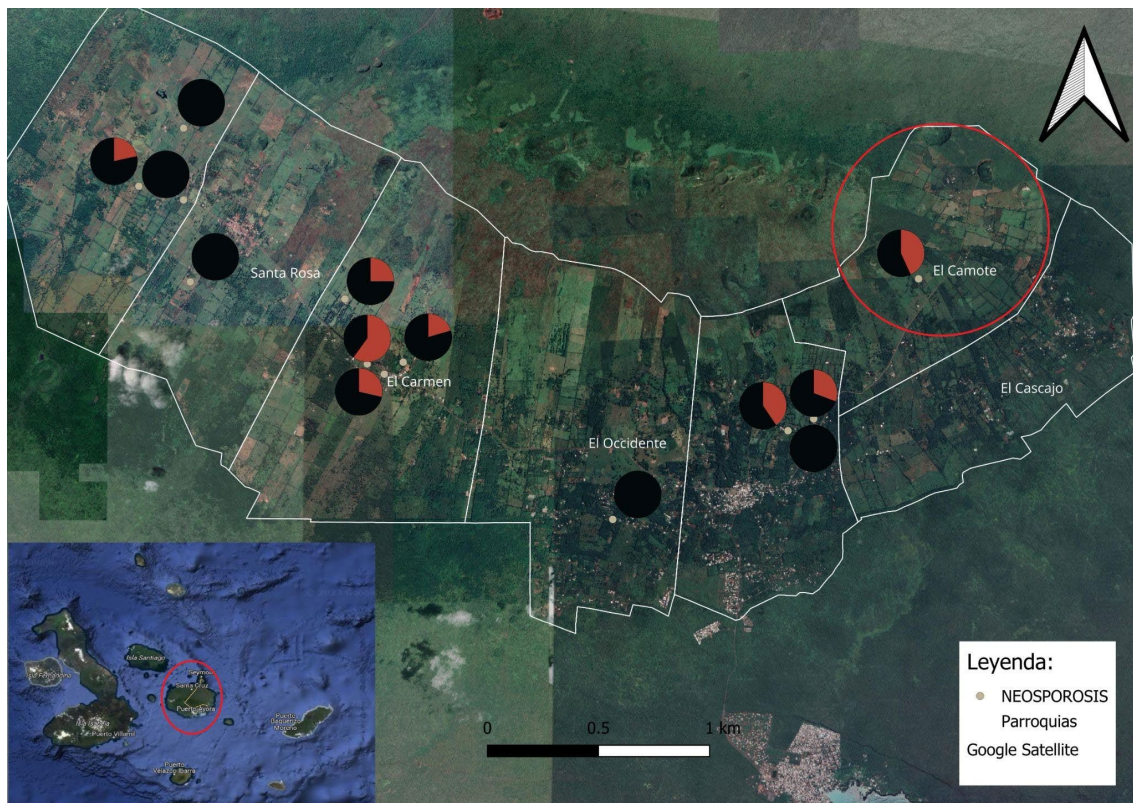


Figura 2. Distribución geográfica de todas las granjas analizadas en la isla Santa Cruz por parroquia, indicando las granjas en las que se detectaron animales seropositivos para *Neospora caninum*. Los puntos en el mapa indican el porcentaje de positividad (rojo) de los animales en cada cada granja los cuales son contrastados con los animales negativos (negro). La granja con mayor presencia de animales positivos se localiza en El Camote con 52 animales positivos.

Discusión

El objetivo de esta investigación fue estudiar la aparición, distribución e importancia de las infecciones por *T. gondii* y *N. caninum* en bovinos de la isla Santa Cruz - Galápagos y analizar la información recopilada que podría ser de utilidad para develar los factores que podrían favorecer la infección por estos parásitos. Se registran infecciones por *Toxoplasma gondii* en poblaciones de bovinos de toda América, con seroprevalencias muy variables (14, 15). En este estudio se reveló una alta seroprevalencia de la infección por *T. gondii* y *N. caninum* en bovinos con 54% y 30,52% respectivamente. Las granjas con animales seropositivos se distribuyeron a nivel del todo el sector productivo de la isla (Figura 1 y 2). Sin embargo, parecería que en el sector de El Camote, las granjas de bovinos tenían con mayor frecuencia un estado seropositivo para ambos agentes patógenos (Figura 1 y 2). Lamentablemente, nuestros resultados no pueden ser comparados con más análisis de la región debido a la falta de información y estudios.

La toxoplasmosis es considerada como una de las zoonosis transmitidas por alimentos más frecuente a nivel mundial y tiene la capacidad de provocar, en pacientes inmunodeprimidos y recién nacidos con infecciones congénitas, una enfermedad potencialmente mortal (16). La carne de cerdos, cabras, ovejas y bovinos infectados son considerados una fuente potencial de contaminación a los seres humanos cuando es ingerida poco cocida o cruda (17, 18, 19). Además, los ooquistes excretados por los felinos son la fuente de contaminación principal para los herbívoros debido a que las heces cargadas con los ooquistes del parásito son consumidas por los animales en el pastoreo habitual (16). El consumo y producción de carne de bovino en las islas Galápagos no está estrictamente restringido a sus cantones, la venta de este producto interislas está permitido y la isla Santa Cruz es la principal generadora de leche y carne de la región (20), por lo que la dispersión de la enfermedad puede verse incrementada en toda la provincia. Además, se ha reportado casos de presencia de ooquistes de *T. gondii* en leche cruda y productos lácteos de animales infectados de forma natural y experimental, lo cual representa un riesgo de infección a humanos y animales (21, 16).

Por otro lado, *Neospora caninum* es un parásito caracterizado por generar niveles altos de abortos en bovinos (22). La transmisión hacia otros animales se da por la ingesta directa de heces con ooquistes del parásito de animales infectados; muy similar a la infección por *T. gondii*. Sin embargo, aún no queda claro si existen otros métodos de infección (carne de consumo o productos lácteos) que ayudan a diseminar la enfermedad. Existe preocupación en la comunidad científica por el potencial zoonótico de este parásito debido a la infección experimental exitosa realizada a dos monos rhesus (*Macaca mulatta*) con *N. caninum* y a la detección de títulos de anticuerpos en seres humanos (23). Hasta hace algunos años atrás no existían pruebas contundentes de la infección de este parásito a los seres humanos debido a que no se había demostrado su presencia en el tejido humano ni detectado su ADN (23). Sin embargo, en una publicación realizada en el 2021 en la cual se analizan reportes de casos de infecciones de este parásito desde 1998 hasta 2019 se confirma su presencia en seres humanos utilizando varias técnicas de diagnóstico incluidas las moleculares (PCR) (24).

Conclusiones

Este estudio transversal a nivel regional identificó una alta prevalencia de anticuerpos contra *T. gondii* y *N. caninum* en la población de bovinos de la isla Santa Cruz en las islas Galápagos y generó los primeros reportes sobre la situación epidemiológica de estos parásitos. Los resultados sugieren que el consumo de carne o leche cruda de bovinos infectados con *T. gondii* podría representar un riesgo para la salud pública. Además, se analizó la situación actual de *N. caninum* a nivel mundial, lo que sugiere su potencial zoonótico en casos de contagio a otras especies incluido el ser humano. Dado que tanto la toxoplasmosis como la neosporosis son enfermedades animales de declaración obligatoria, los resultados proporcionan información valiosa que debe considerarse para el desarrollo de programas de vigilancia y control futuros.

Referencias bibliográficas

1. DUBEY, J. P., et al. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. *Parasitology*, 2012, vol. 139, no 11, p. 1375-1424.
2. DUBEY, Jitender Prakask. *Toxoplasmosis of animals and humans*. CRC press, 2016.
3. DUBEY, J. P., et al. *Neosporosis in animals*. CRC Press, 2017.
4. Hill, Dolores, and Jitender P. Dubey. "Toxoplasma gondii: transmission, diagnosis and prevention." *Clinical microbiology and infection* 8.10 (2002): 634-640.
5. Robert-Gangneux, Florence, et al. "Toxoplasmosis in transplant recipients, Europe, 2010–2014." *Emerging infectious diseases* 24.8 (2018): 1497.
6. Paiz, Laís Moraes, et al. "Anticorpos para Neospora caninum em ovinos de abatedouros do estado de São Paulo, Brasil." *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 24 (2015): 95-100.
7. Lobato, Janaina, et al. "Detection of immunoglobulin G antibodies to Neospora caninum in humans: high seropositivity rates in patients who are infected by human immunodeficiency virus or have neurological disorders." *Clinical and vaccine immunology* 13.1 (2006): 84-89.
8. OSHIRO, Leandra Marla, et al. Neospora caninum and Toxoplasma gondii serodiagnosis in human immunodeficiency virus carriers. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2015, vol. 48, p. 568-572.
9. Tranas, Jennifer, et al. "Serological evidence of human infection with the protozoan Neospora caninum." *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology* 6.5 (1999): 765-767.
10. RIVERA, JE Maldonado, et al. Bovine neosporosis in dairy cattle from the southern highlands of Ecuador. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 2020, vol. 20, p. 100377.
11. CELI, Kevin; GUZMÁN, Lucía; REY-VALEIRÓN, Catalina. Apicomplexans in Goat: Prevalence of Neospora caninum, Toxoplasma gondii, Cryptosporidium

- spp., *Eimeria* spp. and Risk Factors in Farms from Ecuador. *Animals*, 2022, vol. 12, no 17, p. 2224.
12. DEEM, Sharon L., et al. Exposure to *Toxoplasma gondii* in Galapagos penguins (*Spheniscus mendiculus*) and flightless cormorants (*Phalacrocorax harrisi*) in the Galapagos Islands, Ecuador. *Journal of Wildlife Diseases*, 2010, vol. 46, no 3, p. 1005-1011.
 13. MOSQUERA, Juan D., et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in Galapagos birds: Inference of risk factors associated with diet. *Plos one*, 2023, vol. 18, no 7, p. e0287403
 14. MOORE, D. P., et al. The role of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in spontaneous bovine abortion in Argentina. *Veterinary Parasitology*, 2008, vol. 156, no 3-4, p. 163-167.
 15. DA SILVA, Jenevaldo Barbosa, et al. Serological survey of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle (*Bos indicus*) and water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in ten provinces of Brazil. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 2017, vol. 52, p. 30-35.
 16. DUBEY, Jitender Prakask. *Toxoplasmosis of animals and humans*. CRC press, 2021.
 17. COOK, A. J. C., et al. Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study Commentary: Congenital toxoplasmosis—further thought for food. *Bmj*, 2000, vol. 321, no 7254, p. 142-147.
 18. KAPPERUD, Georg, et al. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: results of a prospective case-control study in Norway. *American journal of epidemiology*, 1996, vol. 144, no 4, p. 405-412.
 19. EDELHOFER, R.; PROSSINGER, H. Infection with *Toxoplasma gondii* during pregnancy: seroepidemiological studies in Austria. *Zoonoses and public health*, 2010, vol. 57, no 1, p. 18-26.
 20. GIOIA, G., et al. Estimating the probability of freedom from bovine brucellosis in the Galapagos Islands. *Epidemiology & Infection*, 2019, vol. 147, p. e9.
 21. MANCIANTI, Francesca, et al. Seroprevalence, detection of DNA in blood and milk, and genotyping of *Toxoplasma gondii* in a goat population in Italy. *BioMed research international*, 2013, vol. 2013.
 22. RIBEIRO, Claudia Mello, et al. Meta-analysis of the prevalence and risk factors associated with bovine neosporosis. *Tropical animal health and production*, 2019, vol. 51, p. 1783-1800.
 23. DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, LM1865591. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical microbiology reviews*, 2007, vol. 20, no 2, p. 323-367.
 24. GHAREKHANI, Jamal, et al. A Literature Review of *Neospora caninum* Infection in Humans. *Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection*, 2021, vol. 8, no 3, p. 113-116.