



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Estudio de *Toxoplasma gondii* en suero sanguíneo de ganado bovino en tres centros de faenamiento de la provincia del Azuay mediante kit ELISA

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista.

Autores:

Fabián Enrique Aguilar Valarezo

CI: 0707000840

Correo electrónico: fbn1993.fa@gmail.com

Paola Beatriz Ortiz Molina

CI: 0107298101

Correo electrónico: betys19@hotmail.com

Director:

Dr. Juan Carlos Ramón Cárdenas

CI: 0103611604

Cuenca, Ecuador

21-julio-2021



RESUMEN

La toxoplasmosis es una zoonosis de amplia distribución mundial, producida por *T. gondii*. En Ecuador hay escasa información sobre la seroprevalencia de *T. gondii* en bovinos, mientras que en otros países reportan valores entre 10% a 40% en bovinos y de 30% a 90% en humanos. El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia de bovinos seropositivos a *T. gondii* previos al sacrificio en centros de faenamiento de la provincia del Azuay mediante la prueba de ELISA e identificar si la edad, sexo y procedencia son factores de riesgo asociados a la presencia de *T. gondii*. Se utilizaron 147 muestras de suero sanguíneo tomadas en los camales del Azuay certificados por AGROCALIDAD, 76 de Gualaceo, 51 de Paute y 20 de Girón. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio para su respectivo análisis mediante el kit IDEXX Toxotest – Prueba de ELISA mediante el cual se determinó un 32.7% de animales seropositivos (48/147) y 67.3% negativos (99/147). Al aplicar la prueba de Chi-cuadrado no se encontraron valores significativos de las variables estudiadas ($p>0.05$), pero se consideró asociación significativa a la variable sexo (OR=1.252) como posible factor de riesgo para la presencia de la enfermedad, siendo los machos más propensos a contraer la infección.

Palabras claves: *T. gondii*. IgG. IgM. Bovinos. Factores de riesgo. ELISA.



ABSTRACT

Toxoplasmosis is a zoonosis with a wide worldwide distribution, caused by *T. gondii*. In Ecuador there is little information on the seroprevalence of *T. gondii* in cattle, while in other countries they report values between 10% to 40% in cattle and 30% to 90% in humans. The objective of this study was to determine the frequency of seropositive cattle to *T. gondii* prior to the sacrifice in the slaughter centers of the province of Azuay using the ELISA test and identifying if age, sex and origin are risk factors associated with the presence of *T. gondii*. We used 147 samples of blood serum, which were taken in the beds of Azuay certified by AGROCALIDAD, 76 from Gualaceo, 51 from Paute and 20 from Girón. The samples were processed in the laboratory for their analysis using the IDEXX Toxotest kit - ELISA test which determined there are 32.7% of seropositive animals (48/147) and 67.3% negative (99/147). When we applied the Chi-square test, there were not found significant values of variables studied ($p>0.05$), but a significant association was considered to the variable sex (OR=1.252) as a possible risk factor for the presence of the disease, being the males more prone to contracting the infection.

Key words: *T. gondii*. IgG. IgM. Cattle. Risk factors. ELISA.



TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
LISTA DE TABLAS.....	6
ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA.....	7
AGRADECIMIENTOS	12
AGRADECIMIENTOS	13
DEDICATORIA.....	14
DEDICATORIA.....	15
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	16
CAPÍTULO II: OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo General	18
2.2 Objetivos Específicos.....	18
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS	18
3.1. Hipótesis Estadísticas.....	18
CAPÍTULO IV: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	19
4.1 ANTECEDENTES	19
4.2. Etiología	20
4.3. Ciclo epidemiológico	21
4.3.1. Transmisión	21
4.3.2. Patogenia.....	22
4.4. Toxoplasmosis bovina.....	23
4.4.1. Edad y sexo	23
4.4.2. Procedencia.....	23
4.5. Toxoplasmosis humana	24
4.5.1 Factores de riesgo	24
4.5.2 Toxoplasmosis congénita	25



4.5.3 Manifestaciones clínicas	25
4.6. Diagnóstico en bovinos	25
4.6.1. Prueba de ELISA detección de anticuerpos	26
4.7. Tratamiento.....	27
4.8. Prevención y control.....	28
CAPÍTULO V: MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
5.1 Descripción y ubicación del lugar de estudio	29
5.1.1. Localización geográfica área de estudio.....	29
5.2 Materiales.....	31
5.2.1. Biológicos	31
5.2.2. Físicos	31
5.2.3. Equipos y dispositivos de laboratorio.....	32
5.2.4. Reactivos	32
5.2.5. Equipos de oficina.....	32
CAPÍTULO VI: DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	32
6.1 Metodología para la investigación no experimental	32
6.1.1 Área de estudio.....	32
6.1.2 Determinación de la población.....	33
6.1.3 Selección y tamaño de la muestra.....	33
6.2 Procedimiento	33
6.2.1. Toma de muestras	34
Para la toma de muestras.....	34
6.2.2. Identificación de anticuerpos mediante técnica ELISA	34
6.3.1. Pruebas estadísticas aplicadas	36
CAPÍTULO VII: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
7.1 Resultados Generales.....	37
7.2 Resultados por edad	38



7.3 Resultados por sexo	39
7.4 Resultados por cantones	42
CAPÍTULO VIII CONCLUSIONES	44
CAPÍTULO IX RECOMENDACIONES	44
CAPÍTULO X ANEXOS	45
CAPÍTULO XI BIBLIOGRAFÍA	62



LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Interpretación de resultados.....	27
Tabla 2 Frecuencia de bovinos seropositivos	37
Tabla 3 Resultados de la prueba de ELISA para <i>T. gondii</i> en suero bovino de acuerdo a la edad.....	38
Tabla 4 Análisis de la prueba de Chi-cuadrado en relación con la edad de los bovinos.....	39
Tabla 5 Resultados de la prueba de ELISA para <i>T. gondii</i> en suero bovino de acuerdo al sexo	39
Tabla 6 Odds Ratio por sexo	41
Tabla 7 Análisis de la prueba de Chi-cuadrado con relación al sexo de los bovinos	41
Tabla 8 Resultados de la prueba de ELISA para <i>T. gondii</i> en suero bovino de acuerdo a los cantones	42
Tabla 9 Análisis de la prueba de Chi-cuadrado con relación a los cantones de origen	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura celular de <i>T. gondii</i>	19
Figura 2. Ciclo biológico de <i>T. gondii</i>	22
Figura 3. Ubicación satelital de la provincia del Azuay.....	29
Figura 4. Mapa de los cantones de recolección de las muestras de suero bovino	31

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Hoja de Campo.....	45
Anexo 2. Toma muestras de sangre y valoración de la edad en los camales	56
Anexo 3. Preparación de las soluciones.....	58
Anexo 4. Procesamiento de las muestras	59
Anexo 5. Lectura de las muestras	61



ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

CN: Control Negativo

CP: Control Positivo

ELISA: Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas.

HAI: Hemaglutinación indirecta.

IFAT: Inmunofluorescencia de anticuerpos.

IFI: Inmunofluorescencia indirecta.

IgG: Inmunoglobulina G.

IgM: Inmunoglobulina M.

MAT: Microaglutinación.

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa.

SPSS: Statistical Package for the Social Science.

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana.



Cláusula de Propiedad Intelectual

Paola Beatriz Ortiz Molina, autora del trabajo de titulación "Estudio de *Toxoplasma gondii* en suero sanguíneo de ganado bovino en tres centros de faenamiento de la provincia del Azuay mediante kit ELISA", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 21 de julio de 2021

Paola Beatriz Ortiz Molina

C.I: 0107298101



Cláusula de Propiedad Intelectual

Fabián Enrique Aguilar Valarezo, autor del trabajo de titulación “Estudio de *Toxoplasma gondii* en suero sanguíneo de ganado bovino en tres centros de faenamiento de la provincia del Azuay mediante kit ELISA”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 21 de julio de 2021

Fabián Enrique Aguilar Valarezo

C.I: 0707000840



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio
Institucional

Paola Beatriz Ortiz Molina en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Estudio de *Toxoplasma gondii* en suero sanguíneo de ganado bovino en tres centros de faenamiento de la provincia del Azuay mediante kit ELISA", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 21 de julio de 2021

Paola Beatriz Ortiz Molina

C.I: 0107298101



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Fabián Enrique Aguilar Valarezo en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación “Estudio de *Toxoplasma gondii* en suero sanguíneo de ganado bovino en tres centros de faenamiento de la provincia del Azuay mediante kit ELISA”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 21 de julio de 2021

Fabián Enrique Aguilar Valarezo

C.I: 0707000840



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por ser mi guía y compañía en el largo camino de la vida, por darme la fuerza y fortaleza necesaria para salir en adelante en todos los aspectos de mi vida y por nunca abandonarme. Le doy gracias a mis padres Germán y María por ser el pilar fundamental y principal de mi vida, que nunca me dejan caer, por guiarme y levantarme en todo momento. A mis hermanos Kevin y Alex por ser parte importante de mi vida por darme su fuerza y apoyo en todo momento por no dejarme sola y por siempre llenar mi vida de alegrías y amor cuando más lo he necesitado.

Agradezco a toda mi familia por el apoyo, cariño incondicional y estar en todo momento. Finalmente agradezco a mis amigos Tania y Emanuel por su fuerza y apoyo para no rendirme.

Finalmente agradezco a mi compañero de tesis y amigo por su colaboración y apoyo en todo momento. A mi director de tesis al Dr. Juan Ramón por guiarnos en todos los aspectos de nuestra vida y ser un amigo.

Paola Beatriz Ortiz Molina



AGRADECIMIENTOS

A mis amistades más allegadas Daniela Carpio, Erika Pinos, Adriana Hidalgo, Andrés Curipoma, les agradezco por su apoyo incondicional, consejos, alegrías y locuras que vivimos juntos, que esta amistad perdure por siempre.

A mi compañera tesista, humildad, felicidad, responsabilidad son unos pocos de los tantos valores que te definen como persona, me siento muy agradecido por su esfuerzo, paciencia y positivismo en todo este trayecto.

Finalmente quiero expresar mi más grande y sincero agradecimiento al Dr. Juan Ramón, principal colaborador durante todo este proceso, quien, con su dirección, conocimiento y enseñanzas permitió el desarrollo de este trabajo de investigación.

Fabián Enrique Aguilar Valarezo



DEDICATORIA

A mis padres quienes me dieron vida, educación, apoyo y consejos, en especial a mi madre que nunca desistió y siempre me dio su amor, cariño y comprensión para seguir en adelante. A mis dos hermanos que son mis pilares en todos los momentos de la vida con sus palabras de aliento y cariño. A mi tía Dolores Ortiz quien es un gran apoyo y una gran persona que me inspira a ser mejor persona.

A mis maestros, amigos y familia quienes nunca desistieron al enseñarme, a ellos que continuaron depositando su esperanza en mí, quienes sin su ayuda no hubiera podido hacer esta tesis. A todos les agradezco con todo mi corazón.

Paola Beatriz Ortiz Molina



DEDICATORIA

A Dios y a mis abuelitos, quienes desde el cielo guían mi camino. A mis padres Daniel Aguilar y María del Carmen Valarezo, pilares fundamentales en mi vida, gracias a su esfuerzo y en reconocimiento a todo el sacrificio puesto para que yo pueda estudiar, con mucho amor y cariño les dedico este proyecto de tesis.

A Christian Aguilar, parece como si nunca hubiéramos estado en paz, siempre batallando por cualquier cuestión, sin embargo, llegaron momentos en los que hicimos una tregua para ayudarnos mutuamente, ahora te has convertido en ejemplo a seguir como hermano y padre, con aprecio te dedico este proyecto de tesis.

Fabián Enrique Aguilar Valarezo



CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una enfermedad zoonótica que se distribuye a nivel mundial no distingue género, ni raza. Esta enfermedad genera muchos riesgos tanto a la población humana como animal pudiendo ser mortal, debido a que produce infecciones subclínicas; causada por un protista llamado *Toxoplasma gondii*, es un parásito intracelular, pertenece al filo Apicomplexa. Tiene varias formas infecciosas, conocidos como esporozoítos contenidos en ooquistes esporulados, bradizoítos contenidos en quistes y taquizoítos contenidos en pseudoquistes; su forma es de banana y mide de 7-8 micras (Reyes, 2003).

El ciclo de vida del *T. gondii* se desarrolla en dos diferentes tipos de hospederos: el hospedero definitivo como los felinos, y el hospedero intermediario que son los animales de sangre caliente (incluido bovinos y el humano), dependiendo del hospedero se lleva a cabo la replicación sexual o asexual (Cousen, 2016). La transmisión de *T. gondii* a los seres humanos se produce al consumir carne cruda o mal cocida con quistes en los tejidos, y también al ingerir agua y alimentos contaminados por los ooquistes del parásito (Salazar, 2017).

La infección puede tener graves repercusiones a la salud pese a que no se encuentra sintomatología específica, se ha logrado registrar 2 casos de abortos en los cuales se pudo aislar el parásito, sucedió uno en Portugal a los 5 meses de gestación y otro en Estados Unidos al final de la gestación, lo que da una premisa para involucrar al parásito como posible causante de problemas en la reproducción bovina (Venturini, 2003). La replicación asexual se desarrolla en los hospederos intermediarios en este caso los bovinos, los cuales pueden infectarse mediante la ingesta de ooquistes esporulados o de quistes tisulares presentes en pastizales contaminados (Galván & Mondragón, 2017).

En bovinos jóvenes especialmente en terneros puede causar linfadenopatía, fiebre, inapetencia, signos a nivel respiratorio y del sistema nervioso, generando altas pérdidas económicas (Cabral *et al.*, 2013). En bovinos se ha encontrado quistes de *T. gondii* en la retina y el diafragma, lo que indica la participación de esta especie en la transmisión del parásito (Guerra *et al.*, 2014).



El estudio de las formas de transmisión y prevalencia de la enfermedad en bovinos es importante no sólo para prevenir la existencia de abortos y mortalidad perinatal, sino para evitar que las carnes infectadas con quistes tisulares puedan ser una importante vía de contagio para el ser humano (Medina & Aragón, 2017). En la provincia de Pichincha en Quito-Ecuador se analizó los factores de riesgos sexo, edad y procedencia en 269 bovinos utilizando el kit ELISA indirecto multiespecie que determinó la presencia de anticuerpos de *T. gondii* en suero sanguíneo. (Salazar, 2017).

El propósito de este trabajo es dar a conocer la presencia de anticuerpos del ganado bovino en la provincia del Azuay, siendo uno de los agentes de gran importancia que afectan el sistema reproductivo de las diferentes especies animales con problemas de abortos, y a su vez estos contaminan los campos por medio de la placenta presentando un foco de infección para las demás especies (Saravia *et al.*, 2004), pudiendo llegar a generar un alto grado de pérdidas económicas en el sector productivo. En este contexto, los animales destinados a consumo humano han adquirido gran importancia siendo una de las principales formas de transmisión de la toxoplasmosis, por lo cual se debe establecer un análisis objetivo acerca del origen de los alimentos cárnico, ya que en nuestro medio las mujeres embarazadas y recién nacidos serían los beneficiarios directos de esta investigación.



CAPÍTULO II: OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Determinar la frecuencia de bovinos seropositivos a *T. gondii* previo al sacrificio en los centros de faenamiento de la provincia del Azuay mediante la prueba de ELISA.

2.2 Objetivos Específicos

- Estimar la seropositividad de *T. gondii* en bovinos previos al faenamiento en relación con edad, sexo y procedencia.
- Conocer los factores de riesgo (edad, sexo y procedencia) asociados a la presencia de anticuerpos anti-*T. gondii* en bovinos.

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis Estadísticas.

Ha: La edad, sexo y procedencia son factores de riesgo para el incremento de la seroprevalencia de *T. gondii* en el ganado bovino previo al faenamiento.

CAPÍTULO IV: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1 ANTECEDENTES

Nicolle y Manceaux establecieron el género *Toxoplasma* en 1909. Es un organismo unicelular que se encontró en un pequeño roedor (*Ctenodactylus gundi*) en el norte de África. Llamaron al parásito *T. gondii*, como se muestra en la **Figura 1**. El *Toxoplasma* se reproduce por fisión binaria (en lugar de división), no tienen un hospedero específico y no necesitan artrópodos como un médium, carecen de capacidad o resistencia sexual. Después de varias disputas, el Comité y la Asociación Taxonómica de Protozoólogos lo incluyó en Phylum Sporozoa en 1964 (López, 2014).

El *T. gondii* tiene 61,6 megabases y 592 cM de genoma que consta de unidades genéticas de 104 kb/cM y 14 cromosomas. A excepción de la fase diploide transitoria en el intestino del gato antes de la meiosis, el genoma es haploide en la mayoría de las etapas (Galván & Mondragón, 2017). *T. gondii* es un tipo de organismo eucariota, apicomplejo, que se ha adaptado intracelularmente, infectando y desarrollándose en muchos tipos de células (Pearson, 2019).

Aplicomplexa

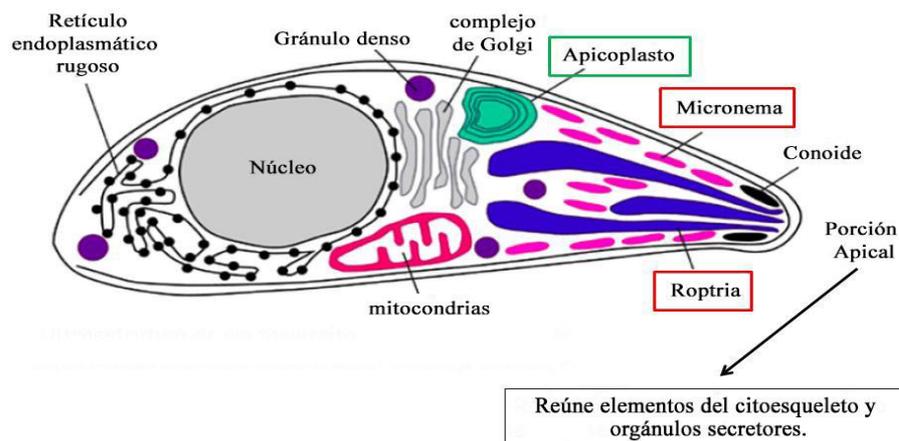


Figura 1. Estructura celular de *T. gondii*

Fuente: Martínez, (2015)



T. gondii adopta formas diferentes, posee tres estadios de desarrollo conocidos como Taquizoítos, Bradizoítos y Esporozoítos.

Taquizoítos: Forma replicada, intracelular. Son visibles en la fase aguda y son responsables de la propagación hacia los tejidos y su destrucción. Tienen un tamaño de 3 μm x 6 μm , ovalados, puntiagudos en un extremo y redondeados en el otro. Se multiplican rápidamente en vacuolas parasitóforas formadas en células nucleares a través de división binaria (endodiogenia). La replicación conduce a la lisis celular y los taquizoítos se diseminan a diferentes tejidos (Galván & Mondragón, 2017).

Bradizoítos: Se diferencia en una forma muy lenta de crecimiento y está contenido en quistes tisulares. Su tamaño es de 1,5 μm x 7,0 μm y su forma es similar a la de los taquizoítos. Entran en la etapa "quiescente" (latente) a través de algún mecanismo. Estas formas, junto con sus membranas, constituyen quistes tisulares y producen inmunidad no estéril; que en condiciones de baja inmunidad estos se reactivan y se diseminan en forma de taquizoítos (Reyes, 2003).

Esporozoítos: Están contenidos en ooquistes portadores de esporas y constituyen la tercera etapa de infección de *T. gondii*, la fase sexual del parásito se desarrolla en las células epiteliales intestinales del hospedero definitivo (felinos). Su tamaño es de 2 μm x 6 μm . Los ooquistes que contienen esta etapa son altamente resistentes porque pueden sobrevivir en suelos húmedos y cálidos hasta por 18 meses (Giraldo, 2008).

4.2. Etiología

El-Massry *et al.*, (2000) describe que el *T. gondii* presenta dos ciclos de vida independientes siendo:

- Ciclo sexual o esporogónico: se produce en el intestino de los gatos, como hospedadores finales del parásito.
- Ciclo asexual o esquizogónico: Ocurre principalmente en los tejidos de los hospedadores intermediarios de los mamíferos como por ejemplo bovinos, ovinos, humanos, etc., es importante señalar que los felinos son hospederos finales, pero también pueden actuar como hospederos intermediarios.



El parásito tiene diferentes etapas de infección y diferentes vías de transmisión, los bradizoítos transmitidos a través de la carne, ooquistes transmitidos a través de la contaminación ambiental (incluidos los productos frescos) y taquizoítos transmitidos de manera congénita, consumo de leche y, en menor medida, donaciones de sangre (Pérez *et al.*, 2011).

Cualquier animal de sangre caliente puede convertirse en reservorio, e incluso los moluscos pueden representar un riesgo para los consumidores como un medio de transmisión mecánico. Los quistes tisulares y taquizoítos son responsables de infectar la carne y leche; mientras que los ooquistes pueden contaminar los productos frescos, mariscos y agua, e infectar a los seres humanos al ser consumidos (Koutsoumanis *et al.*, 2018).

4.3. Ciclo epidemiológico

Tanto el ciclo epidemiológico y ciclo biológico del parásito se inicia con los felinos siendo los hospederos definitivos. En gatos domésticos al ingerir un ratón se infectan y comienzan a eliminar en algún momento determinado los ooquistes (Bojorque, 2016).

4.3.1. Transmisión

Los ooquistes son diseminados primeramente por los gatos, y luego por vectores y otros medios; estos son resistentes a la mayoría de los factores ambientales pudiendo sobrevivir durante meses o incluso años en suelos cálidos y húmedos (Webster, 2010). En humanos y múltiples hospederos intermediarios (mamíferos, aves y otros animales de sangre caliente), después de ingerir bradizoítos o esporozoítos, los parásitos penetran en las células de la mucosa del tracto digestivo se diferencian en taquizoítos y con una reproducción localmente, luego se diseminan a otros órganos a través de la vía sanguínea o linfática. Destruyen activamente casi todas las células y forman una vacuola de parasitófora a partir de la membrana citoplasmática del hospedero (**Figura 2**), después de varios ciclos de reproducción rápida (a través de endodigenia) y lisis de las células invadidas, en órganos inmunoprivilegiados como, el cerebro, órganos de la reproducción y el ojo (Gómez, 2009).

VIAS DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA PARA TOXOPLASMA GONDII



Figura 2. Ciclo biológico de *T. gondii*

Fuente: Koutsoumanis *et al.*, (2018)

4.3.2. Patogenia

Si el animal infectado está gestante, el parásito puede invadir a través de la placenta y provocar un aborto espontáneo y teratogénesis. Cuando la función inmunológica del animal infectado es baja, la reproducción asexual de los taquizoitos puede provocar la necrosis de múltiples órganos, y la muerte del hospedero (González, 2018).



La toxoplasmosis causa un impacto económico significativo en muchos animales domésticos porque es una causa de abortos masivos y alta mortalidad neonatal. Además del ovino, también afecta a caprino, porcinos, conejos y bovinos, aunque este último elimina rápidamente el parásito, por lo que son escasos los casos de toxoplasmosis relacionada con bovinos (El-Massry *et al.*, 2000).

4.4. Toxoplasmosis bovina

Los bovinos no presentan signos cuando están infectados, siendo el hospedero intermedio del parásito. Si bien es difícil aislar quistes tisulares en infecciones naturales, se cree que los bovinos tiene cierta resistencia a la infección, aunque experimentalmente se han recuperado quistes hasta 267 días después de la infección (Salazar, 2017). El principal problema de la infección por *T. gondii* ocurre cuando el animal afectado es una hembra gestante, ya que puede provocar muerte embrionaria, aborto espontáneo, teratogenia (González, 2018).

4.4.1. Edad y sexo

Son factores fundamentales a tener en cuenta, basándonos en la cronología dentaria la cual nos ayuda a conocer la edad promedio del animal (San Isidro, 2013). El porcentaje de bovinos infectados fue el más alto para los animales viejos que pertenecen a los rebaños pequeños con la forma tradicional de crianza (Holec *et al.*, 2013). En bovinos de diferentes edades entre 1 a 4 años promedio la mayoría hembras, indican que el porcentaje para la toxoplasmosis es menor (3.15%) mientras la prevalencia es mayor estadísticamente en los bovinos de mayor edad. Los estudios han demostrado que la edad y el sexo afectan la existencia de *T. gondii*, según la edad de los animales existe mayor riesgo de adquirir el parásito (Gómez *et al.*, 2003).

4.4.2. Procedencia

Como es de conocimiento ciertos factores atmosféricos, ambientales y las diferentes zonas geográficas pueden afectar significativamente el ciclo de vida de diversos microorganismos al interferir con la disponibilidad, actividad o al cambiar las condiciones ambientales que afectan el ciclo reproductivo del hospedero (Meerburg & Kijlstra, 2009).



La temporada de lluvias aumenta la tasa de infección por *T. gondii*, aumentando la incidencia en los felinos, facilitando la diseminación de los ooquistes en el suelo porque son arrastrados por la corriente de lluvia, lo que también se relaciona con la dinámica poblacional de presas potenciales; esto se considera una de las razones de la mayor prevalencia en los países tropicales. La incidencia de la toxoplasmosis aumenta debido a lluvias invernales y altas temperaturas, la supervivencia del parásito se verá afectada por un ambiente más húmedo, la propagación de ooquistes será mayor y así mismo los vectores del parásito aumentarán (Pérez *et al.*, 2011).

4.5. Toxoplasmosis humana

4.5.1 Factores de riesgo

Diferentes estudios han señalado que consumir carne cruda es un factor de riesgo muy importante para la infección por toxoplasma. Un estudio multicéntrico europeo, mostró que el 30-63% de las personas que consumen carne cruda o semi-cocida la infección aumenta 13.2 veces más, en Francia se ha multiplicado 5.5 veces más, mientras que otros países como Noruega y Colombia han aumentado 3.3 veces la infección (López *et al.*, 2005).

En nuestro medio, la prevalencia de esta enfermedad parasitaria es de alrededor del 25%, de hecho, es la enfermedad más investigada en el mundo, afectando 1 de cada 30.000 bebés (Martínez & Palomeque, 2016). La toxoplasmosis en el humano es especialmente importante para fetos, recién nacidos, mujeres embarazadas, personas con toxoplasmosis congénita no diagnosticada o personas con enfermedades que dañan el sistema inmunológico (Salazar, 2017). Las infecciones humanas también se adquieren al ingerir alimentos o agua contaminados por ooquistes de *Toxoplasma*. La mayoría de las infecciones primarias en adultos cursan asintóticamente, pero en algunos casos los pacientes pueden desarrollar linfadenopatía o toxoplasmosis ocular. La reactivación de infecciones latentes en individuos inmunodeprimidos puede provocar encefalitis, miocarditis y neumonía por toxoplasma fatal (Liu *et al.*, 2015).



4.5.2 Toxoplasmosis congénita

Se produce cuando la primoinfección ocurre en la gestación, la infección puede transmitirse al feto ya sea por vía transplacentaria o durante el parto vaginal. Las manifestaciones clínicas varían según la cantidad de días gestacionales, el primer tercio del embarazo es donde causa mayores efectos al feto como teratogénesis, encefalomiелitis, hidrocefalia, parto prematuro, aborto espontaneo; en algunas ocasiones si la madre está infectada en el último tercio de gestación, puede ocurrir un proceso asintomático (Salazar, 2017).

La toxoplasmosis congénita está relacionada directamente con tres factores : la incidencia de infección aguda de las mujeres durante el embarazo, la edad gestacional en la que se adquirió la infección y el plan de enfoque que para prevenir, diagnosticar y tratar la toxoplasmosis en las mujeres embarazadas (Martínez & Palomeque, 2016).

4.5.3 Manifestaciones clínicas

La mayoría de las infecciones primarias no indican sintomatología. El tiempo desde la exposición al parásito hasta la aparición de los síntomas es de una a dos semanas, puede afectar el cerebro, pulmones, corazón, ojos o el hígado (Mino, 2009). En personas con un sistema inmunológico saludable puede indicar inflamación de los ganglios linfáticos de la cabeza y el cuello, cefalea, fiebre, mialgia, odinofagia y otras enfermedades leves; las personas inmunodeprimidas pueden presentar: confusión, fiebre, cefalea, retinitis, lo que provoca visión borrosa y convulsiones (Forero, 2017).

4.6. Diagnóstico en bovinos

El diagnóstico de *T. gondii* es relativamente difícil porque los signos clínicos pueden confundirse con otras enfermedades comunes, además, dado que la mayoría de las veces la enfermedad es subclínica, no hay un signo definitivo de la infección, pero si hay un aborto espontáneo en el hato, es necesario la realización de un diagnóstico diferencial (Liu *et al.*, 2015).



4.6.1. Prueba de ELISA detección de anticuerpos

Para el diagnóstico inmunológico de la toxoplasmosis, la mayoría de los procedimientos utilizan técnicas de inmunoadsorción que capta enzimas de IgG e IgM (ELISA), esta técnica es la más utilizada y la sensibilidad es solo del 70% al 90% (Tenter *et al.*, 2000). Una vez expuesto el sistema inmunológico a *T. gondii* este responde produciendo anticuerpos IgM y IgG ante la infección (Sierra, 2003).

Los anticuerpos **IgM** son producidos por el organismo 5 días después de la infección por *T. gondii*, y su detección se considera un marcador de la fase aguda de la enfermedad. Después de la primera infección hasta 1 o 2 años e incluso según las diferencias individuales aún se puede detectar la IgM (Cuppari *et al.*, 2008).

Los anticuerpos **IgG** se producen varias semanas después de la infección inicial para brindar protección a largo plazo, generalmente aparecen dentro de las primeras 2 semanas, alcanzan un pico en 1 a 2 meses, luego disminuye gradualmente y persisten durante la vida. Una vez expuesto a *T. gondii*, siempre habrá una cierta cantidad de anticuerpos IgG detectables en la sangre por el resto de la vida (Díaz, 2003). La infección puede detectarse tan pronto que la IgG puede ser inicialmente negativa y las muestras posteriores muestran seroconversión (Rosso *et al.*, 2007).

Descripción y principios del Kit ELISA IDEXX Toxotest

El kit proporciona un método rápido, simple, sensible y específico para detectar anticuerpos de *T. gondii* en muestras de suero y plasma de pequeños rumiantes (IDEXX Laboratories, Inc., 2015).

Consta de una placa de microtitulación tapizada con un antígeno inactivado, en donde se incuba la solución diluida de la muestra a procesar. Cualquier anticuerpo frente a *T. gondii* se une al antígeno de los pocillos y forma un complejo antígeno-anticuerpo en la superficie. El conjugado está formado por la unión de **IgG antirumiante** y enzima peroxidasa, el cual es susceptible de unirse a los anticuerpos de rumiante, el sustrato es el TMB (*Tetrametil-bencidina*), mientras la solución de frenado no inactiva la enzima, el grado del color entra a través de la densidad óptica medida a 450 nm, el cual es proporcional a la cantidad de



anticuerpos específicos contra *T. gondii* en la muestra (Calderaro *et al.*, 2009; Reactlab, 2019).

Interpretación

Según Santa Cruz *et al.*, (2007) los resultados se basan en la presencia o ausencia de color. (Tabla 1).

Tabla 1.

Interpretación de resultados

Interpretación	Indicador
Negativo	S/P % < 20
Positivo	S/P % ≥ 100

Nota: S/P valor ratio o índice

Fuente: IDEXX Laboratories, Inc., (2015)

Los resultados se calculan dividiendo la absorbancia de las muestras (corregida restando el valor de absorbancia media del control negativo) entre la absorbancia media del control positivo (corregida restando el valor de absorbancia media del control negativo), para obtener un valor S/P. Multiplicando por 100 el valor S/P, se obtiene el valor en porcentaje (%). Las muestras con un valor (%) inferior al 20% se consideran negativas, mientras que las muestras con un valor (%) superior o igual al 100% se consideran positivas.

Sensibilidad y especificidad diagnóstica del kit ELISA (IDEXX Toxotest)

De acuerdo a lo expresado por IDEXX Laboratories, Inc., (2015) la sensibilidad y especificidad para las Ig que identifican son:

- **IgG:** presenta una sensibilidad del 98% y especificidad del 100% para Toxoplasma ELISA.
- **IgM:** presenta una sensibilidad del 98% -100% y especificidad del 97% - 100% para Toxoplasma ELISA.

4.7. Tratamiento

Una combinación de Sulfamidas y Pirimetamina se usa comúnmente en rumiantes para tratar este parásito, pero estos medicamentos solo son útiles en la fase aguda



de la enfermedad. Estos medicamentos pueden controlar la fase de replicación rápida (la fase aguda), pero no afectan el quiste (González, 2018). Se puede tratar a mujeres embarazadas, recién nacidos y niños, pero puede eliminar completamente los parásitos. El tratamiento con Hidroxinaftoquinona y Azitromicina puede ser de utilidad (Beltrán, 2019). Existen tratamientos para hospederos finales, pero en animales en producción como en los bovinos no se justifica por los costos (Salazar, 2017).

4.8. Prevención y control

El control de esta enfermedad se centra en evitar que los gatos domésticos o salvajes contaminen la comida o el agua de otros animales, otro método es la incineración de los fetos abortados y placentas, para no continuar el ciclo biológico (González, 2018).

Evitar la exposición de hospederos intermediarios con agua y pastos contaminados sobre todo los animales adultos (mayores a 2 años) debido a que los ooquistes sobreviven hasta 18 meses en zonas húmedas (Gómez et al., 2003).

En los centros de faenamiento es importante implementar medidas de bioseguridad debido a la presencia de ooquistes tisulares en los bovinos, los cuales al ser manipulados sin su debida protección pueden actuar como fuente principal de contagio en el humano (Franco, 2015).

CAPÍTULO V: MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Descripción y ubicación del lugar de estudio

5.1.1. Localización geográfica área de estudio



Figura 3. Ubicación satelital de la provincia del Azuay

Fuente: «Google Maps», (2019)

Esta investigación se llevó a cabo en la provincia del Azuay en los cantones de Gualaquiza, Paute y Girón, la provincia está ubicada en la Cordillera de los Andes en el sur de Ecuador. Está conectada con la provincia del Cañar al norte, El Oro y Loja al sur, Morona Santiago y Zamora Chinchipe al este y Guayas al oeste. Se encuentra a una altitud de 3669 m.s.n.m. Las coordenadas son 3°4'60" S y 79°19'60" W (grados, minutos, segundos). El clima es cambiante, con la existencia de sistemas montañosos y vegetación subtropical. La temperatura promedio es de 19 °C y 26 °C (Santillana, 2019).

Girón está ubicado al Sur-Occidente Ecuatoriano vía Girón-Pasaje a 37 km de la ciudad de Cuenca, con una superficie de 350,1 Km², y una temperatura de 10 °C-12 °C. El camal municipal está ubicado a las orillas del Río el Chorro, en la calle 3 de Noviembre (Uzhca & Coronel, 2014). Posee un clima variable desde el templado



al frío, que se registran acorde a las alturas comprendidas entre los 700 y 4000 m.s.n.m. (Achiras, 2021).

Gualaceo está ubicado al Nor-orienté de la provincia del Azuay. Tiene una extensión de 346,5 km², ocupa el 4.3% del territorio provincial (Marambio, 2009). Su Camal Municipal se encuentra ubicado en el área urbana, barrio San Francisco a una altura de 2232 m.s.n.m., y a 204 m del río Santa Bárbara (Valencia *et al.*, 2015). En las partes altas donde se supera los 3.000 m.s.n.m., poseen un clima frío, propio de las zonas altas de las cordilleras donde se asientan los ecosistemas del Bosque Nublado y los páramos andinos. En cuanto a la pluviosidad esta entre los 800 y 1.100 mm anuales en los meses de lluvia que comprende Abril, Mayo, Junio y Julio, mientras que los de sequía pertenecen a Agosto, Septiembre, Octubre y Noviembre (Municipalidad, 2021).

Paute está ubicado en el noreste de la Provincia del Azuay, en la latitud sur 2°46'55" y longitud oeste 78°45'6", su temperatura varía entre 15,9 °C y 19 °C, en el verano puede llegar a 22 °C en el día y -2 °C en la noche (Méndez & Rodríguez, 2014). El camal municipal está ubicado en el sector de Chicti en la parte noreste del centro urbano (Landívar, 2015). Su altitud es de 2100 m.s.n.m., tiene un clima subtropical-templado (Turismo, 2021).

Figura 4. Mapa de los cantones de recolección de las muestras de suero bovino

Fuente: (Aguilar & Ortiz, 2021)

5.2 Materiales

5.2.1. Biológicos

Sangre entera de bovinos destinados al faenamiento de Gualaceo, Paute y Girón.

5.2.2. Físicos

- Tubos vacutainer sin anticoagulante (tapa roja)
- Guantes de nitrilo
- Mandil u overol
- Botas de caucho
- Cooler con gel refrigerante
- Aguja de punción venosa



- Campanas o adaptadores para agujas
- Agua destilada
- Alcohol etílico al 70%

5.2.3. Equipos y dispositivos de laboratorio

- Software de lectura de placas
- Incubadora
- Pipetas de 5 y 100 μ l
- Pipeta multicanal 100 μ l
- Puntas de pipetas desechables
- Probetas graduadas
- Cubiertas de placas (papel de aluminio)
- Espectrofotómetro o lector de placas ELISA
- Centrifuga

5.2.4. Reactivos

- TXT1135T Prueba IDEXX Toxotest Ab

5.2.5. Equipos de oficina

- Computadora e impresora

CAPÍTULO VI: DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

6.1 Metodología para la investigación no experimental

6.1.1 Área de estudio

El estudio se realizó en los centros de faenamiento certificados por AGROCALIDAD de los cantones Guacaleo, Paute y Girón pertenecientes a la provincia del Azuay.



6.1.2 Determinación de la población

Se trabajó con un universo aproximado de 239 animales faenados en el periodo de un mes en los centros de faenamiento del Azuay (125 Gualaceo, 84 Paute y 30 Girón).

6.1.3 Selección y tamaño de la muestra

Mediante la siguiente fórmula no probabilista, aleatoria simple se obtuvo la muestra (Zambrano Varón & Díaz, 2014)

$$n = \frac{N * Z^2 * \sigma^2}{(N - 1) * e^2 + Z^2 * \sigma^2}$$

Donde:

n: tamaño de la muestra

N: 239

σ : constante 0,5

Z: con un IC de 95% → equivale a 1,96

e: 0,05

$$n = \frac{239 * 1,96^2 * 0,5^2}{(239 - 1) * 0,05^2 + 1,96^2 * 0,5^2}$$

$$n = 147$$

En relación a los 239 animales faenados al mes entre los tres cantones mediante la proporción se determinó que el 52% equivale a Gualaceo, 35% a Paute y 13% a Girón.

6.2 Procedimiento

Se colectaron aleatoriamente 147 muestras de sangre entre los tres camales certificados por AGROCALIDAD de la provincia del Azuay, 76 del camal de Gualaceo, 51 del camal del Paute y 20 del camal de Girón. Para medir las variables sexo se identificaron como hembras o machos, la edad se estimó mediante la cronología dentaria y la procedencia según la localidad del propietario en los



sectores de cada cantón de la provincia del Azuay, se utilizaron hojas de campo **(Anexo 1)** (Franco, 2015).

6.2.1. Toma de muestras

Para la toma de muestras se colocó a cada bovino en la manga en donde se utilizaron tubos vacutainer sin anticoagulante, se extrajo 10 ml de sangre de la región coccígea según técnica de Lucero *et al.*, (2010); una vez tomada la muestra se rotuló el tubo y se almacenó a una temperatura de 4 °C para finalmente ser transportada al laboratorio **(Anexo 2)** (Gallo, 2014; Zambrano & Díaz, 2014).

6.2.2. Identificación de anticuerpos mediante técnica ELISA

En el laboratorio las muestras se centrifugaron a 5000 gravedades durante 15 minutos para separar los elementos sanguíneos, luego se procedió a recolectar el suero en una cantidad de 1 ml y se colocaron en tubos eppendorf con la respectiva identificación de cada animal, finalmente las muestras se almacenaron a -20 °C; tomando en cuenta que 24 horas previas a su procesamiento las muestras se descongelaron a temperatura ambiente.

Preparación de la Solución de lavado:

La solución de lavado concentrada (10X) se atemperó a 19 °C–26 °C, se diluyó en una relación 1:10 con agua destilada preparada en condiciones estériles **(Anexo 3)**.

Preparación de las muestras y controles:

Se diluyó las muestras y los controles tanto positivo y negativo en relación 2:400 utilizando la solución de lavado.

Procedimiento del ensayo

Se atemperó a los reactivos entre 19 °C–26 °C antes de usarlos y se los mezclaron agitándolos suavemente **(Anexo 4)**.

1. Identificación de las placas tapizadas con antígeno y se anotó la posición de cada muestra.



2. Se dispensó 100 µl de control positivo (CP) al igual que el control negativo (CN) diluido en pocillos duplicados.
3. Se dispensó 100 µl de la muestra diluida en los pocillos apropiados y mezclamos el contenido de los pocillos golpeando levemente la placa.
4. Se cubrió la placa con papel aluminio para evitar evaporación y se incubo aproximadamente durante 1 hora a 37 °C.
5. Luego de incubar se eliminó el contenido líquido de cada pocillo y se añadió 300 µl de solución de lavado 3 veces, para eliminar el fluido en el lavado final se golpeó la placa sobre papel absorbente levemente.
6. Se dispensó 100 µl de Conjugado en cada pocillo.
7. Se cubrió la placa nuevamente con papel aluminio, se incubo por 1 hora a 37 °C.
8. Se repitió el paso 6.
9. Se dispensó 100 µl de Substrato TMB n°12 en cada pocillo y se incubo por 15 minutos a 19 °C–26 °C.
10. Se dispensó 100 µl de la Solución de Frenado n°3 en cada pocillo.
11. Finalmente se colocó la placa en el espectrofotómetro o lector de placas ELISA a 450 nm, estas fueron leídas dentro de un periodo máximo de 2 horas (**Anexo 5**).

Criterios de validación de los controles

Los resultados se calcularon dividiendo la absorbancia de las muestras entre la absorbancia media del control positivo, para obtener un valor S/P (valor ratio o índice).

$$CN \bar{x} = \frac{CN1 A(450) + CN2 A(450)}{2} \quad CP \bar{x} = \frac{CP1 A(450) + CP2 A(450)}{2}$$

$$CN \bar{x} \leq 0,500$$

$$CP \bar{x} \leq 2,000$$

$$CP \bar{x} - CN \bar{x} \geq 0,300$$

Criterio de validación de las muestras

Se obtiene multiplicando por 100 el valor S/P, dando el valor en porcentaje. Las muestras con un valor inferior al 20% se consideran negativas, mientras que las muestras con un valor superior o igual al 100% se consideran positivas.



$$\frac{S}{P} \% = 100 \times \frac{\text{Muestras A(450)} - CN\bar{x}}{CP\bar{x} - CN\bar{x}}$$

6.3.1. Pruebas estadísticas aplicadas

En los datos que corresponden a lo de la prueba ELISA se aplicaron pruebas estadísticas descriptivas con tablas cruzadas y gráficos de frecuencia (Gorgas *et al.*, 2011). La asociación entre la seroprevalencia de *T. gondii* y cada factor potencial asociado a su transmisión, se analizó mediante el cálculo del Chi-cuadrado para determinar relación y Odds Ratio (OR) como factor de riesgo para determinar asociación. Los datos se procesaron en el paquete estadístico *Statistical Package for the Social Science* versión 22 (SPSS v 22.0). Se aplicó un muestreo aleatorio para la selección de los animales muestreados.



CAPÍTULO VII: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Resultados Generales

Luego de analizar 147 sueros de la especie bovina procedentes de camales de la provincia del Azuay, mediante la técnica de ELISA se obtuvieron los siguientes resultados.

Tabla 2.

Frecuencia de bovinos seropositivos

Resultado	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Positivo	48	32.70%
Negativo	99	67.30%
Total	147	100.00%

En la **Tabla 2** se observa que existe una prevalencia de anticuerpos para *T. gondii* en la provincia del Azuay del 32.7% de positivos (48/147) y 67.3% de negativos (99/147). Estos resultados coinciden con un estudio realizado por Franco, (2015), quién observó una seroprevalencia de Toxoplasmosis en bovinos del 36.6%, resultado similar al de Esteves *et al.*, (2013) quienes mencionan que la seroprevalencia de *T. gondii* fue de 35.7% usando la prueba de hemoaglutinación indirecta o inhibición de la hemoaglutinación (HAI) y de 17.1% con la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI); por otro lado, los resultados de Salazar, (2017) demuestran que existe la presencia de bovinos potencialmente expuestos en la provincia de Pichincha - Ecuador mediante ELISA indirecto con el 23.42% (63/269) de positivos.

No obstante, Frazão & Oliveira, (2011) analizaron sueros de 77 bovinos y 61 porcinos al norte del estado de Río de Janeiro, Brasil, para detectar la presencia de anticuerpos anti-*T. gondii* mediante ELISA, encontraron una seropositividad del 49.9% (38/77). Los resultados del presente estudio difieren con Lora *et al.*, (2007) quienes detectaron en Colombia la presencia de *T. gondii* en carnes; Rodríguez, (2008) recolecto sueros de tres especies para analizar toxoplasmosis por medio de técnicas de diagnóstico inmunoenzimático en la isla de Gran Canaria y obtuvo un

80% de resultados positivos, mientras Álvarez *et al*, (2011) en explotaciones entre 100 y 500 cabezas obtuvieron un 91.4% de positivos. Al igual que de Souza *et al.*, (2016), mediante inmunofluorescencia de anticuerpos (IFAT) utilizaron 1000 muestras en el estado de São Paulo, Brasil e identificaron un 5.3% de positivos (53), valor que fue menor al esperado. La variabilidad de la seroprevalencia pueden deberse a características medio ambientales, presencia de hospedadores definitivos, al manejo y a los diferentes valores de sensibilidad y especificidad diagnosticas de las pruebas utilizadas (Acha & Szyfres, 2003).

7.2 Resultados por edad

Tabla 3.

Resultados de la prueba de ELISA para T. gondii en suero bovino de acuerdo a la edad

Edad (Años)	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa	Resultados
<2	15	28.8%	Positivo
	37	71.2%	Negativo
≥2	33	34.7%	Positivo
	62	65.3%	Negativo
Total	147		

En la **Tabla 3** se observa que el grupo de bovinos mayores a 2 años presenta mayor número de casos positivos 34.7% (33/95), esto se relaciona con lo planteado por Holec *et al.*, (2013) quienes indican que existe una prevalencia estadísticamente mayor en los bovinos mayores de 2 años. Además, Salazar, (2017) indica que el grupo de animales entre 3 a 6 años de edad presentan mayor número de casos positivos 28% (28/100). Los resultados obtenidos por Gómez *et al.*, (2003), en las edades de alpacas de 0 a un 1 año presentaron un 30% de positividad, mientras que los animales mayores a 3 años presentaron un 62%, los cuales son similares a los obtenidos en esta investigación. Ramírez *et al.*, (2005), mediante la prueba IFI, en 272 muestras de sangre, demostró que sólo la edad representa un factor de riesgo en los animales de 2, 4 y 6 años de edad con un porcentaje de 20%, 34% y 40% de casos positivos respectivamente. Mientras que Souza *et al.*, (2001) utilizando la técnica IFAF en 411 muestras de búfalos de granjas lecheras encontraron en los animales de 2-4 años de edad un 39.2% de anticuerpos para *T. gondii* y entre los 5 y 6 años de edad un 62.5% de anticuerpos, lo cual concuerda

con nuestro estudio pero difiere en cierto grado en los porcentajes de seropositividad. Por lo que es lógico esperar que a mayor edad existe mayor probabilidad de infección de toxoplasmosis (Gómez *et al.*, 2003). además los animales al estar expuestos al consumo de agua y pastos contaminados son más propensos a tener contacto con el parásito (Marcas *et al.*, 2004).

Tabla 4.

Análisis de la prueba de Chi-cuadrado en relación con la edad de los bovinos

	Valor	Gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	6.512 ^a	6	0.368
N de casos válidos	147		

a. 5 casillas (35,7%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,33.

Los resultados de la prueba de Chi-cuadrado indican que la edad está asociada al riesgo de adquirir la enfermedad debido a que existe una mayor exposición al contagio (**Tabla 4**). Si bien hay mayor frecuencia de animales seropositivos mayores a 2 años, los resultados nos indican que no existe relación significativa entre las edades de los bovinos y la presencia de anti-*T. gondii* ($p>0.05$); este resultado es similar al obtenido por De la Cruz Chumpitaz, (2009), evidenciando que no existe asociación entre la variable edad y nivel de infección. Además, de las 272 muestras de sangre colectadas, Ramírez *et al.*, (2005) indican que los animales muestreados presentan un incremento de anticuerpos según la edad, dando a conocer que a mayor edad la probabilidad de infectarse puede ser más alta, lo cual la posibilidad de infección en el grupo de 4 años con respecto al de 2 años fue de 1.76 y en el grupo de 6 años fue de 2.69.

7.3 Resultados por sexo

Tabla 5.

Resultados de la prueba de ELISA para T. gondii en suero bovino de acuerdo al sexo

Sexo	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa	Resultados
Hembras	23	30.3%	Positivo
	53	69.7%	Negativo
Machos	25	35.2%	Positivo



	46	64.8%	Negativo
Total	147		

En la **Tabla 5** se muestran los resultados obtenidos por sexo, del total de hembras el 30.3% (23/76) presentó anticuerpos para *T. gondii* y el 69.7% restante fueron negativos (53/76). En el caso de los machos, los resultados fueron 35.2% (25/71) de positivos y 64.8% (46/71) de negativos. Hamidinejat *et al.*, (2010) analizaron 450 muestras de bovinos hembras mediante microaglutinación (MAT) encontrando 71 (15.77%) de positivas, estos valores son similares a los obtenidos en la presente investigación. En otro estudio, Hamidinejat *et al.*, (2010) realizado en 300 búfalos, encontraron que el 28.5% de machos y el 6.66% de hembras fueron positivos, resultados que también son similares a los obtenidos en este estudio, presentándose un porcentaje de seropositivos mayor en animales machos, este factor puede deberse a que los centros de faenamiento están constituidos la mayor parte de animales machos destinados al sacrificio y procedente de zonas de clima húmedos, mientras que las hembras en su mayor parte están destinadas a la reproducción y producción lechera, solo las hembras de descartes son enviadas al matadero (Montoya *et al.*, 2015).

Nuestros resultados difieren por los obtenidos por Salazar, (2017) en relación al sexo, 24.5% (60/244) de hembras presentaron anticuerpos para *T. gondii*, y en el caso de los machos el 12% (3/25) tuvieron un resultado positivo. Un estudio similar realizado por Rodríguez, (2008) menciona que la seropositividad para las hembras de 35.85% y en los machos de 31.11% sin reportar diferencias estadísticas relacionadas al sexo. Además, Gómez *et al.*, (2003) demostraron que los anticuerpos en las hembras (56%) fueron más altos que los machos (33%), debido a que las hembras pastorean la mayor parte del tiempo en zonas bajas y húmedas cerca de riegos y estos son ambientes propicios para que los ooquistes sobrevivan, mientras que los machos pastorean a lo largo del año en las zonas altas y laderas, donde el clima es frío y seco, lo que disminuiría la probabilidad de sobrevivencia de los ooquistes del parásito. A diferencia que en las hembras existe una condición de relajamiento llamado inmunoperiparto que las hace más susceptibles que a los machos frente a la infección, lo que difiere con los resultados obtenidos por Ramírez *et al.*, (2005).

Tabla 6.*Odds Ratio por sexo*

		Estimación de riesgo		
		Valor	Intervalo de confianza de 95 %	
			Inferior	Superior
Odds ratio para	HEMBRA - MACHO	1.252	0.628	2.498
TOTAL		147		

El resultado de la **Tabla 6** demuestra que el hecho de que el animal sea macho tiene 1.2 veces mayor riesgo de ser seropositivo, por lo tanto, existe una probabilidad de que este evento ocurra.

Tabla 7.*Análisis de la prueba de Chi-cuadrado con relación al sexo de los bovinos*

	Valor	Gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	0.409 ^a	1	0.523
N de casos válidos	147		

a. 0 casillas (0,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 23,18.

Se muestra en la **Tabla 7** los resultados de la prueba de Chi-cuadrado indican que el sexo está asociado a la presencia de la enfermedad, pero no existe relación estadísticamente significativa entre el sexo de los bovinos y la presencia de *T. gondii* con un valor $p > 0.05$. Estos resultados difieren con los obtenidos por Gómez *et al.*, (2003) en donde la prevalencia obtenida fue mayor en hembras ($p < 0.01$) que en machos. Villa *et al.*, (1981) encontró diferencias significativas demostrándose la mayor reactividad serológica en los machos de carne procedentes de clima cálido, que además de ser el ganado que más se sacrifica (más del 70%). La mayor prevalencia de reactores a toxoplasmosis en alpacas hembras es posible que se deba a las diferencias en el manejo de los animales (Suárez *et al.*, 2004).

7.4 Resultados por cantones

Tabla 8.

Resultados de la prueba de ELISA para T. gondii en suero bovino de acuerdo a los cantones

Cantones	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa	Resultados
Gualaceo	25	32.9%	Positivo
	51	67.1%	Negativo
Paute	16	31.4%	Positivo
	35	68.6%	Negativo
Girón	7	35%	Positivo
	13	65%	Negativo
Total	147		

En la **Tabla 8** se muestran los resultados analizados por cantones, el porcentaje de más alto de positivos fue en Gualaceo 32.9% (25/76), seguido de un 31.4% (16/51) de positivos en Paute y 35% (7/20) de positivos en Girón. Cabe mencionar que la ubicación geográfica, desempeña un papel importante en la transmisión del parásito, Ramírez *et al.*, (2005), señala una prevalencia a *T. gondii* de 34.5% y 35.7% respectivamente; en las zonas húmedas de Puna en el Cusco. El medio ambiente frío y seco, así como la altitud de la zona (de 4190 a 4300 m.s.n.m.) también estarían influyendo en la presencia de la enfermedad (Saravia *et al.*, 2004).

Con respecto al clima, la mayor seroprevalencia en un 90.5% se ha obtenido en el clima mediterráneo continental húmedo, con la pluviosidad más alta de la provincia de Sevilla según Reyes, (2003). Y Souza *et al.*, (2001), señala que obtuvo un valor de 49.9% hallados por para esta especie en Sao Paulo con la prueba de IFI obtuvo un 3.9% de prevalencia registrada en Bahía, Brasil.

Tabla 9.

Análisis de la prueba de Chi-cuadrado con relación a los cantones de origen

	Valor	GI	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	0.090 ^a	2	0.956
N de casos válidos	147		



a. 0 casillas (0,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 6,53.

Se muestra en la **Tabla 9** los resultados obtenidos de la prueba de Chi-cuadrado indican que la presencia de *T. gondii* está asociada al cantón, aunque estadísticamente no existe relación significativa entre los mismos con un valor $p > 0.05$. Este resultado puede relacionarse con lo planteado por Reyes, (2003), quien obtuvo un valor de $p = 0,231$, lo cual demuestra que no existe relación entre la presencia de la enfermedad y la zona climática. Cabe reiterar que la infección es más común en climas calientes, en altitudes más bajas con climas fríos y regiones montañosas influyen en la elevada prevalencia de la infección relacionada a la frecuencia de felinos y el clima que permite que los ooquistes sobrevivan (Parásitos, 2004).

El 44.5% y 27.9% de seroprevalencia de toxoplasmosis encontrada por Gómez *et al.*, (2003), menciona que en los niveles elevados 4,000 m.s.n.m. donde el clima es frío existe menor probabilidad de sobrevivencia de los ooquistes del parásito, mientras que en zonas húmedas son ambientes propicios para el desarrollo y conservación de los ooquistes del parásito. Por otra parte Alvarado *et al.*, (2014) en México encontró asociación entre varias características ambientales, altitud, temperatura y precipitado 1266 mm – 1650 mm en con un valor $p = 0.01$ y un OR = 1.85.



CAPÍTULO VIII CONCLUSIONES

Los resultados expuestos anteriormente demuestran la exposición de los bovinos a *T. gondii* en la provincia del Azuay, estadísticamente se descarta la hipótesis planteada, demostrando que los factores de riesgo como edad, sexo y procedencia no fueron significativos, pero haciendo relevancia que los bovinos machos y mayores a 2 años de edad son más propensos a exponerse a la infección al contrario que las hembras, siendo el sexo un posible factor de riesgo que puede predisponer a adquirir el parásito. Por otro lado, los valores obtenidos nos indican que el 32.7% de los animales muestreados fueron positivos, debido a la presencia de anticuerpos en los animales faenados procedentes de los distintos sectores pertenecientes a la provincia del Azuay; el cantón Girón presentó mayor seroprevalencia de animales positivos (35%) en comparación a los otros cantones como Gualaceo (32.9%) y Paute (31.4%).

CAPÍTULO IX RECOMENDACIONES

Se considera interesante proponer para futuras investigaciones relacionadas a *T. gondii*

- A futuros tesisistas, que la investigación realizada sea una guía para indagar a profundidad sobre este tema.
- Analizar una población con mayor número de muestras ya sea en centros de faenamiento, haciendas de grandes productores, parroquias, cantones y provincias.
- Comparar resultados utilizando otros reactivos y/o diferentes técnicas para constatar que la metodología utilizada es factible.

En las haciendas y centros de faenamiento pertenecientes a climas húmedos se lleve un mejor control de este parásito, realizando controles y análisis periódicos.



CAPÍTULO X ANEXOS

Anexo 1. Hoja de Campo

HOJA DE CAMPO DE DATOS ANTE-MORTEM					
	BOVINO (NOMBRE O # DE ARETE)	EDAD	SEXO	DISTANCIA PROCEDENCIA	OBSERVACIONES
1	Vacuna #1	18 meses	H	Chachiyacu Paute	
2	Vaca # 2	24 meses	H	Chachiyacu Paute	
3	Vacuna #3	18 meses	H	Chachiyacu Paute	
4	Toro #1	18 meses	M	Bulan Paute	
5	Toro # 2	12 meses	M	Bulan Paute	
6	Toro #5	12 meses	M	Zhumir-Paute	
7	Toro #6	18 meses	M	Guachapala	
8	Vacuna #6	18 meses	H	Bulan Paute	
9	Toro #7	24 meses	M	Guachapala	
10	Vacuna # 18	18 meses	H	Bulan Paute	
11	Vaca # 8	24 meses	H	Zhumir Paute	
12	Toro # 24	24 meses	M	Zhumir Paute	
13	Toro #25	30 meses	M	Guachapala	
14	Vaca # 9	36 meses	H	El Cabo Paute	



HOJA DE CAMPO DE DATOS ANTE-MORTEM				
BOVINO (NOMBRE O # DE ARETE)	EDAD	SEXO	DISTANCIA PROCEDENCIA	OBSERVACIONES
15	Vaca # 11	30 meses	H	El cabo Paute
16	Vaca # 12	30 meses	H	San Cristobal Paute
17	Vaccona # 13	18 meses	H	San Cristobal Paute
18	Vaccona # 14	18 meses	H	San Cristobal Paute
19	Vaca # 15	36 meses	H	Bulan Paute
20	Vaca # 16	42 meses	H	Bulan Paute
21	Vaca # 24	24 meses	H	Chachiyacu Paute
22	Vaccona # 25	18 meses	H	Bulan Paute
23	Vaca # 26	30 meses	H	Aumir Paute
24	Vaccona # 27	18 meses	H	Ahumir Paute
25	Toro # 36	18 meses	M	Bulan Paute
26	Toro # 43	24 meses	M	Chachiyacu Paute
27	Vaccona # 28	18 meses	H	Chachiyacu Paute
28	Toro # 44	24 meses	M	Bulan Paute



HOJA DE CAMPO DE DATOS ANTE-MORTEM					
BOVINO (NOMBRE O # DE ARETE)	EDAD	SEXO	DISTANCIA PROCEDENCIA	OBSERVACIONES	
29	Toro # 45	18 meses	M	Bulan Paute	
30	Toro # 46	42 meses	M	Zhumir Paute	
31	Vaca # 30	30 meses	H	Bulan Paute	
32	Vaca # 33	30 meses	H	Chachiyacu Paute	
33	Vaca # 34	24 meses	H	el cabo Paute	
34	Vaca # 35	42 meses	H	el cabo Paute	
35	Vaca # 36	48 meses	H	Zhumir Paute	
36	Vaca # 37	30 meses	H	Chachiyacu Paute	
37	Vaca # 38	30 meses	H	Bulan Paute	
38	Vaccona # 39	18 meses	H	Bulan Paute	
39	Vaccona # 48	18 meses	H	Chachiyacu Paute	
40	Vaccona # 49	18 meses	H	Zhidmad Paute	
41	Vaca # 50	30 meses	H	Chachiyacu Paute	
42	Vaca # 51	36 meses	H	Bulan Paute	



HOJA DE CAMPO DE DATOS ANTE-MORTEM				
BOVINO (NOMBRE O # DE ARETE)	EDAD	SEXO	DISTANCIA PROCEDENCIA	OBSERVACIONES
43	Toro # 70	30 meses	M	La Unión Gualaaceo
44	Vaca # 61	24 meses	H	Pampadel Giron
45	Toro # 71	18 meses	M	Chorro Giron
46	Toro # 72	18 meses	M	Pampadel Giron
47	Vaca # 62	36 meses	H	Pampadel Giron
48	Vaca # 63	24 meses	H	Chorro Giron
49	Vacuna # 64	18 meses	H	Asuncion Giron
50	Vacuna # 65	18 meses	H	Asuncion Giron
51	Vaca # 66	24 meses	H	San Gerardo
52	Vacuna # 67	18 meses	H	Giron
53	Vaca # 68	24 meses	H	El Verde Giron
54	Vaca # 69	24 meses	H	San Gerardo
55	Vacuna # 70	18 meses	H	Bellavista Giron
56	Vacuna # 71	18 meses	H	Rikeya Giron



HOJA DE CAMPO DE DATOS ANTE-MORTEM				
BOVINO (NOMBRE O # DE ARETE)	EDAD	SEXO	DISTANCIA PROCEDENCIA	OBSERVACIONES
57	Toro # 3	18 mes 4	M	Manyun Gualaceo
58	Toro # 4	12 mes 4	M	Manyun Gualaceo
59	Vacuna # 4	12 mes 4	H	Chordeleg
60	Toro # 8	24 mes 4	M.	Gualaceo
61	Vacuna # 5	24 mes 4	H	Cristo Rey Gualaceo
62	Toro # 9	12 mes 4	M	Gulag Gualaceo
63	Toro # 10	12 mes 4	M	Cristo Rey Gualaceo
64	Toro # 11	24 mes 8	M	San Juan Gualaceo
65	Toro # 12	36 mes 4	M	Cristo Rey Gualaceo
66	Toro # 13	12 mes 4	M	Gulag Gualaceo
67	Toro # 15	14 mes 4	M	San Juan Gualaceo
68	Toro # 16	36 mes 4	M	Cristo Rey Gualaceo
69	Toro # 17	18 mes 4	M	Cristo Rey Gualaceo
70	Toro # 18	18 mes 4	M	Cristo Rey Gualaceo



HOJA DE CAMPO DE DATOS ANTE-MORTEM				
BOVINO (NOMBRE O # DE ARETE)	EDAD	SEXO	DISTANCIA PROCEDENCIA	OBSERVACIONES
71	Toro # 18	18 meses	M	Cristo Rey Gualaceo
72	Toro # 19	42 meses	M	Gulag Gualaceo
73	Toro # 20	24 meses	M	Cristo Rey Gualaceo
74	Toro # 21	36 meses	M	Gulag Gualaceo
75	Toro # 22	24 meses	M	San Juan Gualaceo
76	Toro # 23	24 meses	M	Gulag Gualaceo
77	Toro # 26	30 meses	M	Gualaceo Cristo Rey
78	Toro # 27	36 meses	M	Gualaceo Chordeleg
79	Toro # 28	30 meses	M	Chordeleg
80	Vaca # 17	42 meses	H	Zhidmad Gualaceo
81	Vacuna # 18	18 meses	H	Zhidmad Gualaceo
82	Vaca # 19	24 meses	H	Zhidmad Gualaceo
83	Vaca # 20	30 meses	H	Callasay Gualaceo
84	Vaca # 21	36 meses	H	Callasay Gualaceo



HOJA DE CAMPO DE DATOS ANTE-MORTEM				
BOVINO (NOMBRE O # DE ARETE)	EDAD	SEXO	DISTANCIA PROCEDENCIA	OBSERVACIONES
85	Vaca # 22	42 meses	H	Callasay Gualaceo
86	Toro # 29	18 meses	M	Cristo Rey Gualaceo
87	Toro # 30	18 meses	M	La Union Gualaceo
88	Toro # 31	12 meses	M	La Union Gualaceo
89	Toro # 32	36 meses	M	San Juan Gualaceo
90	Toro # 33	30 meses	M	Cristo Rey Gualaceo
91	Toro # 34	24 meses	M	Gulag Gualaceo
92	Toro # 35	24 meses	M	Gulag Gualaceo
93	Vacuna # 23	18 meses	H	San Juan Gualaceo
94	Toro # 37	18 meses	M	San Juan Gualaceo
95	Toro # 38	24 meses	M	Cristo Rey Gualaceo
96	Toro # 39	24 meses	M	Cristo Rey Gualaceo
97	Toro # 40	36 meses	M	San Juan Gualaceo
98	Toro # 41	24 meses	M	Cristo Rey Gualaceo



HOJA DE CAMPO DE DATOS ANTE-MORTEM				
BOVINO (NOMBRE O # DE ARETE)	EDAD	SEXO	DISTANCIA PROCEDENCIA	OBSERVACIONES
99	Toro # 42	18 meses	M San Juan Gualaceo	
100	Toro # 44	30 meses	M Cristo Rey Gualaceo	
101	Toro # 48	36 meses	M Cristo Rey Gualaceo	
102	Toro # 49	18 meses	M Cristo Rey Gualaceo	
103	Vaca # 31	36 meses	H Cristo Rey Gualaceo	
104	Vaca # 32	30 meses	H La Union Gualaceo	
105	Toro # 50	18 meses	M La Union Gualaceo	
106	Toro # 51	36 meses	M Culag Gualaceo	
107	Toro # 52	24 meses	M La Union Gualaceo	
108	Toro # 53	36 meses	M Cristo Rey Gualaceo	
109	Vaca # 40	36 meses	H La Union Gualaceo	
110	Vaca # 41	42 meses	H La Union Gualaceo	
111	Vaca # 42	36 meses	H Cristo Rey Gualaceo	
112	Vaca # 43	36 meses	H Cristo Rey Gualaceo	



HOJA DE CAMPO DE DATOS ANTE-MORTEM				
BOVINO (NOMBRE O # DE ARETE)	EDAD	SEXO	DISTANCIA PROCEDENCIA	OBSERVACIONES
113	Vaca #44	24 meses	H Cristo Rey Gualaaceo	
114	Vaca #45	36 meses	H Bulag Gualaaceo	
115	Vaca #46	30 meses	H La Union Gualaaceo	
116	Toro #54	36 meses	M La Union Gualaaceo	
117	Toro #55	24 meses	M Bulag Gualaaceo	
118	Vaca #47	18 meses	H Cristo Rey Gualaaceo	
119	Toro #56	36 meses	M Bulag Gualaaceo	
120	Toro #57	18 meses	M Cristo Rey Gualaaceo	
121	Toro #58	18 meses	M San Juan Gualaaceo	
122	Vaca #55	18 meses	H San Juan Gualaaceo	
123	Toro #59	24 meses	M Cristo Rey Gualaaceo	
124	Toro #60	36 meses	M Cristo Rey Gualaaceo	
125	Toro #61	36 meses	M Cristo Rey Gualaaceo	
126	Toro #62	36 meses	M Cristo Rey Gualaaceo	



HOJA DE CAMPO DE DATOS ANTE-MORTEM				
BOVINO (NOMBRE O # DE ARETE)	EDAD	SEXO	DISTANCIA PROCEDENCIA	OBSERVACIONES
127	Toro #63	24 meses	M	La Unión Gualaceo
128	Toro #64	18 meses	M	La Unión Gualaceo
129	Toro #65	36 meses	M	San Juan Gualaceo
130	Toro #66	36 meses	M	San Juan Gualaceo
131	Vaca #60	36 meses	H	Cristo Rey Gualaceo
132	Toro #69	36 meses	M	Cristo Rey Gualaceo
133	Vaca #52	30 meses	H	Bulan Paute
134	Vaca #54	36 meses	H	Zhumir Paute
135	Toro #67	18 meses	M	Paute
136	Vaca #55	36 meses	H	Guachapala
137	Vaca #56	24 meses	H	Zhumir Paute
138	Vaca #57	24 meses	H	Bulan Paute
139	Vaca #58	36 meses	H	Bulan Paute
140	Vaca #59	24 meses	H	Paute



HOJA DE CAMPO DE DATOS ANTE-MORTEM				
BOVINO (NOMBRE O # DE ARETE)	EDAD	SEXO	DISTANCIA PROCEDENCIA	OBSERVACIONES
141	Vacuna # 72	18 meses	H	Leocapac Giron
142	Vacuna # 73	18 meses	H	Romipamba Giron
143	Vacuna # 74	18 meses	H	Bellavista Giron
144	Vaca # 17	24 meses	H	El Verde Giron
145	Vaca # 76	24 meses	H	El Verde Giron
146	Vacuna # 77	18 meses	H	El Verde Giron
147	Vaca # 78	36 meses	H	El Verde Giron
148				
149				
150				
151				
152				
153				
154				

Anexo 2. Toma muestras de sangre y valoración de la edad en los camales



Foto 1: Limpieza de la zona de punción.



Foto 2: Punción entre la 4ª a 7ª espacio intervertebral.



Foto 3: Consumir el vacío del vacutainer 10 ml.



Foto 4: Retiro del tubo y aguja.



Foto 5: Leve presión en la zona de punción.



Foto 6: Rotulación de la muestra.



Foto 7: Correcto transporte de muestras temperatura a 4 °C.



Foto 8: Cronología dentaria para determinar la edad.

Anexo 3. Preparación de las soluciones

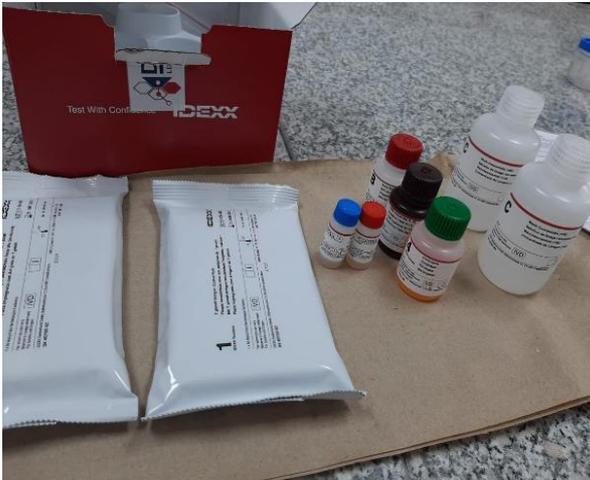


Foto 9: KIT ELISA IDEXX TOXOTEST.



Foto 10: Centrifugación de las muestras.



Foto 11: Suero en tubos eppendorf.

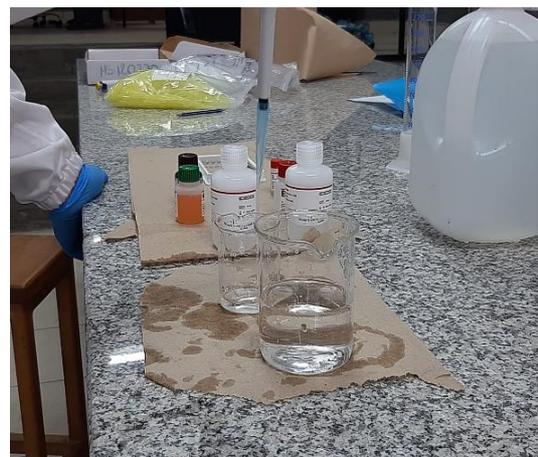


Foto 12: Solución de lavado.

Anexo 4. Procesamiento de las muestras



Foto 13: Dilución de las muestras.



Foto 14: Dilución de los controles positivo v negativo.

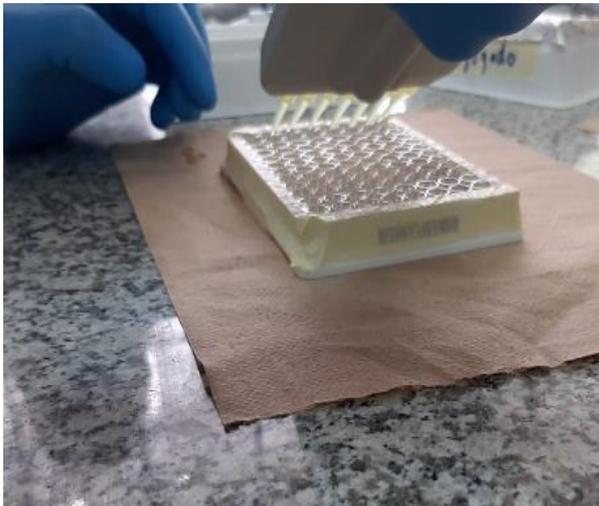


Foto 15: Lavado de la placa.



Foto 16: Conjugado, Substrato TMB n° 12, Solución de Frenado n° 3.

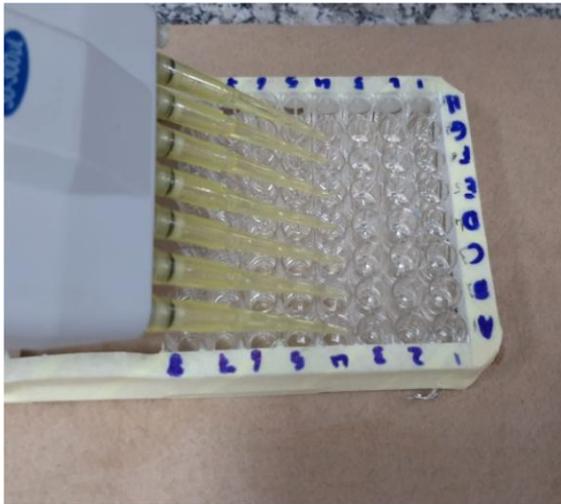


Foto 17: Conjugado.



Foto 18: Substrato TMB n° 12.



Foto 19: Solución de Frenado n° 3.

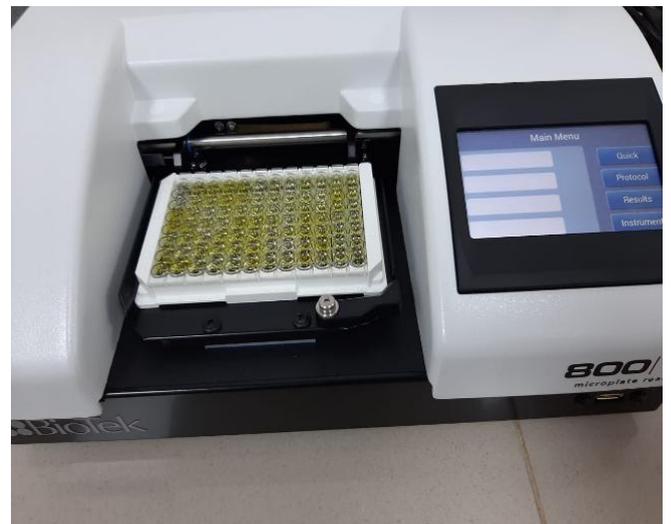


Foto 20: Espectrofotómetro o lector de placas ELISA.

Anexo 5. Lectura de las muestras

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Control -	Tr#2	Tr#25	Vc#20	Tr#45	Vc#38	Tr#67	Tr#44	Tr#13	Tr#22	Vc#20	Tr#34
Control -	Tr#5	Vc#9	Vc#25	Tr#46	Vc#39	Vc#55	Vc#44	Tr#15	Tr#23	Vc#21	Tr#35
Control +	Tr#6	Vc#11	Vc#26	Vc#30	Vc#48	Vc#56	Tr#8	Tr#16	Tr#26	Vc#22	Vc#23
Control +	Vc#6	Vc#12	Vc#27	Vc#33	Vc#49	Vc#57	Vc#5	Tr#17	Tr#22	Tr#29	Tr#37
Vc#1	Tr#7	Vc#13	Tr#36	Vc#34	Vc#50	Vc#58	Tr#9	Tr#18	Tr#28	Tr#30	Tr#38
Vc#2	Vc#7	Vc#14	Tr#43	Vc#35	Vc#51	Vc#59	Tr#10	Tr#19	Vc#19	Tr#31	Tr#39
Vc#3	Vc#8	Vc#15	Vc#28	Vc#36	Vc#52	Tr#68	Tr#11	Tr#20	Vc#18	Tr#32	Tr#40
Tr#1	Tr#20	Vc#16	Tr#44	Vc#37	Vc#54	Tr#3	Tr#12	Tr#21	Vc#19	Tr#33	Tr#41

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Control -	Vc#31	Vc#42	Tr#56	Tr#63	Tr#71	Vc#69	Vc#72				
Control -	Vc#32	Vc#43	Tr#57	Tr#64	Tr#72	Vc#70	Vc#73				
Control +	Tr#50	Vc#44	Tr#58	Tr#65	Vc#73	Vc#71					
Control +	Tr#51	Vc#45	Vc#55	Tr#66	Vc#74	Vc#72					
Tr#42	Tr#52	Vc#46	Tr#59	Vc#60	Vc#65	Vc#73					
Tr#47	Tr#53	Tr#54	Tr#60	Tr#60	Vc#66	Vc#74					
Tr#48	Vc#40	Tr#55	Tr#61	Tr#70	Vc#67	Vc#75					
Tr#49	Vc#41	Vc#47	Tr#62	Vc#61	Vc#68	Vc#76					



CAPÍTULO XI BIBLIOGRAFÍA

- Acha, P., & Szyfres, B. (2003). *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales: Vol. III (Tercera)*. Publicación Científica y Técnica No. 580. <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/711/9275119936.pdf?sequence=2>
- Achiras. (2021). *Generalidades*. <https://achiras.net.ec/giron/generalidades/>
- Alvarado Esquivel, C., Romero Salas, D., García Vázquez, Z., Cruz Romero, A., Peniche Cardeña, Á., Ibarra Priego, N., Aguilar Domínguez, M., Pérez de León, A. A., & Dubey, J. P. (2014). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Veracruz State, Mexico and its association with climatic factors. *BMC Veterinary Research*. <https://doi.org/10.1186/s12917-014-0232-5>
- Álvarez, C., Herrera, C., & Gómez, J. E. (2011). *Toxoplasmosis: Búsqueda de genes de virulencia de Toxoplasma gondii en cepas de diferentes tipos de clones y muestras clínicas: El caso de ROP16, resultados preliminares*. <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/download/519/650/>
- Beltrán de Miguel, A. (2019). *Toxoplasmosis: Síntomas, diagnóstico y tratamiento*. <https://www.cun.es/enfermedades-tratamientos/enfermedades/toxoplasmosis>
- Bojorque Pazmiño, M. P. (2016). *Actualización de la seroepidemiología de Toxoplasma gondii en gatos de la ciudad de Cuenca*. [Tesis Masters, Universidad De Cuenca]. <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/25508/1/Tesis.pdf>
- Cabral, A. D., Camargo, C. N., Galletti, N. T. C., Okuda, L. H., Pituco, E. M., & Del Fava, C. (2013). Screening for *Toxoplasma gondii* in aborted bovine fetuses in Brazil. *Arquivos Do Instituto Biológico*, 80(1), 103-105. <https://doi.org/10.1590/S1808-16572013000100015>



- Calderaro, A., Peruzzi, S., Piccolo, G., Gorrini, C., Montecchini, S., Rossi, S., Chezzi, C., & Dettori, G. (2009). Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection. *International Journal of Medical Sciences*, 6(3), 135-136.
- Cousen Añazco, V. B. (2016). *Prevalencia de Toxoplasma gondii en felinos domésticos (Felis catus) en las clínicas veterinarias de la ciudad de Ambato* [Tesis, Universidad Técnica de Ambato]. <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/24311>
- Cuppari, A. F., Sanchez, V., Ledesma, B., Frank, F. M., Goldman, A., Angel, S. O., & Martin, V. (2008). *Toxoplasma gondii* protease inhibitor-1 (TgPI-1) is a novel vaccine candidate against toxoplasmosis. *Vaccine*, 26(39), 5040-5045. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.07.031>
- De la Cruz Chumpitaz, H. I. (2009). *Toxoplasmosis en alpacas hembras de la Unidad de Producción de Cuyo de la SAIS Pachacútec* [Tesis, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/743/Delacruz_ch.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- de Souza, J. B. R., Soares, V. E., Maia, M. O., Pereira, C. M., Ferraudo, A. S., Cruz, B. C., Pires Teixeira, W. F., Felippelli, G., Maciel, W. G., Gonçalves, W. A., da Costa, A. J., & Zanetti Lopes, W. D. (2016). Spatial distribution and risk factors for *Toxoplasma gondii* seropositivity in cattle slaughtered for human consumption in Rondônia, North region, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 226, 145-149. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.07.015>
- Díaz Suárez, O. (2003). Diagnóstico serológico de las infecciones por *Toxoplasma gondii*. *Investigación Clínica*, 44(2), 85-87.
- El-Massry, A., Mahdy, O. A., El-Ghaysh, A., & Dubey, J. P. (2000). Prevalence of *Toxoplasma gondii* Antibodies in Sera of Turkeys, Chickens, and Ducks from Egypt. *Journal of Parasitology*, 86(3), 627-628. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2000\)086\[0627:POTGAI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2000)086[0627:POTGAI]2.0.CO;2)



- Esteves V, K., Chávez V, A., Casas A, E., & Lí E, O. (2013). Determinación de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en búfalos de agua (*bubalus bubalis*) en el distrito de jenaro herrera, Loreto, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 23(3), 6.
- Forero Morantes, D. (2017, febrero 8). *Síntomas de la toxoplasmosis*. Salud al día. <https://www.webconsultas.com/toxoplasmosis/sintomas-de-la-toxoplasmosis-2145>
- Franco Hernández, E. N. (2015). *Prevalencia y factores asociados a la infección por Toxoplasma gondii en carne procedente de plantas de beneficio animal con destino nacional* [Tesis Masters, Universidad Nacional de Colombia]. <http://bdigital.unal.edu.co/48850/>
- Frazão Teixeira, E., & Oliveira, F. de. (2011). Anti-*Toxoplasma gondii* Antibodies in Cattle and Pigs in a Highly Endemic Area for Human Toxoplasmosis in Brazil. *Journal of Parasitology*, 97(1), 44-47. <https://doi.org/10.1645/GE-2457.1>
- Gallo Lamping, C. A. (2014, julio). *Manual de diagnóstico con énfasis en laboratorio clínico veterinario—Repositorio Institucional de la Universidad Nacional Agraria*. <http://repositorio.una.edu.ni/2745/>
- Galván, M. de la L., & Mondragón, R. (2017). *Toxoplasmosis Humana* (Primera). Erconfan. https://www.researchgate.net/profile/Ma_Galvan-Ramirez/publication/320404110_Toxoplasmosis_Humana/links/59e28780458515393d57f665/Toxoplasmosis-Humana.pdf#page=17
- Giraldo Restrepo, M. L. (2008, junio 10). *Toxoplasmosis*. <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2008/myl087-8c.pdf>
- Gómez, F., Chávez, A., Casas, E., Serrano, E., & Cárdenas, Ó. (2003). Determinación de la Seroprevalencia de Toxoplasmosis en alpacas y llamas en la estación experimental Inia-Puno. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 14(1), 49-53.

- Gómez Marín, J. E. (2009, junio). *Revista Veterinaria Argentina* » *Toxoplasmosis: Nuevos Conceptos*.
<https://www.veterinariargentina.com/revista/2009/06/toxoplasmosis-nuevos-conceptos/>
- González, K. (2018, enero 24). Toxoplasmosis en Rumiantes, signos clínicos, tratamiento y prevención. [Enfermedades Bovinas]. *Zootecnia y Veterinaria es mi Pasión*. <https://zoovetespasion.com/ganaderia/enfermedades-bovinas/toxoplasmosis-en-rumiantes/>
- Google. (2020). *Google Maps*. *Google Maps*.
<https://www.google.com/maps/place/Azuay/@-3.0293185,-79.3966721,98416m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x91ccded0cbfd12d5:0x153cd1a7d07447bd!8m2!3d-2.8943068!4d-78.9968344>
- Gorgas García, J., Zamorano Calvo, J., & Cardiel López, N. (2011, febrero). *Estadística básica para estudiantes de Ciencias*.
http://webs.ucm.es/info/Astrof/users/jaz/ESTADISTICA/libro_GCZ2009.pdf
- Guerra, N. R., Alves, B. H. L. e S., Farias, M. P. O., Mota, R. A., Alves, L. C., Guerra, N. R., Alves, B. H. L. e S., Farias, M. P. O., Mota, R. A., & Alves, L. C. (2014). Frequency of *Toxoplasma gondii* antibodies in bovines in the state of Pernambuco, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 23(3), 417-419. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014056>
- Hamidinejat, H., Ghorbanpoor, M., Nabavi, L., Haji Hajikolaei, mohammad R., & Razi Jalali, M. H. (2010). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in South-West of Iran. *Tropical Biomedicine*, 27(2), 275-279.
- Hamidinejat, H., Ghorbanpour, M., Nabavi, L., Haji Hajikolaie, M. R., & Razi Jalali, M. H. (2010). Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in female cattle in south-west of Iran. *Tropical Animal Health and Production*, 42(5), 899-903. <https://doi.org/10.1007/s11250-009-9505-6>

- Holec, L., Drapała, D., Dominiak, B., & Kur, J. (2013). Epidemiological study of *Toxoplasma gondii* infection among cattle in Northern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine: AAEM*, 20(4), 653-656.
- IDEXX Laboratories, Inc. (2015). *Kit para la detección de Anticuerpos frente a Toxoplasma gondii*. IDEXX. <https://www.idexx.com/en/livestock/livestock-tests/ruminant-tests/idexx-toxotest-ab-test/>
- Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., Davies, R., Cesare, A. D., Herman, L., Hilbert, F., Lindqvist, R., Nauta, M., Peixe, L., Ru, G., Simmons, M., Skandamis, P., Suffredini, E., Cacciò, S., Chalmers, R., ... Robertson, L. (2018). Public health risks associated with food-borne parasites. *EFSA Journal*, 16(12), 113. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5495>
- Landívar C, M. F. (2015, octubre). *Operación del camal y la feria del ganado del GAD municipal del cantón Paute*. <https://maeazuay.files.wordpress.com/2015/10/borrador-de-dia-operacion-camal-y-feria-del-ganado.pdf>
- Liu, Q., Wang, Z.-D., Huang, S.-Y., & Zhu, X.-Q. (2015). Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. *Parasites & Vectors*, 8(1), 292. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0902-6>
- López, C. A., Díaz, J., & Gómez, J. E. (2005). Factores de riesgo en mujeres embarazadas, infectadas por *Toxoplasma gondii* en Armenia-Colombia. *Revista de Salud Pública*, 7(2), 180-190. <https://doi.org/10.1590/S0124-00642005000200006>
- López Tricas, J. M. (2014, septiembre 11). *Toxoplasma gondii*. info-farmacia. <http://www.info-farmacia.com/microbiologia/toxoplasma-gondii>
- Lora, F., Aricapa, H. J., Pérez, J. E., Arias, L. E., Idarraga, S. E., Mier, D., & Gómez Marín, J. E. (2007). Detección de *Toxoplasma gondii* en carnes de consumo humano por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tres

- ciudades del eje cafetero. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 11(3), 117-123.
- Lucero, A., Rocha, Y., Gonzales, A. P., & Pinzon, G. (2010, mayo 13). *Practica toma de muestras de sangre en bovinos para envio a laboratorio*. Reproducción Bovina 2010. <http://reproduccion-bovina2010.blogspot.com/p/practica-toma-de-muestras-de-sangre-en.html>
- Marambio Chávez, J. P. (2009). *Análisis Situacional sobre la Percepción del Uso y Consumo de Drogas en el Cantón Gualaceo, 2009*. http://www.cicad.oas.org/fortalecimiento_institucional/savia/PDF/Cant%C3%B3n%20Gualaceo.pdf
- Marcas, G., Chávez, A., Casas, E., García, W., & Falcón, N. (2004). Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en llamas de dos fundos ganaderos de la provincia de Melgar, Puno. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 15(3), 5.
- Martínez Grueiro, M. (2015, junio). *Un parasito intracelular: Toxoplasma gondii*. <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/ESTELA%20DEL%20MAR%20BERDION%20CAMA%C3%91O.pdf>
- Martínez, M. E., & Palomeque, K. I. (2016). *Seroprevalencia anti Toxoplasma gondii y factores de riesgo asociados en embarazadas atendidas en el centro de salud* [Tesis, Universidad De Cuenca]. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/24225/1/TESIS.pdf>
- Meerburg, B. G., & Kijlstra, A. (2009). Changing climate—changing pathogens: *Toxoplasma gondii* in North-Western Europe. *Parasitology Research*, 105(1), 17-24. <https://doi.org/10.1007/s00436-009-1447-4>
- Méndez, H. T., & Rodriguez, P. (2014, noviembre). *Diagnóstico por componentes e integrado- Paute*. http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdiagnostico/01600005100_01_DIAGN%C3%93STICO_GADM_PAUTE%20FINAL_12-03-2015_09-21-02.pdf



- Mino T, J. (2009, diciembre 4). *El sueño de cualquier gobierno: Gondii*. El Blog de Minín. <https://soymino.wordpress.com/2009/12/04/el-sueno-de-cualquier-publicista-gondii/>
- Montoya, F., Ramirez, L., Loaiza, A., Henao, J. E., & Murillo, G. (2015). Prevalencia de anticuerpos para *Toxoplasma gondii* en bovinos y porcinos. *Boletín de La Oficina Sanitaria Panamericana*, 91(3), 219-227. <https://doi.org/10665.2/17157>
- Municipalidad de Gualaceo. (2021). *Datos Geográficos*. <https://www.gualaceo.gob.ec/gualaceo/datos-geograficos/>
- Parásitos y salud. (2004, diciembre 13). *Toxoplasmosis*. https://www.mcdinternational.org/trainings/malaria/spanish/dpdx/HTML/Frames/S-Z/Toxoplasmosis/body_Toxoplasmosis_page1#Geographic%20Distribution
- Pearson, R. D. (2019, mayo). *Toxoplasmosis*. <https://www.msmanuals.com/es-es/professional/enfermedades-infecciosas/protozoos-extraintestinales/toxoplasmosis>
- Pérez, J. E., Villada Gómez, J. S., Naranjo Pérez, O. D., & Castaño, S. V. (2011). Formas alternas de transmisión de *Toxoplasma gondii*. *Biosalud*, 10(2), 123-137.
- Ramírez R., J., Chávez V., A., Casas A, E., Rosadio A, R., & Falcón P, N. (2005). Seroprevalencias de *Toxoplasma gondii* en Alpacas de comunidades de la Provincia de Canchis, Cusco. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 16(2), 6.
- Reactlab. (2019). *Toxoplasma ELISA - Vircell*. Solución de Diagnóstico de las Enfermedades Infecciosas Humanas. <https://en.vircell.com/products/toxoplasma-elisa/>



- Reyes Ortega, M. D. (2003). *Seroprevalencia de la toxoplasmosis en rumiantes de abasto de la provincia de Sevilla* [Tesis, Universidad de Córdoba, Servicio de Publicaciones]. <http://helvia.uco.es/xmlui/handle/10396/375>
- Rodríguez Ponce, E. (2008). *Seroprevalencia de la Toxoplasmosis en las especies Humana, Caprina y Bovina en Gran Canaria* [Tesis Post Grado, Universidad de las Palmas de gran Canaria]. <file:///C:/Users/ASUS/Downloads/1118.pdf>
- Rosso, F., Agudelo, A., Isaza, Á., & Montoya, J. G. (2007, julio). *Toxoplasmosis congénita: Aspectos clínicos y epidemiológicos de la infección durante el embarazo*. <https://www.redalyc.org/html/283/28338318/>
- Salazar Medina, J. N. (2017). *Determinación de la presencia de anticuerpos de Toxoplasma gondii en suero de bovinos de la provincia de Pichincha*. [Tesis, Universidad Central Del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/13173/1/T-UCE-0014-044-2017.pdf>
- San Isidro, C. U. V. (2013, noviembre). *Conocimiento de la edad en los bóvidos*. <https://www.cuvs.com/2013/11/conocimiento-de-la-edad-en-los-bovidos.html>
- Santa Cruz, A. C., Figueroa, D. E., & Dalence, R. R. (2007). Comparación de dos métodos serológicos para el diagnóstico de Toxoplasmosis. *Gaceta Médica Boliviana*, 30(2), 11-14.
- Santillana. (2019, septiembre). *Conociendo mi provincia Azuay*. <http://blog.santillana.com.ec/wp-content/uploads/2019/09/AZUAY.pdf>
- Saravia P., M., Chávez V., A., Casas A., E., Falcón P., N., & Pinto S., W. (2004). Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en llamas de una empresa pecuaria en Melgar, Puno. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 15(1), 49-55.
- Sierra Arango, F. (2003). La sensibilidad y especificidad: Entendiendo su origen y utilidad real. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 18(3), 180-182.



- Souza, L., Nascimento, A., Furuta, P., Basso, L., Silveira, D., & Costa, A. (2001). Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em soros de bubalinos (*Bubalus bubalis*) no Estado de São Paulo, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, 22(1), 48. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2001v22n1p39>
- Suárez A., F., Flores G., W., Chávez V., A., Rivera G., H., & Huanca L., W. (2004). Toxoplasmosis en alpacas de la Sierra Altoandina. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 15(2), 170-173.
- Tenter, A. M., Heckeroth, A. R., & Weiss, L. M. (2000). *Toxoplasma gondii*: From animals to humans. *International Journal for Parasitology*, 30(12-13), 1217-1258.
- Turismo del Cantón Paute. (2021). *DATOS | Paute hermoso*. <https://pautehermoso.wordpress.com/datos-generales/>
- Uzhca, J. M., & Coronel, R. (2014). *Diagnóstico del Plan de Desarrollo Cantonal y Ordenamiento Territorial del Cantón Girón 2014—2019*. http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdiagnostico/01600003500_01_DIAGNOSTICO%20ACTUALIZACION%20PDOT%202014_15-03-2015_10-19-36.pdf
- Valencia, F., Prado, K., & Gordillo, J. (2015, abril). *Operación de la Unidad de Camal Municipal de Gualaceo*. <https://maeazuay.files.wordpress.com/2015/06/eia-camal-gualaceo.pdf>
- Venturini, L. (2003). *Algunos aspectos de Toxoplasmosis en Medicina*. <http://helminto.inta.gob.ar/confe1a4/Confe2003.htm>
- Villa, R., Gaviria, I., Alzate, F., Cañas, L., & Montoya, F. (1981). Niveles de anticuerpos para *Toxoplasma gondii* por inmunofluorescencia indirecta. *Acta Médica Colombiana*, 6(2), 234.



Webster, J. P. (2010). Dubey, JP Toxoplasmosis de animales y humanos. *Parasites & Vectors*, 3(1), 112. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-112>

Zambrano Varón, J. L., & Díaz, S. (2014). *¿Cómo determinar el tamaño de una muestra?* <https://www.psyma.com/company/news/message/como-determinar-el-tamano-de-una-muestra>