



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Facultade de Ciencias

Grao en Bioloxía

Memoria do Traballo de Fin de Grao

***Toxoplasma gondii* y su riesgo potencial para la
población derivado del consumo de
carnes infectadas**

***Toxoplasma gondii* e
o seu risco potencial para a poboación derivado
do consumo de carnes infectadas**

***Toxoplasma gondii* and its potential risk for the
population derived from the consumption of
infected meats**

Alejandro Toral Sobrino

Curso: 2019 – 2020.Convocatoria: Julio

Director: José Enrique Torres Vaamonde

El Dr. José Enrique Torres Vaamonde profesor del Departamento de Biología de la Universidade da Coruña

INFORMA:

Que el presente Trabajo Fin de Grado, realizado por **Alejandro Toral Sobrino**, ha sido realizado bajo mi dirección y, considerándolo finalizado, doy el Visto Bueno para su presentación al Tribunal Calificador.

A Coruña, a 20 de Julio del 2020

Fdo.: Enrique Torres

Resumen:

En este trabajo se realiza una revisión bibliográfica del conocimiento actual sobre el patógeno *Toxoplasma gondii*, describiendo su estructura, ciclo de vida, enfermedad que provoca (la toxoplasmosis) y vías de transmisión, prestando una especial atención a la infección en granjas y transmisión directa al consumidor de carnes infectadas. Además, se realiza una encuesta a ganaderos locales de la zona de A Coruña con el fin de analizar el conocimiento de estos sobre el tema y de cómo utilizan esa información a la hora de gestionar sus granjas. Esta encuesta indicó que el sector a nivel local (y tradicional) está bastante desinformado sobre el patógeno, lo que provoca que no se tomen medidas para prevenirlo, originando posibles fuentes de infección que posteriormente pasará al consumidor.

Resumo:

Neste traballo realízase unha revisión bibliográfica do coñecemento actual sobre o patóxeno *Toxoplasma gondii*, na que se describe a súa estrutura, ciclo de vida, enfermidade que causa (toxoplasmosis) e rutas de transmisión, prestando especial atención á infección nas granxas e a transmisión directa ao consumidor de carnes infectadas. Ademais, realízase unha enquisa a agricultores locais da zona da Coruña co fin de analizar o seu coñecemento do tema e como usan esta información á hora de xestionar as súas explotacións gandeiras. Esta enquisa indicou que o sector a nivel local (e tradicional) está bastante desinformado sobre o patóxeno, o que significa que non se toman medidas para evitalo, creando posibles fontes de infección que despois será transmitida ao consumidor.

Summary:

In this work, a bibliographic review of the current knowledge about the pathogen *Toxoplasma gondii* is carried out, describing its structure, life cycle, disease causing (toxoplasmosis) and transmission routes, paying special attention to infection in farms and direct transmission to the consumer of infected meats. In addition, a survey is carried out on local farmers in A Coruña, in order to analyze their knowledge of the subject and how they use this information when managing their farms. This survey indicated that the sector at the local (and traditional) level is quite uninformed about the pathogen, which means that no measures are taken to prevent it, causing possible sources of infection that will later pass on to the consumer.

Palabras clave:

Coccidio, Zoonosis, Protozoo, Quiste, Transmisión congénita, Endodiogenia

Índice

1.Introducción:	1
2.Objetivos:	1
3.Desarrollo:	2
3.1 Descripción del patógeno y ciclo de vida:	2
3.2 Patología y grupos de riesgo:	7
3.3 Vías de transmisión:	9
3.3.1 Vía: Taquizoitos	9
3.3.2 Vía: Bradizoitos (quistes de tejido)	11
4.Resultados de las encuestas:	15
5.Conclusiones:	15
6.Bibliografía:	16
7.Apéndice 1: Encuesta	19

1.Introducción:

El coccidio tisular formador de quistes, *Toxoplasma gondii*, es uno de los parásitos más conocidos hasta la fecha. Es un protozoo causante de la enfermedad denominada toxoplasmosis, enfermedad parasitaria que puede ocasionar desde infecciones leves y asintomáticas hasta infecciones mortales que afectan mayormente al feto. Tiene un ciclo de vida facultativamente heterogéneo y puede infectar a todos los animales de sangre caliente (mamíferos y aves) y a los humanos.

T. gondii es frecuente en la mayoría de las áreas del mundo y es de importancia veterinaria y médica, ya que puede causar abortos o enfermedades congénitas en sus hospedadores intermedios. Por su gran importancia como agente causante de una zoonosis, *T. gondii* ha sido estudiado más intensamente entre los coccidios.

Su incidencia en humanos ha ido en aumento en las últimas décadas, ya que una de las principales vías de transmisión a los mismos es la carne infectada, y si no es sometida a una serie de procesos preventivos durante su producción y preparación, resulta una gran problemática. El cambio en los hábitos alimentarios (como la mayor preferencia de productos cárnicos menos procesados) y las diferentes gestiones en granjas y fábricas a lo largo de todo el mundo resultan factores claves en esta incidencia. En este trabajo se pretende presentar el estado actual de los conocimientos de este patógeno, haciendo finalmente un estudio sobre su incidencia en la gestión de granjas locales (utilizando encuestas en la provincia de A Coruña) como posible problemática en las infecciones por ingestión.

2.Objetivos:

Este trabajo tiene dos objetivos: realizar una revisión de la información acerca del parásito y analizar el conocimiento que poseen los ganaderos sobre el mismo.

3.Desarrollo:

3.1 Descripción del patógeno y ciclo de vida:

El ciclo vital de *Toxoplasma gondii* es heterogéneo facultativo (heterogéneo quiere decir que el ciclo vital se completa con dos o más huéspedes, pero en este caso, por eso el término de facultativo, el ciclo puede completarse únicamente con un solo huésped). Los huéspedes intermedios son todos los animales de sangre caliente, entre los que se incluyen los seres humanos y también los principales animales que se explotan en el mercado cárnico. Respecto al huésped definitivo, hasta ahora solo se ha demostrado que los únicos huéspedes definitivos son los miembros de la familia *Felidae*, dentro de los que se encuentran los gatos domésticos entre otros.

Para entender el ciclo vital de este microorganismo, hay que hablar primero de los estados infectivos. *T. gondii* tiene tres estados infectivos: taquizoitos (en grupos o clones), bradizoitos (en quistes de tejido) y ooquistes. Todos ellos conectados en un ciclo vital bastante complejo (Tenter, Heckerroth y Weiss, 2000).

Los taquizoitos se multiplican rápidamente en cualquier célula del huésped intermedio (cerdos, vacas, ovejas) y en las células no intestinales del huésped final (miembros de la familia *Felidae*). Tienen forma de media luna (2-6 μm) y carecen de estructuras de locomoción (desplazamiento mediante rotaciones, movimientos ondulatorios o deslizamientos). Cuando aparecen en grupo se les denomina clones o colonias terminales.

Los taquizoitos penetran en las células del huésped atravesando activamente la membrana plasmática o mediante fagocitosis, ayudándose de estructuras propias como el conoide (un conjunto de microtúbulos en espiral que permite rotaciones, extensiones y otros movimientos que ayudan al sondeo de la membrana plasmática por parte del patógeno antes de atravesar la misma), las roptrías (orgánulos secretores que colaboran en la penetración celular con secreciones que contienen enzimas proteolíticas) y el microporo. Una vez dentro de la célula hospedadora, el taquizoito adquiere forma ovoide, se rodea de una vacuola generada por parte del huésped y el patógeno, y, a su vez, una red de membranas tubovesiculares se desarrolla entre las membranas de esta vacuola. Todo esto con el fin de crear un microhábitat favorable para el patógeno en la célula huésped a partir del cual crecer y multiplicarse (Dubey, Lindsay y Speer, 1998).

Esta multiplicación se realiza asexualmente mediante el proceso conocido como endodiogenia, aunque para que este se lleve a cabo por primera vez, tras

la penetración en la célula huésped, tiene que pasar un período ``lag`` en el cual el patógeno se ajusta a su nuevo ambiente. La endodiogenia, como descubrieron Sheffield y Melton (1968), consiste en la formación de 2 células hijas por brotamiento interno (la gemación, división celular desigual, se lleva a cabo en el interior de la célula madre). Primero la célula parental sufre una polarización de su complejo de Golgi y a continuación del resto de estructuras internas. Uno de los polos del núcleo acaba siendo rodeado por el complejo de la membrana interna y los microtúbulos hasta que se divide en dos. A partir de ese momento las células progenitoras crecen en tamaño hasta alcanzar la superficie de la célula parental, desapareciendo la membrana interna de la misma y la externa pasa a reestructurarse como la membrana plasmática de las células progenitoras. Los taquizoitos siguen multiplicándose por endodiogenia hasta que superan el tamaño límite que puede soportar la célula huésped, rompiéndose esta y liberándose los taquizoitos.

Los bradizoitos, a diferencia de los taquizoitos, se caracterizan por tener una multiplicación lenta en el interior de quistes de tejido. Básicamente, el quiste funciona como una cubierta protectora de los bradizoitos, que va a ir creciendo en el citoplasma de la célula huésped según los bradizoitos de su interior se vayan multiplicando por endodiogenia (Ferguson y Hutchison, 1987). Pueden desarrollarse en órganos viscerales, pero donde más prevalencia van a tener va a ser en los tejidos neuronales y musculares. Un quiste intacto puede llegar a persistir durante toda la vida del huésped sin llegar a producir una respuesta inflamatoria por parte del mismo. La pared del quiste es fina y elástica, y carece de glucógeno u otros polisacáridos. El quiste, al igual que veíamos con la vacuola que formaban los taquizoitos, se compone de materiales procedentes tanto de la célula huésped como de la célula parásita (Dubey, 1988).

Los bradizoitos en sí son muy similares a los taquizoitos, como podemos ver en la imagen 1, con una pequeña diferencia: el núcleo está desplazado hacia un extremo mientras que en los taquizoitos se encuentra más bien centrado. También varían en el contenido de las roptrías, que además en el caso de los bradizoitos este va cambiando a lo largo de del desarrollo del mismo. El quiste de tejido que alberga a los bradizoitos provoca que estos sean más resistentes a la destrucción por parte de enzimas proteolíticos (Jacobs, Remington y Melton, 1960).

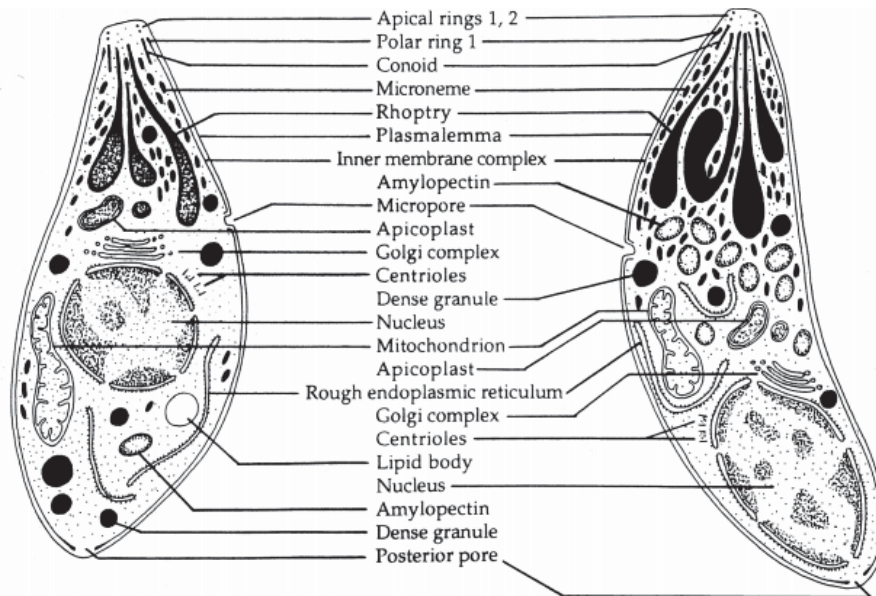


Imagen 1. Comparativa entre un taquizoito (izquierda) y un bradizoito (derecha). Imagen sacada de Dubey, Lindsay y Speer (1998).

Por último, los ooquistes, pueden ser esporulados o no esporulados. Los ooquistes no esporulados no tienen gránulos polares, su pared se compone de dos capas (incolores al microscopio) y la masa central ocupa casi todo el ooquiste. Los ooquistes se forman por la reproducción sexual del patógeno, proceso que se inicia únicamente en el huésped definitivo a los dos días de que el mismo ingiere quistes de tejido.

El inicio de la fase de reproducción sexual se activa mediante la liberación de merozoitos por las formas enteroepiteliales del patógeno, que activan la producción de gametos (macro y microgametos). Las estructuras productoras de gametos se encuentran en el interior celular, sobre el núcleo de la célula, de las células intestinales del huésped. Los macrogametos contienen varios microporos, retículo endoplasmático, numerosas mitocondrias, vesículas con doble membrana y cuerpos formadores de la pared (WFB). Los microgametos son alargados y se componen principalmente de material nuclear. En la parte anterior poseen una estructura denominada perforatorio, dentro de la cual descansan dos cuerpos basales, a partir de los cuales se desarrollarán 2 largos flagelos posteriormente. También tienen una gran mitocondria cerca de estos cuerpos basales, encargada de generar la energía que posteriormente necesitarán esos flagelos.

Las estructuras productoras de gametos contienen hasta 21 microgametos, una vez liberados usan sus flagelos para nadar, penetrar y fertilizar macrogametos maduros para formar cigotos. Después de esta fertilización se forma una pared de ooquiste alrededor del cigoto, para pasar ya a ser un ooquiste activo. Una vez finaliza la reproducción sexual la célula huésped, donde tiene lugar la

misma se rompe, liberando los ooquistes en el lumen intestinal (Dubey y Frenkel, 1972; Ferguson, Hutchison y Siim, 1975).

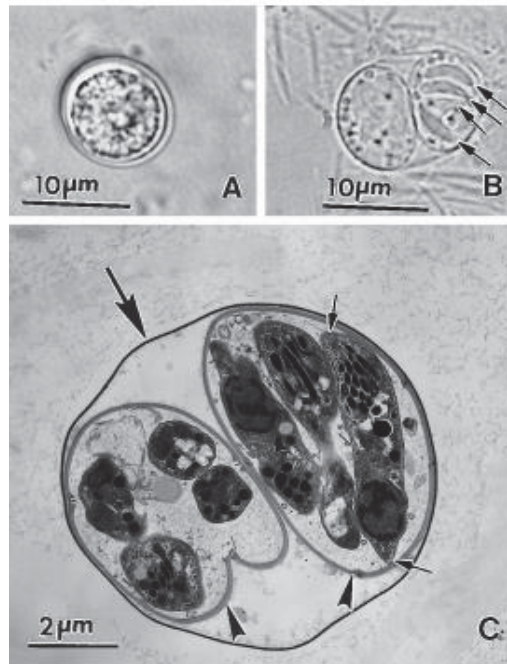


Imagen 2. La figura A representa un ooquiste no esporulado y la B y C representan un ooquiste esporulado. Imagen sacada de Udonsom *et al.* (2018).

La esporulación tiene lugar entre 1 a 5 días después de ser excretados en el exterior, dependiendo de la temperatura y aireación. La esporulación comienza con dos divisiones seguidas del núcleo, formando cuatro núcleos que se establecen en la periferia del cigoto (rodeado de una membrana), se forma una segunda membrana y por último se divide el citoplasma, dando lugar a dos esporoblastos con dos núcleos cada uno.

Según continúa la esporulación, los esporoblastos crecen y se forman los esporoquistes, pasando a ser las dos membranas anteriores la capa externa de la pared del esporoquiste, y la membrana plasmática de la masa citoplasmática se convierte en la capa interna. Por último, el esporozoito se forma cuando se generan cuatro placas a partir de la membrana interna, y cada par se sitúa a ambos lados de los esporoquistes, los núcleos se dividen y se incorporan a la nueva estructura de los esporozoitos. Así cada ooquiste esporulado contiene 2 esporoquistes, que a su vez contienen 4 esporozoitos (es decir 8 en total), albergados por una pared de 3 capas que presente un pequeño micropilo (también de tres capas) que a pesar de aún no conocerse de forma cierta su función, parece que puede estar relacionada a ser un sitio permeable a la actividad de CO₂ y diversas enzimas relacionadas con el proceso de formación de esporozoitos (Dubey, Lindsay y Speer, 1998). Ultraestructuralmente, el esporozoito es similar al taquizoito, pero hay diferencias en la mayor abundancia de roptrías, micronemas y amilopectina en el primero.

En resumen, el patógeno se puede reproducir asexualmente principalmente mediante endodiogenia, en los taquizoitos y bradizoitos de huéspedes definitivos e intermedios (aunque entre huéspedes hay diferencias que se comentarán a continuación), o sexualmente mediante la formación de ooquistes, proceso que sólo se desarrolla en los huéspedes definitivos (gatos).

Explicados los tres estados infectivos, queda ver como se relacionan dentro del ciclo vital. En la imagen 3 podemos ver un esquema del ciclo vital de *T. gondii*.

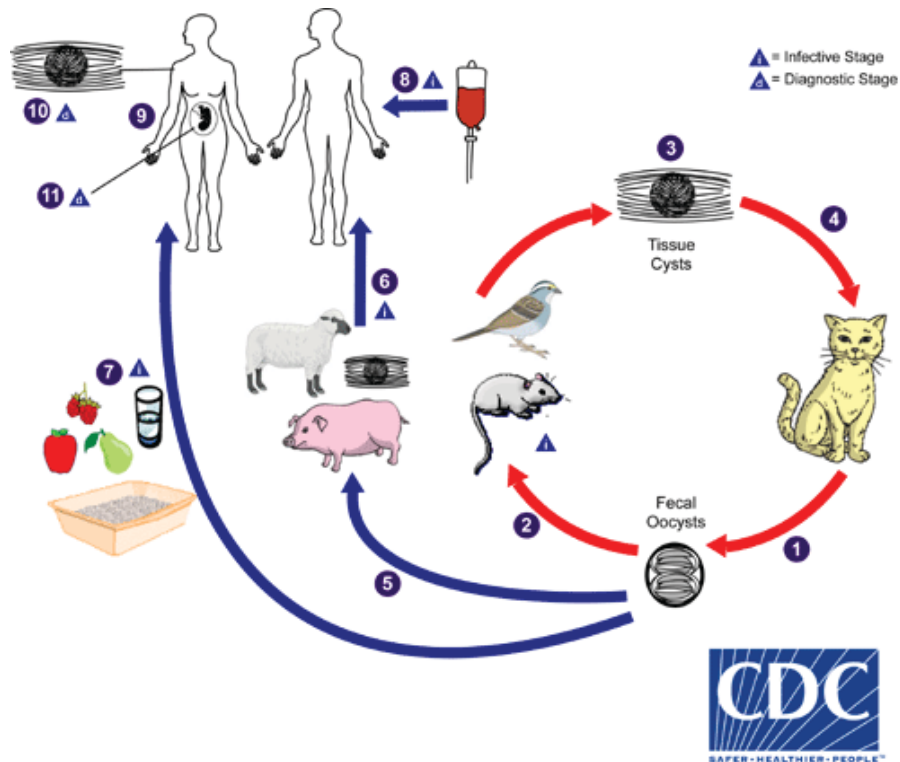


Imagen 3. Esquema que representa el ciclo vital de *T. gondii* con los distintos estadios y huéspedes. Imagen sacada de Centers For Disease Control And Prevention (2020).

Para la explicación del ciclo vital vamos a empezar centrándonos en los ooquistes. Como ya comentamos los ooquistes una vez se forman por reproducción sexual son liberados al lumen intestinal para ser posteriormente liberados al exterior mediante las heces. Una vez en el exterior es cuando se lleva a cabo, pasados de 1 a 5 días, el proceso de esporulación. Estos ooquistes esporulados contaminan suelos, aguas y un amplio rango de superficies con las que puedan estar en contacto. Estos ooquistes son ingeridos indirectamente con estos agentes contaminados por los huéspedes intermedios. Una vez se ingieren, en el huésped intermedio se comienza con la primera fase de reproducción asexual mediante de los taquizoitos por endodiogenia, multiplicándose e infestando una gran cantidad de células huésped en poco tiempo. A continuación, se forman los quistes de tejido, en cuyo interior se multiplican lentamente mediante endodiogenia los bradizoitos.

Esta fase es la última fase infectiva del patógeno en el hospedador intermedio, pudiendo llegar a persistir como ya hemos comentado toda la vida del mismo. Estos quistes pueden llegar a romperse, liberando los bradizoitos y retomando la rápida multiplicación por endodiogenia de los taquizoitos, intercalando fases estables (multiplicación lenta en el interior de quistes de tejidos) con fases de propagación y multiplicación. A partir de estos quistes de tejido en los hospedadores intermedios, se puede propagar la infección a otros hospedadores intermedios o a los hospedadores definitivos. Un ejemplo de hospedador intermedio a otro sería el caso de consumo de productos cárnicos que provienen de individuos infectados por parte del ser humano, que adquieren de esta forma la infección si estos productos no han recibido el tratamiento adecuado. En el caso de hospedador intermedio a definitivo, sería la depredación de ratones por parte de los gatos (hospedadores definitivos).

Una vez ingieren los quistes (los huéspedes definitivos), y como hemos mencionado anteriormente, en los gatos al cabo de 1-2 días se inicia la reproducción asexual por endodiogenia en las células del epitelio intestinal, para proseguir con una etapa de endopoligenia (proceso muy similar que solo se diferencia en que la membrana interna es aportada por la propia célula progenitora) y finalizar con la reproducción sexual que origina los oocistos, restableciéndose el ciclo.

A parte, como figura en la imagen 3, hay otras formas de transmisión de la infección, cosa que se tratará más adelante en este trabajo, como, por ejemplo: trasplantes o donaciones de individuos infectados que pueda conllevar a la transmisión de taquizoitos (Tenter, Heckeroth y Weiss, 2000).

3.2 Patología y grupos de riesgo:

Una vez se produce la infección descrita en el apartado anterior, que se consolida con la generación intracelular de la vacuola parasitífera y la red de membranas tubovesiculares, se inicia la respuesta inmune por parte del organismo hospedador.

El proceso de infección y patologías de la enfermedad fue recogido por Montoya and Liesenfeld (2004) en su revisión describiendo que este proceso provoca una respuesta fuerte de Th1 (un tipo de linfocitos T efectoros con funciones de destrucción de microorganismos, activación de macrófagos y la producción de citoquinas proinflamatorias entre otras). El objetivo de estas, combinadas con otros mecanismos inmunológicos, es de proteger al huésped frente a la replicación rápida de taquizoitos y cambios patológicos posteriores. Después de la invasión con enterocitos, *T. gondii* infecta células presentadoras de antígenos en la lámina intestinal propia e induce una respuesta de Th1 local

y transitoria. El huésped puede defenderse gracias a los macrófagos activados, que pueden matar o inhibir la *T. gondii* intracelular, cortando de raíz la infección en sus primeras fases. Otro mecanismo de defensa son los linfocitos T CD4+ y CD8+ que resultan citotóxicos para las células infectadas por *T. gondii* y además su proporción se mejora durante la infección aguda. El problema es que *T. gondii* posee diversos mecanismos de propagación e infección, pudiendo incluso llegar a utilizar las células presentadoras de antígenos como caballos de troya, regulando en sentido descendente las moléculas de superficie celular e interfiriendo con las vías de apoptosis.

Dentro de las 2 semanas posteriores a la infección, se pueden detectar anticuerpos IgG, IgM, IgA e IgE contra muchas proteínas *T. gondii*. La producción de anticuerpos IgA en superficies de la mucosa parece proteger al huésped contra la reinfección. La reinfección puede ocurrir, pero no parece dar lugar a la enfermedad ni a la transmisión congénita del parásito.

Respecto a la patología, la infección puede pasar clínicamente desapercibida o puede causar signos y síntomas que varían dependiendo del estado inmune del paciente y del entorno clínico (véase inmunocompetente, enfermedad ocular, etc.).

Los dos grupos de riesgo principales de esta enfermedad son las embarazadas (por pérdida de feto) y los inmunodeprimidos. En el caso de las embarazadas, la infección llega al feto por infección de la placenta, y es grave cuando se produce en una fase temprana de la gestación (1 a 3 primeros meses) que puede acabar con la muerte del feto y es leve en fases tardías (últimos meses) que suelen acabar con el nacimiento normal (sin problemas). Si la infección está presente, los hallazgos ecográficos sugestivos de enfermedad congénita incluyen calcificaciones intracraneales, dilatación ventricular, agrandamiento hepático, ascitis y aumento del espesor placentario. Las manifestaciones clínicas neonatales de toxoplasmosis congénita varían ampliamente e incluyen hidrocefalia, microcefalia calcificaciones intracraneales, coriorretinitis, estrabismo, ceguera, epilepsia, retraso psicomotor o mental, petequias por trombocitopenia y anemia.

En el caso de los grupos inmunodeprimidos, en contraste con la evolución favorable de la infección en los individuos inmunocompetentes, la enfermedad puede poner en peligro su vida. En estos individuos, la toxoplasmosis ocurre casi siempre como resultado de la reactivación de la infección crónica. El SNC es el sitio más afectado por la infección. La presentación clínica de la encefalitis toxoplásmica varía desde un proceso gradual subagudo que evoluciona a lo largo de semanas hasta un estado confusional agudo, con o sin déficits neurológicos focales, que evoluciona a lo largo de los días. Las manifestaciones clínicas incluyen cambios en el estado mental, convulsiones,

déficits motores focales, alteraciones del nervio craneal, anomalías sensoriales, signos cerebelosos, trastornos del movimiento y hallazgos neuropsiquiátricos.

3.3 Vías de transmisión:

Aparte de los porcentajes de incidencia que provienen de transmisiones congénitas durante el embarazo o seroprevalencias de las embarazadas, tenemos un porcentaje pequeño de incidencia en poblaciones de humanos adultos, lo que significa la existencia de infecciones post-parto. Es interesante estudiar el origen de estas infecciones y las vías de transmisión horizontal en estas poblaciones adultas ya que suponen vías alternativas a la transmisión congénita y, a pesar de representar un menor porcentaje de incidencia, suponen un factor de riesgo para los perfiles poblacionales susceptibles mencionados en el apartado anterior (embarazadas, personas inmunodeprimidas). Además, la base de la transmisión congénita es que la madre esté infectada, por lo que el estudio de estas vías alternativas indicaría el posible origen de la infección de las madres que luego sería la que posteriormente transmiten a sus hijos durante el embarazo.

La mayoría de las transmisiones horizontales tienen su origen en la ingestión de los quistes de tejido formado por una de las formas persistentes del ciclo vital de *T. gondii*, los bradizoitos, o bien en la ingestión de las formas esporuladas de este protozoo (ooquistes), o ,por último, la transmisión/ingestión de taquizoitos (la última de las 3 formas de *T. gondii* en su ciclo vital). En este caso vamos a centrarnos en los bradizoitos y taquizoitos, siendo los bradizoitos los principales responsables del contagio por consumo de carnes infectadas. No se entrará en detalle en el caso de los ooquistes ya que, aunque pueden ingerirse con el alimento, no resulta de una transmisión directa (contaminación superficial).

3.3.1 Vía: Taquizoitos

Los taquizoitos son sensibles a las condiciones ambientales (temperatura y concentración salina), a las enzimas proteolíticas y son generalmente destruidas por el ácido gástrico. Su transmisión puede producirse a través de varios agentes, aunque hay 3 agentes principales: los productos sanguíneos, la leche no pasteurizada de hospedadores intermedios y otros fluidos corporales (orina, semen, etc.), aunque de estos últimos aún no hay evidencias notables (Tenter, Heckeroth y Weiss, 2000).

De estos 3, la que juega un papel principal es la leche no pasteurizada. Se cree que los taquizoitos penetran el tejido mucoso del hospedador, al ser ingeridos con la leche, accediendo al sistema circulatorio antes de llegar al estómago

dónde serían degradados por el ácido gástrico y las enzimas proteolíticas (Johnson, 1997; Riemann et al., 1975; Sacks, 1982). Es importante el apunte de no pasteurizada ya que como ya se mencionó los taquizoitos son sensibles a las altas temperaturas, por lo que el tratamiento de pasteurización acaba con ellos. Esto último se vió reflejado en el estudio llevado a cabo por Skinner *et al.* (1990) del caso de una familia ganadera, en la cual los hijos consumían leche sin pasteurizar y los padres de los mismos sólo la consumían acompañando al café o a un té, en ambos casos la elaboración de los mismos implica agua a elevada temperatura que acaba con el patógeno, lo que ocasionó que los hijos se infectaran de *T. gondii* (leche infectada sin proceso de pasteurización) y los padres no (leche infectada pero sometida a un proceso indirecto similar a la pasteurización).

El consumo de leche cruda representa un grave problema (como se demostró en los estudios citados en el anterior párrafo), porque, aunque los casos de toxoplasmosis aguda en humanos adultos hasta ahora han sucedido en gran parte con leche de cabra, representa un agente importante de transmisión que puede llevar el patógeno a grupos de riesgo. De hecho, Rehman *et al.* (2020) demostraron que el consumo de leche cruda es un factor de riesgo para mujeres embarazadas (uno de estos grupos de riesgo de los que hablamos), en un estudio comparativo en el que trabajaban con los sueros sanguíneos (para detectar anticuerpos IgM contra *T. gondii*) de un grupo de embarazadas control y otro de embarazadas con abortos recurrentes. Tras someter los sueros sanguíneos a un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas, los resultados fueron significativamente diferentes entre el grupo control y el de estudio, confirmando la mayor presencia del patógeno en embarazadas con abortos recurrentes y siendo una de las principales fuentes de esa infección el consumo de leche no pasteurizada.

En cambio, a pesar de que el consumo directo de leche cruda supone un riesgo, el consumo de quesos producidos a partir de leche cruda, incluso proviniendo esta de individuos infectados, no supone un riesgo. Esto se debe, como estudiaron Ranucci *et al.* (2020), a que los cambios físico-químicos que se producen durante el proceso de fabricación y al posterior período de maduración (que varía entre los 5 y los 15 días) inactivan los taquizoitos presentes inicialmente en la leche, por lo que eliminan el riesgo de infección por su consumo.

En conclusión, a la hora de reducir el riesgo de infección por medio de productos lácteos, lo mejor es hervir o pasteurizar la leche antes del consumo directo para reducir el riesgo de infección, sobre todo en el caso de los bebés que al tener una menor concentración de enzimas proteolíticas en el tubo digestivo los hace más susceptibles de desarrollar toxoplasmosis que un

individuo adulto. Y en el caso del consumo de quesos a partir de leche no pasteurizada, todo apunta a que no supone un riesgo por la inhabilitación del patógeno durante el proceso de producción, pero se requieren más estudios sobre el tema.

3.3.2 Vía: Bradizoitos (quistes de tejido)

Los quistes de tejido crecen y se mantienen en prácticamente todos los tejidos del cuerpo de sus hospedadores, en este caso los que van a jugar un papel más importante van a ser los tejidos musculares y los órganos viscerales, que son objeto de consumo por parte de la población humana. Se desarrollan a los 6-7 días de infección y se mantienen durante toda la vida del huésped incluso sin llegar nunca a producir una respuesta inflamatoria sobre el mismo (Tenter et al., 2000).

Los *T. gondii* se observan con mayor frecuencia en tejidos de cerdos, ovejas y cabras infectados, y menos con frecuencia en aves de corral, conejos, perros y caballos infectados (Dunn et al., 1999).

Por lo tanto, el agente principal de transmisión en este caso va a ser el consumo de carnes infectadas. Una carne infectada puede someterse a procesos que alteren la viabilidad del patógeno para así eliminarlo y que no suponga un riesgo para el consumidor. En este caso, el primer agente del que servirse para la inhabilitación del patógeno es la temperatura. En la tabla 1 se presentan los rangos de temperatura y tiempos a los que el patógeno deja de ser viable.

Temperatura	Proceso	Tiempo resistencia	Referencia
60°C	Calentamiento	4 minutos	(Dubey et al., 1990)
50°C	Calentamiento	10 minutos	(Dubey et al., 1990)
1 a 4°C	Refrigeración	3 semanas	(Dubey, 1989; Dubey et al., 1990)
-1 a -8°C	Congelación	> de 1 semana	(Kotula et al., 1991)
< de -12°C	Congelación	-	(Kotula et al., 1991)

Tabla 1. Tabla que representa los diferentes tiempos de resistencia del patógeno a determinados procesos (con la temperatura como factor clave). Elaborada a partir de la información de los artículos citados.

Es necesario, en los procesos de calentamiento, que este se suministre de la misma manera en todo el producto sobre el que se esté trabajando, ya que en casos en que esto no sea así (microondas, etc.) existe el riesgo de que no se elimine completamente al patógeno y que por lo tanto el patógeno siga presente, con el consiguiente riesgo de transmisión al consumidor.

Aparte de estos procesos también existen procesos comerciales realizados sobre los productos cárnicos que afectan a la viabilidad de los bradizoitos. El más destacado es el proceso de curado de la carne, que consiste en la adición de una combinación de sal, azúcar, nitratos o nitritos para mejorar la conservación y sazonado del producto.

Herrero *et al.* (2017) evaluaron este proceso para ver cómo influye en la viabilidad del patógeno. Se utilizaron 41 cerdos seleccionados de la provincia de Aragón a partir de un grupo inicial de 1200, infectados naturalmente con diferentes títulos serológicos contra *T. gondii*. Se tuvieron en cuenta dos tiempos diferentes de curación, 9 y 12 meses, y también los parámetros físico-químicos de los mismos. Se vieron diferencias significativas entre los jamones no curados y curados y también entre los de curación de 9 meses y los de 12 meses. En conclusión, se demostró que es más seguro consumir jamón curado con un proceso de curación de 12 meses o más, aunque no haya una eliminación completa del riesgo. Respecto a los parámetros físico-químicos, no hubo ninguna diferencia significativa, aunque hubo pérdida de prevalencia del patógeno en jamones con un contenido en grasas más bajo.

Por lo tanto, es posible reducir el riesgo de ingestión del patógeno (vía quistes de tejido) tanto por procesos comerciales como por procesos de preparación y elaboración por parte del consumidor, pero nuestro objetivo en este estudio es remontarnos a la raíz del problema, el cómo esa carne llega a infectarse. Es decir, la forma de infectarse que tienen estos huéspedes intermedios de alto interés comercial, como se mencionó en el apartado de ciclo vital, es por la ingestión de los ooquistes presentes en el suelo, agua o alimentos que han sido contaminados por heces de gatos infectados.

En la tabla 2 se presentan distintas prevalencias en ganado bovino de distintas regiones del mundo, para ver cuál es la prevalencia del patógeno en todo el mundo.

País	Año	Seroprevalencia (%)	Nº de muestras	Método	Referencia
Norte, Este y Noreste de China	2014	10.5	4487	IFAT	(Sun et al., 2015)
Brasil (Región amazónica)	2020	30.9	1073	IFAT	(de Azevedo Filho et al., 2020)
Francia	2019	17.4	2912	MAT	(Blaga et al., 2019)
Polonia	2020	13.0	2411	DAT	(Sroka et al., 2020)
India (región de Kerala)	2019	61.5	258	IFAT	(Sudan et al., 2019)
Turquía (región de Siirt)	2018	18.0	300	ELISA	(Celik et al., 2018)
Tailandia (regiones de Kanchanaburi, Ratchaburi y Nakhon Patom)	2018	15.2	250	ELISA	Udonsom et al. (2018)
Mongolia	2018	18.7	1438	ELISA	(Pagmadulam et al., 2018)
España (región mediterránea)	2018	18.6	199	MAT	(Almería et al., 2018)
España (región gallega)	2010	7.3	178	DAT	(Panadero et al., 2010)

Tabla 2. Tabla que recoge las seroprevalencias del patógeno en ciertas regiones del mundo, detallando además el método y el número de muestras utilizadas en cada estudio. Elaborada a partir de la información de los artículos citados. Los métodos utilizados en los estudios son: IFAT (técnica de inmunofluorescencia directa e indirecta), ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas), MAT (técnica de aglutinación microscópica) y DAT (técnica de aglutinación directa).

La tabla 2 refleja las seroprevalencias del patógeno en ganado bovino en todo el mundo. Los años detallados son de publicación del estudio, a fin de realizar una aproximación temporal, ya que todos los estudios han sido realizados en años previos a la publicación, realizándose esta al acabar el muestreo y el análisis de los datos. Todos los estudios han sido realizados en granjas, pero cabe especificar que en el caso del estudio realizado en la región gallega su

objetivo era analizar al ganado que compartía pastos con otros rumiantes (tanto salvajes como domésticos).

Las diferencias en seroprevalencias entre las distintas regiones se pueden deber a diversos factores, no sólo los directamente relacionados con el tipo de estudio, por ejemplo: la gestión del ganado y los productos del mismo, la tecnología alimentaria de cada país, la abundancia de huéspedes definitivos y agentes dispersantes del patógeno y un largo etcétera. Por lo general, tanto la gestión mencionada como la tecnología alimentaria son los factores claves, ya que una buena gestión reduce los riesgos de infección y la tecnología alimentaria permite una monitorización del ganado y el patógeno en sí, lo que permite optimizar dicha gestión.

La tendencia a la baja en la incidencia del patógeno en granjas europeas tanto intensivas como extensivas con una buena gestión, demostraron que esta es un factor clave a la hora de reducir la prevalencia del patógeno. Entre los parámetros implicados dentro de esta buena gestión se encuentran la higiene, el confinamiento y la propia prevención. Así con medidas como mantener a los animales productores de carne confinados a lo largo de su vida (sin acceso a pastos que son una fuente potencial de infección), mantener las naves de cría libres de pájaros, insectos, etc.; alimentación a partir de comida previamente esterilizada y controlando el acceso de animales ajenos a las naves de cría o almacenes donde se guarde la comida, se consigue una gran reducción de la prevalencia del patógeno (Tenter, Heckerroth y Weiss, 2000).

A pesar de esto, no toda la carne a la que tiene acceso un consumidor proviene de granjas que toman este tipo de medidas, las cuales suelen estar asociadas a grandes colectivos regidos por una serie de pautas metodológicas. En este trabajo se quiso comprobar si las granjas locales, que abastecen a comercios de su zona o mercados en ciudades cercanas, toman alguna serie de medidas de prevención como las anteriormente mencionadas siendo conscientes de los riesgos que pueden surgir con este tipo de infecciones para el futuro consumidor, ya que este tipo de granjas suelen estar más regidas por conocimiento tradicional. Para ello se elaboró una encuesta que tenía dos objetivos fundamentales: analizar el grado de conocimiento sobre este patógeno por parte de los ganaderos locales (siguiendo la línea de ganado bovino) y las medidas generales que toman a la hora de gestionar su producción ganadera. Esta encuesta (ver Apéndice 1) se entregó para ser respondida de forma anónima en 15 granjas de la provincia de A Coruña.

4.Resultados de las encuestas:

Se realizaron un total de 15 encuestas a 15 ganaderos distintos de la zona de A Coruña, todos ellos con ganado bovino a su cargo. Todas ellas fueron realizadas en persona, con el fin generar una mayor confianza que aportara más fiabilidad a sus respuestas y para poder explicarles a cada uno de ellos el objetivo de la encuesta y en el caso de que no conocieran el patógeno hablarles un poco de él.

Los resultados de la encuesta reflejaron un gran desconocimiento del patógeno. A pesar de que casi todos ellos (80%) habían oído hablar del patógeno, ninguno fue capaz de explicar de qué se trataba o que enfermedad provocaba y cómo esta podía afectar a los seres humanos. A la hora de hablar de cómo podía verse afectado, la mayoría (90%) pensaba que ya por el simple hecho de ser denominado como patógeno, este iba a tener efectos negativos directos sobre el ganado como enfermedades, infecciones o incluso la muerte.

Todos ellos pensaban que se deberían implementar medidas para prevenir su incidencia y que la falta de estas era debida al gran desconocimiento del patógeno y su enfermedad (80%) y a la poca importancia que se le da (20%). A la hora de hablar de las medidas de gestión, todos realizan las medidas de higiene "estándar" (todos las consideraban eficientes e imprescindibles, y según comentan son realizadas por la mayor parte del sector): higiene de la nave, comida esterilizada y suministro de agua no contaminado. Al comentarles con las otras dos medidas, y a la hora de explicarles más sobre el patógeno, entendieron la medida del aislamiento de la nave a la hora de prevenir la entrada de otros animales, pero no consideraron efectiva la medida del confinamiento de por vida. Esta es una medida que choca con la nueva, y cada vez más global, gestión ecológica, en la que confinar a los animales no se considera ético y se considera contraproducente (mayor calidad de vida del animal, mayor la calidad del producto).

5.Conclusiones:

Esta encuesta indica que el sector a nivel local (y tradicional) está bastante desinformado sobre el patógeno, lo que provoca que no se tomen medidas para prevenirlo, originando posibles fuentes de infección que posteriormente pasará al consumidor.

Conclusións:

Esta enquisa indica que o sector a nivel local (e tradicional) está bastante desinformado sobre o patóxeno, o que significa que non se toman medidas para evitalo, creando posibles fontes de infección que despois será transmitida ao consumidor.

Conclusions:

This survey indicates that the sector at the local (and traditional) level is quite uninformed about the pathogen, which means that no measures are taken to prevent it, creating possible sources of infection that will later be passed on to the consumer.

6. Bibliografía:

- Almería, S., Cabezón, O., Paniagua, J., Cano-Terriza, D., Jiménez-Ruiz, S., Arenas-Montes, A., Dubey, J. P., y García-Bocanegra, I. (2018). *Toxoplasma gondii* in sympatric domestic and wild ungulates in the Mediterranean ecosystem. *Parasitology Research*, 117(3), 665–671. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5705-6>
- Blaga, R., Aubert, D., Thébault, A., Perret, C., Geers, R., Thomas, M., Alliot, A., Djokic, V., Ortis, N., Halos, L., Durand, B., Mercier, A., Villena, I., y Boireau, P. (2019). *Toxoplasma gondii* in beef consumed in France: regional variation in seroprevalence and parasite isolation. *Parasite*, 26. <https://doi.org/10.1051/parasite/2019076>
- Celik, O. Y., Ipek, D. N. S., Celik, B. A., Irak, K., y Akgul, G. (2018). Investigation of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle in siirt province in Turkey. *Indian Journal of Animal Research*, 52(7), 1053–1057. <https://doi.org/10.18805/ijar.B-827>
- Centers For Disease Control And Prevention. (2020) 'Parasites: Toxoplasmosis (Toxoplasma Infection). ' <https://www.cdc.gov/parasites/toxoplasmosis/biology.html>
- de Azevedo Filho, P. C. G., Ribeiro-Andrade, M., dos Santos, J. F., dos Reis, A. C., de Araújo Valença, S. R. F., Samico Fernandes, E. F. T., Pinheiro Junior, J. W., y Mota, R. A. (2020). Serological survey and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in cattle from Amazonas, Brazil. *Preventive Veterinary Medicine*, 176. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.104885>
- Dubey, J. P. (1989). Economic and public health considerations of congenital toxoplasmosis in lambs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 195(12), 1715–1716.
- Dubey, J. P., y Kirkbride, C. A. (1988). Long-term persistence of *Toxoplasma*

- gondii* in tissues of pigs inoculated with *T. gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cysts in pork. *American Journal of Veterinary Research*, 49(6), 910–913.
- Dubey, J. P., y Frenkel, J. K. (1972). Cyst-Induced Toxoplasmosis in Cats. *The Journal of Protozoology*, 19(1), 155–177. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1972.tb03431.x>
 - Dubey, J. P., Kotula, A. W., Sharar, A., Andrews, C. D., y Lindsay, D. S. (1990). Effect of High Temperature on Infectivity of *Toxoplasma gondii* Tissue Cysts in Pork. *The Journal of Parasitology*, 76(2), 201. <https://doi.org/10.2307/3283016>
 - Dubey, J. P., Lindsay, D. S., y Speer, C. A. (1998). Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 11, Issue 2, pp. 267–299). <https://doi.org/10.1128/cmr.11.2.267>
 - Dunn, D., Wallon, M., Peyron, F., Petersen, E., Peckham, C., y Gilbert, R. (1999). Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: Risk estimates for clinical counselling. *Lancet*, 353(9167), 1829–1833. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)08220-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)08220-8)
 - Ferguson, D. J. P., y Hutchison, W. M. (1987). An ultrastructural study of the early development and tissue cyst formation of *Toxoplasma gondii* in the brains of mice. *Parasitology Research*, 73(6), 483–491. <https://doi.org/10.1007/BF00535321>
 - Ferguson, D. J. P., Hutchison, W. M., y Siim, J. C. (1975). The ultrastructural development of the macrogamete and formation of the oocyst wall of *Toxoplasma gondii*. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica. Supplement*, 83(5), 491–505.
 - Herrero, L., Gracia, M. J., Pérez-Arquillué, C., Lázaro, R., Herrera, A., y Bayarri, S. (2017). *Toxoplasma gondii* in raw and dry-cured ham: The influence of the curing process. *Food Microbiology*, 65, 213–220. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.02.010>
 - Jacobs, L., Remington, J. S., y Melton, M. L. (1960). The Resistance of the Encysted Form of *Toxoplasma gondii*. *The Journal of Parasitology*, 46(1), 11. <https://doi.org/10.2307/3275325>
 - Johnson, A. M. (1997). Speculation on possible life cycles for the clonal lineages in the genus *Toxoplasma*. *Parasitology Today*, 13(10), 393–397. [https://doi.org/10.1016/S0169-4758\(97\)01129-0](https://doi.org/10.1016/S0169-4758(97)01129-0)
 - Kotula, A. W., Dubey, J. P., Sharar, A. K., Andrews, C. D., Shen, S. K., y Lindsay, D. S. (1991). Effect of Freezing on Infectivity of *Toxoplasma Gondii* Tissue Cysts in Pork. *Journal of Food Protection*, 54(9), 687–690. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-54.9.687>
 - Montoya, J. G., y Liesenfeld, O. (2004). Toxoplasmosis. *Lancet*, 363(9425), 1965–1976. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16412-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16412-X)

- Pagmadulam, B., Myagmarsuren, P., Fereig, R. M., Igarashi, M., Yokoyama, N., Battsetseg, B., y Nishikawa, Y. (2018). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in cattle in Mongolia. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 14, 11–17.
<https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.08.001>
- Panadero, R., Paineira, A., López, C., Vázquez, L., Paz, A., Díaz, P., Dacal, V., Cienfuegos, S., Fernández, G., Lago, N., Díez-Baños, P., y Morrondo, P. (2010). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wild and domestic ruminants sharing pastures in Galicia (Northwest Spain). *Research in Veterinary Science*, 88(1), 111–115.
<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2009.05.010>
- Ranucci, D., Battisti, E., Veronesi, F., Diaferia, M., Morganti, G., Branciarri, R., Ferroglio, E., Valiani, A., y Chiesa, F. (2020). Absence of viable *Toxoplasma gondii* in artisanal raw-milk ewe cheese derived from naturally infected animals. *Microorganisms*, 8(1).
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8010143>
- Rehman, F., Shah, M., Ali, A., Ahmad, I., Sarwar, M. T., Rapisarda, A. M. C., y Cianci, A. (2020). Unpasteurised milk consumption as a potential risk factor for toxoplasmosis in females with recurrent pregnancy loss. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*.
<https://doi.org/10.1080/01443615.2019.1702630>
- Riemann, H. P., Meyer, M. E., Theis, J. H., Kelso, G., y Behymer, D. E. (1975). Toxoplasmosis in an infant fed unpasteurized goat milk. *The Journal of Pediatrics*, 87(4), 573–576. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(75\)80825-0](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(75)80825-0)
- Sacks, J. J. (1982). Toxoplasmosis infection associated with raw goat's milk. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 248(14), 1728–1732. <https://doi.org/10.1001/jama.248.14.1728>
- Sheffield, H. G., y Melton, M. L. (1968). The Fine Structure and Reproduction of *Toxoplasma gondii*. *The Journal of Parasitology*, 54(2), 209.
<https://doi.org/10.2307/3276925>
- Skinner, L. J., Timperley, A. C., Wightman, D., Chatterton, J. M. W., y Ho-Yen, D. O. (1990). Simultaneous diagnosis of toxoplasmosis in goats and goatowner's family. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 22(3), 359–361. <https://doi.org/10.3109/00365549009027060>
- Sroka, J., Karamon, J., Wójcik-Fatla, A., Piotrowska, W., Dutkiewicz, J., Bilska-Zaja¸c, E., Zaja¸c, V., Kochanowski, M., Da¸browska, J., y Cencek, T. (2020). *Toxoplasma gondii* infection in slaughtered pigs and cattle in Poland: Seroprevalence, molecular detection and characterization of parasites in meat. *Parasites and Vectors*, 13(1).
<https://doi.org/10.1186/s13071-020-04106-1>
- Sudan, V., Tewari, A. K., y Singh, H. (2019). Detection of Antibodies Against *Toxoplasma gondii* in Indian Cattle by Recombinant SAG2 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Acta Parasitologica*, 64(1), 148–151.

<https://doi.org/10.2478/s11686-018-00016-6>

- Sun, W. W., Meng, Q. F., Cong, W., Shan, X. F., Wang, C. F., y Qian, A. D. (2015). Herd-level prevalence and associated risk factors for *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Chlamydia abortus* and bovine viral diarrhoea virus in commercial dairy and beef cattle in eastern, northern and northeastern China. *Parasitology Research*, 114(11), 4211–4218. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4655-0>
- Tenter, A. M., Heckeroth, A. R., y Weiss, L. M. (2000). *Toxoplasma gondii*: From animals to humans. *International Journal for Parasitology*, 30(12–13), 1217–1258. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(00\)00124-7](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00124-7)
- Udonsom, R., Sukthana, Y., Nishikawa, Y., Fereig, R. M., y Jirapattharasate, C. (2018). Current situation of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infection among beef cattle in Kanchanaburi, Ratchaburi and Nakhon Patom provinces, Thailand. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 48(3), 403–409.

7.Apéndice 1: Encuesta

1. ¿Conoce o le suena el patógeno denominado *Toxoplasma gondii*?

Sí

No

En el caso de conocerlo, ¿qué sabe o ha oído acerca de él?

Toxoplasma gondii es el organismo patógeno causante de la enfermedad conocida como toxoplasmosis, sabiendo esto:

2. ¿Conoce o le suena la enfermedad denominada toxoplasmosis?

Sí

No

En el caso de conocerla, ¿qué sabe o ha oído acerca de ella?

3. ¿Conoce el riesgo para las personas asociado a este patógeno (infección secundaria en humanos)?

Sí

No

En caso afirmativo, explique lo que sabe:

4. ¿Conoce qué animales pueden verse infectados por este patógeno?

Sí

No

En caso afirmativo, cite alguno de ellos:

5. ¿Cree que este patógeno, y por consiguiente la toxoplasmosis, tiene efectos negativos sobre el ganado?

Sí

No

¿En el caso de que la respuesta sea afirmativa, podría citar alguno de ellos?

6. ¿Conoce el principal agente transmisor de esta enfermedad en este tipo de producciones ganaderas?

Sí

No

En caso afirmativo, explique su respuesta:

7. ¿Cree que es necesario tomar medidas para prevenir la infección por este patógeno?

Sí

No

8. ¿Cuál cree que puede tener mayor repercusión por la falta de medidas reguladoras en la prevención de este patógeno?

Falta de información / Coste económico / Importancia que se le atribuye

9. ¿De esta serie de medidas cuáles pone en práctica a la hora de gestionar el ganado a su cargo? (marque con una x la casilla correspondiente)

Medida	Sí	No
Confinamiento de por vida (sin salidas a pasto)		
Higiene de la nave		
Prevención de la entrada a la nave/almacén de comida de otros organismos (insectos, gatos, pájaros)		
Alimentación con comida previamente esterilizada		
Suministro de agua que no pueda ser contaminado por otros organismos (insectos, gatos, pájaros)		