

# CAPÍTULO 17

## *Toxoplasma gondii*

*Mariana Bernstein, María L. Gos, Kevin D. Steffen,  
Lais Pardini, Juan M. Unzaga y María C. Venturini*

### Clasificación

**Phylum:** Apicomplexa

**Clase:** Sporozoasida

**Orden:** Eucoccidiorida

**Familia:** Sarcocystidae

En 1908, Charles Nicolle y Louis Manceaux encontraron un protozooario en los tejidos de un roedor parecido a un hámster, el gundi (*Ctenodactylus gundi*), que se estaba utilizando para investigación en leishmaniasis en el Instituto Pasteur de Túnez, África. Simultáneamente, Splendore (1908) encontró el mismo parásito en un conejo en Brasil. Inicialmente ambos clasificaron al parásito como *Leishmania* spp., sin embargo, pronto se dieron cuenta de que habían descubierto un nuevo microorganismo y Nicolle y Manceaux propusieron el nombre *Toxoplasma gondii* (*Toxoplasma* mod. L. *toxos* = arco, *plasma* = vida y *gondii* por su hospedador inexactamente identificado).

*Toxoplasma gondii* es el agente causal de la toxoplasmosis, enfermedad de mucha relevancia en medicina veterinaria y humana, siendo una zoonosis de alto riesgo para determinados grupos. Al día de hoy, múltiples tratamientos farmacológicos están disponibles pero ninguna vacuna desarrollada ha logrado la prevención completa de la infección y el desarrollo de la enfermedad.

Debido a que *T. gondii* es un organismo muy fácil de manipular genéticamente, fácil de conservar y crecer en cultivo celular y con un modelo murino de hospedador-parásito bien establecido, se ha convertido en el organismo modelo más importante para el estudio de los Apicomplejos.

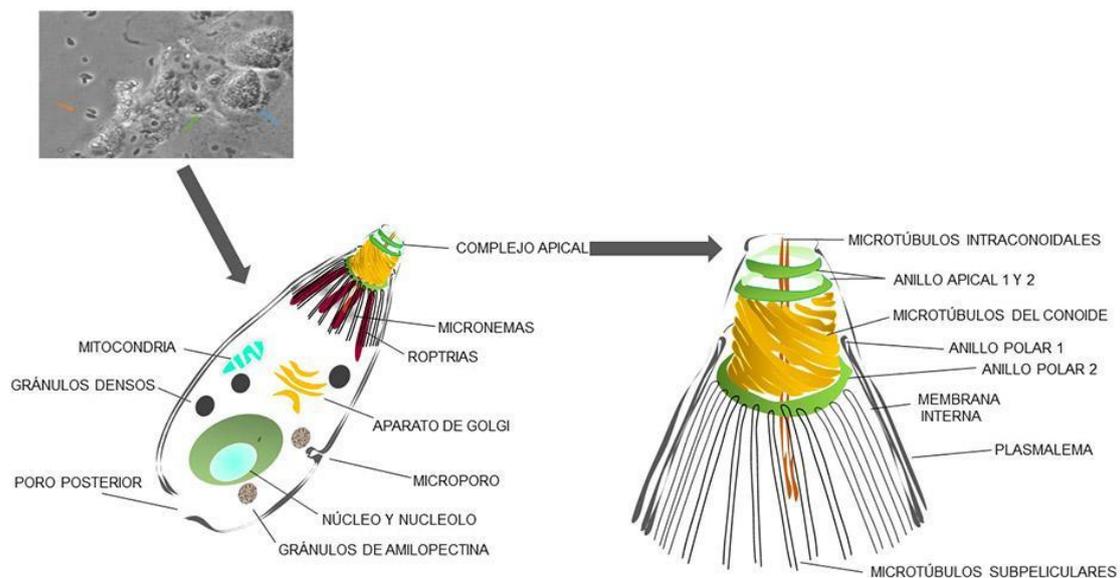
### Morfología

*Toxoplasma gondii* presenta una morfología semilunar de aproximadamente 7 µm x 2 µm que varía según la forma infectante. Presenta un grupo de organelas que facilita la adhesión y/o

penetración a la célula hospedadora denominado “complejo apical”, formado por un conoide, anillos polares, roptrias, micronemas, gránulos electrodensos y microtúbulos subpeliculares. Además, la secreción de diversas proteínas desde esta región regula la adhesión, invasión y formación de la vacuola parasitófora (VP) donde el parásito se alojará. Estas organelas secretoras incluyen: roptrias de forma tubular o sacular que se extienden hacia la región posterior por dentro del conoide, micronemas y gránulos densos. El complejo apical se encuentra graficado en la Figura 1.

Como toda célula eucariota posee las organelas universales propias (núcleo, retículo endoplasmático, aparato de Golgi y ribosomas) y las organelas derivadas de endosimbiosis (mitocondrias y apicoplasto). Todas estas estructuras se encuentran englobadas en un complejo membranoso denominado “película”. La película se compone de una membrana externa, plasmalema, que encierra completamente al organismo y un complejo interno de 2 membranas formadas por vesículas aplanadas y fusionadas que derivan del aparato de Golgi y del retículo endoplasmático. Todos los estadios infectantes (**taquizoítos**, **bradizoítos** y **esporozoítos**) tienen la misma morfología básica, con diferencias menores.

Los **taquizoítos** (*tachos* (gr.) = rápido) con típica forma de medialuna son los estadios de multiplicación intracelular rápida (endodiogenia), miden aproximadamente 2 x 6 µm y poseen un núcleo de posición central. Los **bradizoítos** (*brady* (gr.) = lento) se desarrollan en el interior de un quiste tisular, miden aproximadamente 7 µm x 1,5 µm y a diferencia de los taquizoítos, la posición del núcleo es terminal, las roptrias son más electrodensas y poseen un mayor número de gránulos PAS positivos. Los **esporozoítos** están contenidos en el **ooquiste**, miden 2 µm x 8 µm y presentan una abundancia de organelas granulares y un núcleo subterminal.



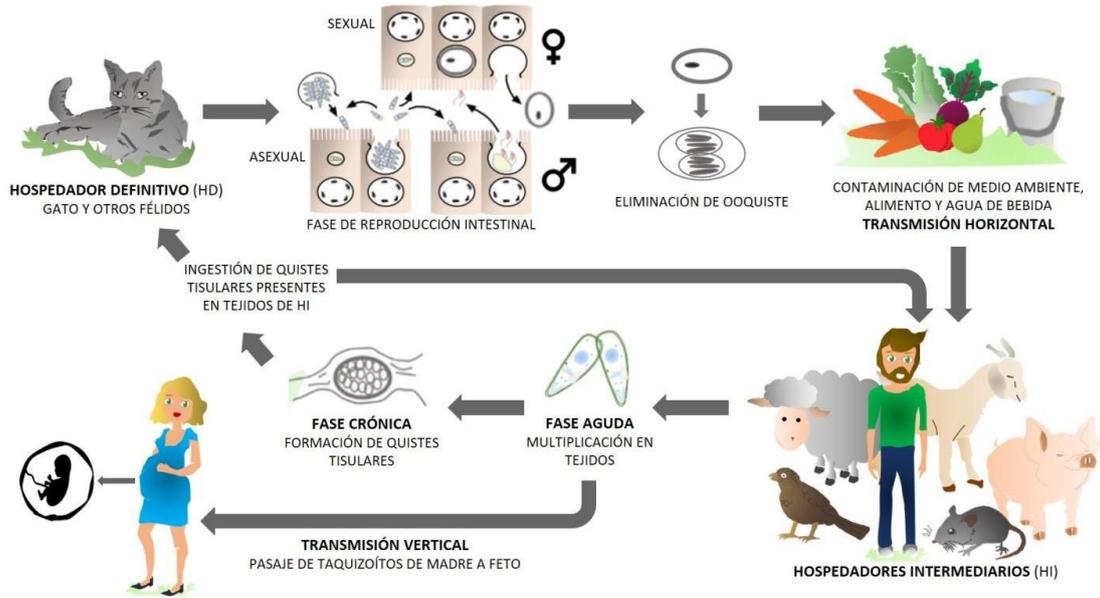
**Figura 1.** Complejo apical característico del Phylum Apicomplexa.

## Ciclo biológico

El parásito presenta un ciclo evolutivo indirecto facultativo donde los felinos domésticos y silvestres son los hospedadores definitivos (HD) y diversas especies de aves y mamíferos, incluido el hombre, actúan como hospedadores intermediarios (HI). Existen tres formas infectantes: los esporozoítos (dentro de los ooquistes), los taquizoítos (estadios de multiplicación rápida) y los bradizoítos (estadios de multiplicación lenta, dentro de los quistes tisulares). Los ooquistes son eliminados con las heces de los felinos, mientras que los taquizoítos y los bradizoítos se encuentran en los tejidos de los animales.

En los HD el ciclo biológico de *T. gondii* es intestinal y extraintestinal. Según ingieran quistes u ooquistes será la duración del período prepatente de la infección y el de eliminación de ooquistes. Luego de la ingestión de carne o presas que albergan quistes tisulares, se produce la multiplicación asexual y sexual del parásito en el intestino del gato que finaliza con la formación de los ooquistes inmaduros, que son eliminados al ambiente en la materia fecal. Los felinos eliminan ooquistes en sus heces durante un período de 10 a 30 días desde los 3 a 10 días luego de la ingestión de quistes con bradizoítos, y por un período de 10 días desde los 19 a 41 días de la ingestión de ooquistes esporulados. Menos del 50% de los felinos eliminan ooquistes al ingerir ooquistes o taquizoítos, mientras que cerca del total de ellos eliminan ooquistes luego de ingerir quistes tisulares. Millones de ooquistes son producidos por multiplicación en el intestino del gato, sin provocar signología clínica. Aunque es frecuente que la eliminación de ooquistes ocurra sólo durante la primoinfección, experimentalmente se ha comprobado que durante una reinfección se pueden producir nuevamente. Una vez que esporulan, pueden permanecer viables por períodos de hasta 18 meses siendo infectantes para los HI y HD. En los HI se produce únicamente el ciclo extraintestinal donde se reproduce de forma asexual; las formas infectantes penetran en células de distintos tejidos, se multiplican rápidamente como taquizoítos dentro de VP. Este es el período de multiplicación rápida, durante el cual los taquizoítos destruyen a las células parasitadas y se diseminan dentro del hospedador, durante esta etapa pueden ocurrir manifestaciones clínicas. Pasado un período corto los parásitos se multiplican más lentamente y forman los quistes tisulares, conteniendo bradizoítos, que permanecen viables durante un tiempo indeterminado según las especies, incluso durante toda la vida del hospedador. Los felinos pueden actuar a su vez como HI, presentando un ciclo extraintestinal.

El ciclo se encuentra detallado en la Figura 2.



**Figura 2.** Ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*.

## Patogenicidad y sintomatología

*Toxoplasma gondii* presenta dos formas de transmisión. La vía horizontal, que se produce a través de la ingesta de tejidos infectados conteniendo principalmente quistes tisulares o bien a través de la ingestión de oocistos esporulados que contaminan el agua o el alimento. Y la vía vertical o congénita en la cual a partir de la parasitemia de la madre se produce el pasaje de taquizoítos por vía transplacentaria al feto. Los HI se infectan al ingerir carne cruda o mal cocida, por la ingestión de agua o alimentos contaminados, o bien por pasaje transplacentario. La transmisión transplacentaria se efectúa en un amplio rango de hospedadores como seres humanos, roedores, cabras, ovejas y cerdos. En las personas y en los pequeños rumiantes la transmisión congénita ocurre usualmente cuando la madre se infecta durante el embarazo o la preñez, respectivamente. También es alta la transmisión congénita en los roedores, lo cual contribuye a la permanencia del ciclo del parásito en la naturaleza. Los HD se infectan al ingerir quistes tisulares, al cazar o bien al ser alimentados con carne mal cocida o cruda, y al ingerir oocistos eliminados por otros felinos, principalmente en las colonias de gatos.

La presentación clínica es variable en las distintas especies domésticas. En los bovinos la infección generalmente es asintomática. En pequeños rumiantes es una de las causas infecciosas más importantes de pérdidas reproductivas en todo el mundo, manifestándose con abortos, muertes embrionarias, natimortos, mortalidad perinatal, nacimiento de crías débiles o de animales infectados congénitamente, dependiendo del momento de la gestación en la que se produce la infección y el daño a la placenta o los tejidos fetales. Se ha mencionado como frecuente en gestaciones múltiples el nacimiento de una cría muerta acompañada del nacimiento de un cabrito débil o un feto momificado. En los caprinos además pueden ocurrir abortos a repetición en hembras con infección latente. En los casos de abortos por *T. gondii* es posible

encontrar lesiones blanquecinas características de 1 a 3 mm de diámetro, que corresponden a áreas de necrosis y mineralización en los cotiledones de las placentas, mientras que las áreas intercotiledonarias no presentan lesiones (Unzaga, 2004). En los cerdos la enfermedad en general cursa en forma subclínica, pudiendo observarse en algunos casos nacimiento de animales débiles o natimortos, aunque se ha determinado que la tasa de transmisión vertical en esta especie, determinada por métodos serológicos es muy baja (Venturini et al., 1999). En los caninos *T. gondii* se considera un patógeno oportunista, pudiendo causar principalmente manifestaciones neuromusculares y respiratorias, y se han reportado casos de enfermedad ocular generalmente asociada a inmunosupresión (Calero-Bernal & Gennari, 2019). Los felinos generalmente cursan la infección de forma asintomática, incluso durante la eliminación de ooquistes, sin embargo, en algunas ocasiones se presentan signos clínicos, principalmente respiratorios y oculares. Los animales silvestres son muy susceptibles a la infección, y al ser introducidos en parques zoológicos pueden sufrir una presentación aguda de la enfermedad, reportándose casos fatales en monos, suricatas y canguros (Basso et al., 2007; Basso et al., 2009; Moré et al., 2010; Pardini et al., 2015). Las aves domésticas no presentan signos clínicos, pero son utilizadas como centinelas para determinar contaminación por ooquistes del medio ambiente (Pardini et al., 2016). Los equinos parecen ser los animales más resistentes a la enfermedad, y el único caso reportado de toxoplasmosis clínica en esta especie fue en un caballo cuarto de milla en Estados Unidos que presentó pérdida de peso, fiebre leve, inicio agudo de cólicos y áreas necróticas en serosa gástrica, linfonódulos, pulmón y bazo a la necropsia (Kimble et al., 2021).

En el caso de la infección en humanos se presentan varias situaciones de relevancia médica: la infección aguda en la embarazada (toxoplasmosis congénita [TC]), la toxoplasmosis ocular (coriorretinitis) y la reactivación en pacientes inmunosuprimidos con signos multiorgánicos (principalmente encefalitis y neumonías). Los recién nacidos infectados pueden variar desde asintomáticos hasta presentar sintomatología grave a nivel del sistema nervioso central, como focos de necrosis e hidrocefalia. Son raros los casos graves con retardo mental, sordera, microcefalia, convulsiones y deficiencias psicomotoras. La coriorretinitis es la forma más frecuente de manifestación ocular y puede ser uni o bilateral, asintomática toda la vida o presentar reactivaciones en diferentes momentos. No existen medidas para evitar las reactivaciones. Se han evidenciado casos de toxoplasmosis humana y animal en individuos inmunocompetentes, atribuyendo la gravedad de los signos a la virulencia de las variantes o genotipos del parásito (Durlach et al., 2020).

## Caracterización molecular

Las variables presentaciones clínicas podrían relacionarse con la virulencia del genotipo de *T. gondii* causante de la infección. Numerosos trabajos han revelado la diversidad genética de *T. gondii*, con una población mayormente clonal en los continentes del hemisferio norte, pero con

una población altamente diversa en América Central y del Sur. Howe y Sibley realizaron los primeros estudios sobre caracterización molecular de *T. gondii* basados en amplificación de fragmentos de ADN y cortes con enzimas de restricción, de diversos animales (incluyendo humanos) provenientes de Europa y América del Norte, y clasificaron a *T. gondii* en tres linajes (también llamados genotipos) denominados I, II y III, y vincularon estos linajes a las diferencias en virulencia observadas en ratones exocriados. El tipo clonal I es letal para los ratones, independientemente de la dosis, mientras que los tipos clonales II y III son de moderada a baja virulencia, estableciendo enfermedad crónica en los ratones (Howe & Sibley, 1995).

Existen diferentes técnicas para identificar y clasificar la estructura poblacional del parásito. La técnica de la reacción en cadena de la polimerasa anidada – polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (nPCR-RFLP, por sus siglas en inglés) es uno de los métodos más usados para la genotipificación de *T. gondii* (Su et al., 2006). Mediante la mencionada técnica se estandarizaron protocolos para la identificación de diez marcadores moleculares con alto poder de discriminación, con la ventaja de verificar múltiples locus simultáneamente, estos son: SAG1, SAG2 (5'-3'SAG2, alt. SAG2), SAG3, BTUB, GRA6, C22-8, C29-2, L358, PK1, (ubicados en ocho cromosomas nucleares) y Apico (ubicado en el apicoplasto). Diferentes genotipos identificados por este método se encuentran en la base de datos online ToxoDB ([www.toxodb.org](http://www.toxodb.org)). Otra técnica también ampliamente utilizada es la del estudio de microsatélites (MS), que consta de 15 marcadores con alto poder de resolución que permiten identificar diferencias dentro de un mismo genotipo. Los genotipos obtenidos por nPCR-RFLP y a partir de MS conforman 16 haplogrupos que se agrupan a su vez en 6 clados ancestrales (Bernstein, 2019).

En América del Norte (Estados Unidos y Canadá), los genotipos predominantes son el tipo II (ToxoDB # 1 y # 3), el tipo III (ToxoDB # 2) y el haplogrupo 12 (ToxoDB # 4 y # 5), que se considera como un tipo clonal más en América del Norte. En Europa, predomina el tipo II seguido de aislamientos de tipo III. En Asia, *Chinese 1* (identificado por MS, también conocido como ToxoDB # 9) es dominante en la región central y oriental del continente. En África, el tipo II predomina en el norte y este del continente junto con el genotipo ToxoDB # 20, mientras que en la región central y oeste el genotipo *África 1* (identificado por MS, también conocido como ToxoDB # 6) es el dominante (Bernstein, 2019).

Sin embargo, en América del Sur, sobre todo en Brasil y Argentina, se encontraron genotipos que no pertenecen a los tres linajes principales, con una diversidad genética mucho mayor a la descrita inicialmente para *T. gondii*. Estos aislamientos poseen alelos tipo I, II y III (siendo principalmente combinaciones del tipo I / III) idénticos a aquellos hallados en los linajes clonales e incluso presentan nuevos alelos. Estos “nuevos” genotipos recientemente identificados, fueron designados, dependiendo los autores y las hipótesis sobre su génesis, como atípicos, exóticos, recombinantes o genotipos no clonales. En Brasil, la diversidad de aislamientos no clonales hallados es muy elevada, mostrando una enorme diversidad de genotipos. Se han descrito 4 genotipos, aislados de diversas especies hospedadoras, considerados linajes predominantes brasileños denominados: BrI, BrII, BrIII y BrIV (genotipos ToxoDB # 6, # 11, # 8 y # 17, respectivamente) con diferente virulencia en modelo de ratón. De hecho, algunos de estos

aislamientos son extremadamente virulentos y mortales para el ratón (BrI), similares a la cepa de referencia RH (clonal tipo I). En la Guayana Francesa se han reportado aislamientos de casos humanos de toxoplasmosis severa y con alta virulencia en ratón asociados a genotipos atípicos analizados por MS (Bernstein, 2019).

Además, en los últimos años, se ha incorporado la caracterización molecular por nPCR-RFLP de los marcadores moleculares ROP5 y ROP18. Ambos genes codifican para la expresión de proteínas de las organelas roptrias. Estas proteínas son liberadas al citosol de la célula hospedadora e inhiben la acción de las IRG (GTPasas relacionadas al interferón gamma) producidas por el hospedador en defensa contra el parásito. Dependiendo del alelo, ROP5 y ROP18 pueden actuar como virulentos o no. Se ha demostrado que la combinación alélica de ROP5 y ROP18 es altamente predictiva de los niveles de virulencia en muchos aislamientos de *T. gondii* (Bernstein et al., 2021).

En Argentina se han podido aislar y caracterizar aislamientos de *T. gondii* provenientes de animales domésticos y silvestres (Basso et al., 2007; Basso et al., 2009; Moré et al., 2010; Moré et al., 2012; Pardini et al., 2014). Todos se han genotipificado por nPCR-RFLP para 10 marcadores multi-locus e identificado acorde la base de datos ToxoDB. Además, se han registrado 7 aislamientos a partir de placenta y sangre de cordón umbilical de casos de mujeres gestantes con toxoplasmosis congénita y todos han sido caracterizados molecularmente como genotipos no-clonales (Pardini et al., 2012; Bernstein et al., 2018; Pardini et al., 2019). Específicamente en la provincia de Misiones, se registraron gran cantidad de casos de toxoplasmosis ocular asociada también a genotipos no-clonales (Pardini et al., 2016). También, se realizó la caracterización molecular de ROP5/ROP18, encontrando las combinaciones de alelos 3/3 y 4/3, respectivamente, asociadas tanto a perfiles de alta como baja virulencia en modelo murino (Bernstein et al., 2021).

## Respuesta inmune del hospedador

El equilibrio entre la respuesta inmune del hospedador y los mecanismos de evasión de *T. gondii* le ha permitido a este protozoo desarrollar una infección crónica, que desde el punto de vista evolutivo benefició la supervivencia de este parásito en una gran diversidad de hospedadores distribuidos mundialmente. *Toxoplasma gondii* puede sobrevivir dentro de las células dendríticas y macrófagos e incluso utilizar las propiedades migratorias de estas células para distribirse dentro del hospedador (Miller et al., 2009; Fainboim & Geffner, 2011). Las células dendríticas son las más eficientes productoras de IL-12 en la infección por este protozoo, esta citoquina es de vital importancia para la activación de las células NK las cuales producen Interferón Gamma (IFN- $\gamma$ ), así como para diferenciar linfocitos TCD4+ en un perfil Th1 y activar a las células TCD8+ o citotóxicas, también productoras de IFN- $\gamma$  (Miller et al., 2009). La producción de IFN- $\gamma$  activa el potencial microbicida de los macrófagos produciendo Factor de

Necrosis Tumoral Alfa, que sinérgicamente con el IFN- $\gamma$  inducen la producción de intermediarios reactivos del oxígeno y del nitrógeno. Estos últimos pueden eliminar directamente los taquizoítos de *T. gondii* y el IFN- $\gamma$  reduce la disponibilidad de hierro y triptófano, factores limitantes para el crecimiento de este protozoo (Miller et al., 2009; Fainboim & Geffner, 2011).

Una vez instaurado el perfil Th1 de citoquinas inflamatorias, se inicia la activación de linfocitos TCD4+ con perfil de citoquinas Th folicular (IL-4, IL-10), que estimula la respuesta inmune humoral y además contribuye a la regulación negativa de los macrófagos, con lo cual se garantiza una respuesta inmune efectiva y autolimitada. La IL-4, entre sus numerosos efectos, promueve el desarrollo de las respuestas inmunes humorales a través de la inducción del crecimiento y diferenciación de linfocitos B. La producción de anticuerpos IgM, IgG e IgA específicos contra *T. gondii* ocurre como parte de la respuesta inmune al parásito y promueven la opsonización, la fagocitosis y la activación del complemento, sin embargo, no constituyen el mecanismo efector más eficiente contra la replicación del mismo en el medio intracelular (Miller et al., 2009; Fainboim & Geffner, 2011).

## Epidemiología

La toxoplasmosis se encuentra distribuida mundialmente y si bien infecta a un amplio rango de hospedadores, la prevalencia es variable en ellos. Se considera que un tercio de la población humana está infectada por *T. gondii*. En los animales, dentro de las especies de producción, los bovinos parecen ser poco susceptibles a la enfermedad y si bien la seroprevalencia en esta especie suele ser elevada, la ingestión de carne bovina aún no se considera una fuente de infección relevante para los humanos. En Argentina se ha determinado una seroprevalencia del 91% en 90 bovinos provenientes de dos mataderos de la provincia de Buenos Aires y se detectó ADN de este parásito en 2 de 20 tejidos cardíacos de animales seropositivos (Moré et al., 2008).

Entre los rumiantes, los ovinos y caprinos presentan una alta seroprevalencia en todo el mundo. En nuestro país se realizó un estudio sobre un total de 4092 sueros caprinos provenientes de 209 establecimientos de siete provincias con diferentes sistemas productivos. La seroprevalencia total de anticuerpos anti-*T. gondii* fue del 39%; todas las provincias analizadas y el 76% de los establecimientos presentaron animales seropositivos demostrando que la toxoplasmosis caprina se encuentra ampliamente distribuida en el país. Al determinar las diferencias entre los distintos sistemas de manejo bajo los cuales se crían las cabras en nuestro país se observó que la seroprevalencia fue significativamente mayor en explotaciones lecheras con manejo semi-intensivo/intensivo (Gos et al., 2017; Gos, 2019). Además, se ha evaluado uno de los establecimientos caprinos por seguimiento serológico durante 11 años observándose que la mayoría de las cabras presentaron una toxoplasmosis activa en el último tercio de gestación, por reinfección o reactivación de la enfermedad (Steffen et al., 2021). También se ha determinado que entre el 13% y 36% de fetos de esta especie analizados en el país resultaron positivos a *T. gondii* por diferentes métodos y también se ha obtenido y caracterizado molecularmente como

genotipo no-clonal un aislamiento obtenido a partir de un aborto (ToxoDB #284) (Unzaga et al., 2014; Bernstein et al., 2018; Gos, 2019). En ovinos se ha reportado una seroprevalencia del 17,3% en 704 ovinos de 6 establecimientos lecheros de la región de la pampa húmeda y se determinó que *T. gondii* fue el causante de un brote de 15 abortos y 9 natimortos en un rebaño de ovejas Texel de la provincia de Buenos Aires (Hecker et al., 2013; Gual et al., 2018). En cerdos se determinó la presencia de anticuerpos para *T. gondii* en 230 hembras adultas de frigoríficos provenientes de 83 granjas de 5 provincias del centro del país encontrándose una seroprevalencia del 37,8% y se analizaron serológicamente dos granjas con diferentes sistemas de producción (intensiva y semi-extensiva), y se determinó que la seroprevalencia es mayor en sistemas extensivos (40,2%) en relación a intensivos (4,5%) (Venturini et al., 2004). En cerdos actualmente son de interés los estudios para determinar anticuerpos para *T. gondii* en fluidos orales a partir de cuerdas de algodón como métodos de *screening* en granjas ya que es una opción no invasiva y amigable con el bienestar animal (Campero et al., 2020). En las aves domésticas la infección cursa de forma subclínica, pero el estudio en las aves de traspatio es importante debido a que pueden considerarse como centinelas de la contaminación ambiental por ooquistes en una región, lo que permite relacionar los genotipos hallados en ellas con los que podrían estar presentes en la población humana en la misma zona (Pardini et al., 2016). En equinos se determinó una seroprevalencia del 13,1% en 76 caballos de las fuerzas armadas de la provincia de Chaco (Dubey et al., 1999) y no existen estudios más recientes de seroprevalencia en el país, siendo la mayoría de los estudios en la región realizados en distintos estados de Brasil, con una seroprevalencia del 11,6% al 47,2% (Dubey et al., 2020). Recientemente se identificó y caracterizó un aislamiento en esta especie (ToxoDB #228) proveniente de un caballo de un matadero del estado de Río Grande del Sur que exporta carne equina a Europa, alarmando sobre la posibilidad de infección a humanos sobre todo en países europeos donde el consumo de carne cruda de esta especie es apreciado culturalmente (Pena et al., 2018). Existen estudios epidemiológicos que relacionan casos de toxoplasmosis graves congénitas y adquiridas e incluso reinfecciones en personas en Europa, donde la mayoría de los casos corresponden al genotipo II, con el consumo de carne equina importada desde Sudamérica con genotipos no-clonales virulentos (Pomares et al., 2011; Elbez-Rubinstein et al., 2019). En nuestro país también se realizaron estudios de seroprevalencia en ciervos colorados (73,7%) (Soler et al., 2021) y en roedores sinantrópicos (32,8%) de la provincia de Buenos Aires (Dellarupe et al., 2019). En el norte y sur de nuestro país es más frecuente el consumo de carne de llama u otros camélidos sudamericanos por lo tanto es importante señalar que se detectaron anticuerpos para *T. gondii* en el 30% (92/308) de las llamas estudiadas en el norte de nuestro país (Moré et al., 2008). En animales silvestres, como los jabalíes, recientemente se detectó una seroprevalencia para *T. gondii* de 12,5% (18/144) (Winter et al., 2019).

En las especies de compañía, se ha determinado una seroprevalencia del 35,9% en 6768 sueros caninos provenientes de áreas urbanas, principalmente de la ciudad de La Plata y alrededores, determinando que los caninos mestizos fueron los que presentaron mayor cantidad

de seropositivos en relación a los de raza y también se observó que la seroprevalencia es mayor al aumentar la edad de los animales (Gos et al., 2020).

La toxoplasmosis es considerada una de las parasitosis más importantes dentro de las enfermedades transmitidas por los alimentos según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2018) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO/WHO, 2014). Las fuentes de infección para el humano son la carne cruda o mal cocida con quistes tisulares, las verduras, frutas y el agua contaminada con ooquistes y la leche no pasteurizada con taquizoítos de animales infectados. Entre los animales domésticos, los productos derivados de ovejas, cabras y cerdos son las principales fuentes de infección. Actualmente se está estudiando la importancia de la leche de animales de producción en la transmisión de la enfermedad al ser humano. Los taquizoítos de *T. gondii* se han encontrado en leche de varias especies como bovinos, ovejas y cabras (Hiramoto et al., 2001; Camossi et al., 2011; Cisak et al., 2017), pero sólo el consumo de leche de cabra no pasteurizada ha sido asociado a casos de toxoplasmosis humana. En el último tiempo se han realizado muchos estudios moleculares especialmente en leche de cabras en distintos países, indicando prevalencias que oscilan entre el 2% y 13% (Mancianti et al., 2013; da Silva et al., 2015) ya que es un producto relacionado a las producciones de autoconsumo, de importancia para las economías regionales y las economías de agricultura familiar, donde muchas veces se consume sin pasteurizar. En nuestro país un estudio sobre la eliminación de *T. gondii* en leche de cabras naturalmente infectadas provenientes de un establecimiento de la provincia de Buenos Aires con alta prevalencia de la enfermedad determinó que el 2,6% de 77 leches analizadas presentaron ADN de *T. gondii* y las cabras que eliminaron el parásito por leche presentaron altos títulos de anticuerpos (Gos et al., 2018). Por lo tanto, el consumo de leche de cabra como así también los productos lácteos elaborados con leche cruda también podrían considerarse un factor de riesgo potencial para adquirir la infección por *T. gondii*.

Se estima que el 30% de la población humana mundial está infectada, variando entre el 10% y el 80% según el país y la región. La diferencia se relacionaría con el clima, los hábitos de alimentación, la higiene, la calidad del agua de consumo y las condiciones socioeconómicas. La prevalencia está en descenso globalmente en las últimas décadas. Se han estudiado anticuerpos anti-*T. gondii* en hemodonantes de Buenos Aires de ambos sexos, entre 1967 y 2017, con el propósito de conocer esta variable en el tiempo y se ha observado que en el lapso de esos 50 años disminuyó la prevalencia en un 45,8%, lo que representó una declinación promedio del 0,91% anual. En cuanto a la infección aguda en embarazadas, la prevalencia mundial fue de 1,1%, según un meta-análisis en el que se incluyeron 902.228 gestantes pertenecientes a 217 estudios, de 74 países. La prevalencia más alta en forma significativa se registró en los países con ingresos bajos, índices de subdesarrollo humano y temperaturas elevadas. En este análisis, Argentina mostró 121/13.632 casos, una prevalencia de 0,9% (Durlach et al., 2020).

Para evitar la infección en humanos se recomienda ingerir la carne bien cocida o realizar el congelado (-20°C) de la misma previamente, evitar llevar accidentalmente a la boca restos de carnes crudas cuando se está cocinando y pasteurizar la leche. Es importante la cocción de la

carne, vísceras o derivados a una temperatura mayor a 67°C durante un período prolongado, y que la misma sea pareja en todo el corte, ya que algunos quistes tisulares pueden permanecer infecciosos si la cocción es desigual. También se recomienda la congelación profunda de la carne (a -12°C o menos) durante una semana antes de su cocción, ya que puede reducir el riesgo de infección, sin embargo, la congelación no es un método seguro por sí mismo porque es muy variable en relación a la viabilidad de los quistes según las temperaturas alcanzadas si son *freezers* domésticos o industriales, la cantidad de alimentos que contiene, entre otros factores. Para evitar la infección por ooquistes diseminados en el ambiente, se recomienda realizar el lavado de frutas y verduras con agua por arrastre ya que son resistentes a los desinfectantes comunes, tanto el lavado de los vegetales como las tareas de jardinería y horticultura deben realizarse utilizando guantes, sobre todo en personas embarazadas o inmunosuprimidas. Además, en la población de riesgo es importante evitar el consumo de vegetales crudos, si no se conoce cómo se realizó el lavado, o de chacinados, si se desconoce su procedencia. El contacto con los gatos domésticos no implicaría un riesgo para adquirir la infección debido a que los ooquistes no son infecciosos al momento de su eliminación y se ha demostrado que el riesgo de infección no es mayor para los propietarios de estos animales que para la población general. Igualmente se recomiendan ciertas medidas de prevención con el fin de evitar la eliminación de ooquistes. La principal es alimentar a los gatos domésticos con alimentos balanceados o comida de preparación casera cocida ya que el mayor riesgo de infección para los felinos es el consumo de carne o vísceras con quistes tisulares. También se recomienda castrarlos para reducir sus hábitos de caza, y disminuir la posibilidad de ingerir aves o roedores infectados. Es adecuado que los gatos dispongan de un recipiente para efectuar sus deposiciones, e idealmente ser removidas diariamente y vertidas a la red cloacal para evitar que los ooquistes esporulen. La higienización de las bandejas sanitarias debe realizarse con guantes y agua hirviendo por 5 minutos para destruir los ooquistes. Para reducir las infecciones por *T. gondii* en animales de producción destinados a consumo se deben implementar medidas de manejo como el control de la población de gatos en las explotaciones, limitar su acceso a corrales, comederos y lugares donde se almacena el alimento, como así también realizar el control de roedores que podrían ser fuente de infección para los felinos.

## Diagnóstico y observación

El diagnóstico de la toxoplasmosis se realiza por métodos directos e indirectos. Los métodos directos de diagnóstico permiten detectar la presencia del parásito o de su ADN e incluyen las técnicas parasitológicas, histopatológicas y moleculares. Es posible identificar las formas infectantes (quistes tisulares, taquizoítos) mediante observación microscópica en fresco de tejidos de animales infectados o de materia fecal (ooquistes) de felinos mediante técnicas de concentración. La histopatología permite la observación de quistes tisulares y taquizoítos asociados a lesiones en sistema nervioso, músculo, hígado, pulmón y otros tejidos.

La inmunohistoquímica permite la detección de diferentes estadios del parásito en tejidos de animales infectados mediante la utilización de anticuerpos específicos y el diagnóstico diferencial con otros protozoos de morfología similar. El aislamiento del parásito se realiza inoculando tejidos sospechosos homogeneizados con solución salina y antibióticos, u oocistos provenientes de animales infectados, en diferentes cepas de ratones de laboratorio o en cultivos celulares. En ratones infectados a los 7-10 días post-inoculación (p.i.) se determina la presencia de taquizoítos realizando un lavado peritoneal bajo anestesia o, si el animal muere, la presencia de taquizoítos en pulmón. A partir de las 4-6 semanas p.i. se pueden observar quistes tisulares en el sistema nervioso central mediante observación en fresco al microscopio óptico, posterior al sacrificio. A partir de los taquizoítos obtenidos pueden infectarse cultivos celulares que se mantienen hasta observar el crecimiento del parásito. La prueba de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) determina la presencia de *T. gondii* en los tejidos a través de la identificación de fragmentos de ADN específicos, y puede realizarse a partir de muestras de diversos tejidos de animales infectados, e incluso de fetos y tejidos autolizados. *Toxoplasma gondii* puede detectarse utilizando distintos *primers* específicos, como los que permiten la amplificación de la secuencia del gen B1, la secuencia ITS1, la subunidad ribosomal RNA y el fragmento repetitivo de 529 pb. La técnica de nPCR-RFLP puede utilizarse para determinar el genotipo de la cepa infectante (Su et al., 2006).

Los métodos indirectos son realizados *in vitro* e indican exposición a la infección. Consisten en la detección de anticuerpos anti-*T. gondii* tanto en los HD como en los HI en el líquido cefalorraquídeo, leche, humor acuoso y líquidos fetales, aunque la muestra de elección es el suero del animal sospechoso. La detección de anticuerpos específicos en una única muestra de suero establece que el animal ha estado infectado en algún momento en el pasado, por lo que se recomienda determinar la presencia de anticuerpos en una segunda muestra de suero del animal sospechoso en 3-4 semanas posteriores a la primera para poder comparar los títulos de anticuerpos (IgG), así el aumento en el título de anticuerpos (seroconversión positiva) indicaría una infección aguda. En el caso de abortos en animales domésticos, la determinación de anticuerpos anti-*T. gondii* en una única muestra de suero de la madre abortada no es determinante para el diagnóstico del mismo, sino que también es conveniente analizar la seroconversión de muestras pareadas para poder diferenciar entre infección aguda y crónica. Además, la determinación de anticuerpos específicos en los líquidos fetales indica que existió infección transplacentaria. Se debe tener en cuenta que la presencia de anticuerpos en los fetos dependerá de la edad fetal y del grado de desarrollo de su sistema inmune, por lo que la serología fetal negativa no siempre indica ausencia de infección. También se sugiere a nivel del rodeo tomar muestras de sueros de una misma cantidad de animales que abortaron y que no abortaron para poder detectar asociaciones estadísticas entre presencia de abortos y títulos de anticuerpos. También es posible determinar el nacimiento de animales infectados congénitamente, aunque se encuentren aparentemente sanos, buscando anticuerpos específicos en las crías previo a mamar calostro (sueros precalostrales), ya que su presencia indicaría también que existió infección transplacentaria. Las pruebas indirectas más utilizadas

son la Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), aglutinación modificada (MAT) y las pruebas de Enzimoimmunoensayo (ELISA e *Immunoblot*). Estas pruebas presentan distinta sensibilidad y especificidad según las características del antígeno utilizado. La IFI es la prueba más difundida para determinar anticuerpos específicos en las especies domésticas por ser de gran sensibilidad y especificidad; y utiliza como antígeno taquizoítos enteros inactivados fijados a un portaobjetos que se enfrenta al suero problema. Para revelar la unión antígeno-anticuerpo se requiere de un conjugado o anticuerpo secundario unido a una sustancia fluorescente (fluorocromo), siendo la más frecuente el isotiocianato de fluoresceína, que al ser excitada por la luz ultravioleta emite un haz de luz que se visualiza con un microscopio de epifluorescencia. Se debe tener en cuenta que, si bien el antígeno puede utilizarse para el diagnóstico de la enfermedad en cualquier especie, el conjugado debe estar compuesto por anti-inmunoglobulinas especie-específicas (anti-gato, anti-perro, anti-oveja, anti-cabra, anti-cerdo, entre otros). Como desventajas de esta prueba se encuentran que la interpretación de los resultados requiere de personal entrenado debido a que su lectura presenta cierto grado de subjetividad y que su realización consume mucho tiempo si se analiza un gran número de muestras. El título de corte utilizado dependerá del objetivo del estudio que se realice y del laboratorio.

En las pruebas de ELISA se utilizan placas de microtitulación de 96 pocillos con el antígeno y para revelar la unión con los anticuerpos se utiliza también un conjugado especie-específico, pero en este caso unido a una enzima, siendo la más utilizada la peroxidasa, que, al reaccionar con su sustrato específico en presencia de un cromógeno, produce una reacción coloreada. La lectura se realiza con un espectrofotómetro (lector de ELISA) que mide las densidades ópticas de la reacción de color, permitiendo una lectura objetiva de los resultados. Otra ventaja de estas pruebas es que permiten procesar simultáneamente una gran cantidad de muestras. Los conjugados, sustratos y kits diagnósticos completos se encuentran disponibles comercialmente, pero debe tenerse en cuenta que sólo pueden utilizarse para determinar anticuerpos en la especie animal indicada en las instrucciones del laboratorio productor, porque el conjugado es específico; además en el caso de ser kits comerciales importados, éstos deben ser previamente validados localmente antes de su uso, utilizando índices o valores de corte adaptados a cada región o país, ya que pueden existir variaciones epidemiológicas locales que generen una respuesta inmune distinta en los animales evaluados, muchas veces asociadas a la exposición a distintos genotipos de *T. gondii* encontrados en otros países (OIE, 2018). Las pruebas de ELISA tienen sensibilidad variable de acuerdo al tratamiento del antígeno utilizado, así pueden realizarse con extracto soluble de *T. gondii* o con taquizoítos enteros. Para mejorar la especificidad se han desarrollado ELISAs con antígeno recombinantes, pero en algunos casos han demostrado una sensibilidad más baja que otras pruebas usadas en animales (Pardini et al., 2012). También se han desarrollado ELISAs con antígenos nativos de *T. gondii* purificados por afinidad, como la proteína nativa TgSAG1 de 30Kda de PM (ELISA-P30), que disminuye las reacciones cruzadas con otros protozoos y la posibilidad de resultados falsos positivos, con buena sensibilidad y especificidad en distintas especies en otros países y en nuestro medio también se han estandarizado el uso de los ELISAs-P30 en cerdos demostrando una sensibilidad

del 92,8% y una especificidad del 98,3% (Pardini et al., 2012) y en cabras naturalmente infectadas de nuestro país con 96% y 98% de sensibilidad y especificidad respectivamente (Gos et al., 2019). También existen ELISAS de avididad para toxoplasmosis que se basan en detectar el aumento de la afinidad funcional de las IgG a medida que la respuesta inmune madura luego de producida la infección, lo que permite diferenciar entre infecciones agudas y crónicas. Estas pruebas agregan una incubación con urea, lo que permite disociar las uniones lábiles que se forman entre los anticuerpos producidos en forma temprana (de menor afinidad), por lo que valores de avididad altos descartan infecciones recientes (Basso et al., 2017).

## Referencias

- Basso, W., Grimm, F., Ruetten, M., Djokic, V., Blaga, R., Sidler, X., & Deplazes, P. (2017). Experimental *Toxoplasma gondii* infections in pigs: Humoral immune response, estimation of specific IgG avidity and the challenges of reproducing vertical transmission in sows. *Veterinary Parasitology*, 236, 76-85. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.01.026>.
- Basso, W., Moré, G., Quiroga, M. A., Pardini, L., Bacigalupe, D., Venturini, L., Valenzuela, M. C., Balducchi, D., Maksimov, P., Schares, G., & Venturini, M. C. (2009). Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from captive slender-tailed meerkats (*Suricata suricatta*) with fatal toxoplasmosis in Argentina. *Veterinary Parasitology*, 161, 201-206. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.01.006>.
- Basso, W., Venturini, M. C., Moré, G., Quiroga, A., Bacigalupe, D., Unzaga, J. M., Larsen, A., Laplace, R., & Venturini, L. (2007). Toxoplasmosis in captive Bennett's wallabies (*Macropus rufogriseus*) in Argentina. *Veterinary Parasitology*, 144, 157-161. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.09.030>.
- Bernstein, M. (2019). Estudios biológicos e inmunológicos de aislamientos de *Toxoplasma gondii* provenientes de animales de zoológico en Argentina. Tesis doctoral.
- Bernstein, M., Pardini, L., Bello Pede Castro, B., Unzaga, J. M., Venturini, M. C., & Moré, G. (2021). ROP18 and ROP5 alleles combinations are related with virulence of *T. gondii* isolates from Argentina. *Parasitol Int*, 102328. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2021.102328>.
- Bernstein, M., Pardini, L., Campero, L. M., Helman, E., Unzaga, J. M., Venturini, M. C., & Moré, G. (2020). Evaluation of biological behavior of *Toxoplasma gondii* atypical isolates # 14 and # 163. *Experimental Parasitology*, 211, 107860. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2020.107860>.
- Bernstein, M., Pardini, L., Moré, G., Unzaga, J. M., Su, C., & Venturini, M. C. (2018). Population structure of *Toxoplasma gondii* in Argentina. *Infection, Genetics and Evolution*, 65, 72-79. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.07.018>.
- Calero-Bernal, R., & Gennari, S. M. (2019). Clinical Toxoplasmosis in Dogs and Cats: An Update. *Frontiers in Veterinary Science*, 6, 54. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00054>.
- Camossi, L. G., Greca-Júnior, H., Corrêa, A. P. F. L., Richini-Pereira, V. B., Silva, R. C., da Silva, A. V., & Langoni, H. (2011). Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in the milk of naturally infected ewes. *Veterinary Parasitology*, 177, 256-261. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.12.007>.

- Campero, L. M., Schott, F., Gottstein, B., Deplazes, P., Sidler, X., & Basso, W. (2020). Detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in oral fluid from pigs. *International Journal of Parasitology*, 50(5), 349-355. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2019.11.002>.
- Cisak, E., Zając, V., Sroka, J., Sawczyn, A., Kloc, A., Dutkiewicz, J., & Wójcik-Fatla, A. (2017). Presence of pathogenic rickettsiae and protozoan in samples of raw milk from cows, goats, and sheep. *Foodborne Pathogens and Disease*, 14, 189-194. <https://doi.org/10.1089/fpd.2016.2203>.
- da Silva, J. G., Alves, B. H., Melo, R. P., Kim, P. C., Souza Neto, O. L., Bezerra, M. J., Sá, S. G., & Mota, R. A. (2015). Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies and parasite DNA in raw milk of sheep and goats of local breeds reared in Northeastern Brazil. *Acta Tropica*, 142, 145-8. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.11.011>.
- Dellarupe, A., Fitte, B., Pardini, L., Campero, L. M., Bernstein, M., Robles, M. D. R., Moré, G., Venturini, M. C., & Unzaga, J. M. (2019). *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in synanthropic rodents from Argentina. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 28, 113-118. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612019009>.
- Dubey, J. P. (2010). *Toxoplasmosis of Animals and Humans*, Second Edition. CRC Press, Boca Raton, Florida, 313 p.
- Dubey, J. P., Murata, F. H. A., Cerqueira-Cézar, C. K., & Kwok, O. C. H. (2020). *Toxoplasma gondii* infections in horses, donkeys, and other equids: The last decade. *Research in Veterinary Science*, 132, 492-499. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.07.005>.
- Dubey, J. P., Venturini, M. C., Venturini, L., McKinney, J., & Pecoraro, M. (1999). Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. *Veterinary Parasitology*, 86(1), 59-62. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(99\)00127-2](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(99)00127-2).
- Durlach, R., Freuler, C., Messina, M., Freilij, H., González Ayala, S., Venturini, M. C., Kaufer, F., García, F., Ceriotto, M., Pardini, L., Nadal, M., Ortiz De Zárate, M., Schneider, V., Mayer-Wolf, M., Jacob, N., Abuin, J. C., Alcheh, J., Fiameni, F., Salomon, C., Ledesma, B., & Guarnera, E. (2021). Consenso Argentino de Toxoplasmosis Congénita. *Medicina (Buenos Aires)*, 81(2), 257-268.
- EFSA. (2018). Public health risks associated with food-borne parasites. *EFSA Journal*, 16(12), 5495. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5495>.
- Elbez-Rubinstein, A., Ajzenberg, D., Dardé, M.L., Cohen, R., Dumètre, A., Yera, H., Gondon, E., Janaud, J.C., & Thulliez, P. (2009). Congenital toxoplasmosis and reinfection during pregnancy: case report, strain characterization, experimental model of reinfection, and review. *The Journal of Infectious Disease*, 199(2), 280-285. <https://doi.org/10.1086/595793>.
- Fainboim, L., & Geffner J. (2011). *Introducción a la Inmunología Humana*, 6 edición. Editorial Médica Panamericana.
- FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization) (2014). Multicriteria based ranking for risk management of food-borne parasites. *Microbiological Risk Assessment Series*, pág. 145-151.

- Gos, M. L. (2019). Estudios serológicos, biológicos y moleculares de *Toxoplasma gondii* y su relación con la transmisión transplacentaria en infecciones naturales en cabras. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP.
- Gos, M. L., Manazza, J. A., Spath, E. J. A., Pardini, L., Fiorentino, M. A., Unzaga, J. M., Moré, G., & Venturini, M. C. (2017). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in goats from two argentinian provinces. *Open Veterinary Journal*, 7(4), 319-322. <https://doi.org/10.4314/ovj.v7i4.5>.
- Gos, M. L., Pardini, L., Gvozdricki, O., Steffen, K., Arias, R., Moré, G., & Venturini, M. C. (2018). Detección de *Toxoplasma gondii* en leche de cabras naturalmente infectadas de la provincia de Buenos Aires. En el II Congreso Internacional de Zoonosis. IX Congreso Argentino de Zoonosis. Buenos Aires, Argentina.
- Gos, M. L., Venturini, M. C., De Felice, L., Rambeaud, M., Pardini, L., & Unzaga, J. M. (2020). Seroprevalencia de toxoplasmosis y neosporosis en caninos con signos clínicos compatibles y su relación con la raza, sexo y edad. En VIII Jornadas de Difusión de la Investigación y Extensión, Facultad de Cs. Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.
- Gual, I., Giannitti, F., Hecker, Y. P., Shivers, J., Entrocassi, A. C., Morrell, E. L., Pardini, L., Fiorentino, M. A., Rodríguez Fermepin, M., Unzaga, J. M., Cantón, G. J., Venturini, M. C., & Moore, D. P. (2018). First case report of *Toxoplasma gondii*-induced abortions and stillbirths in sheep in Argentina. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 12, 39-42. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.01.001>.
- Hecker Y. P., Moore, D. P., Manazza, J. A., Unzaga, J. M., Späth, E. J., Pardini, L., Venturini, M. C., Roberi, J. L., & Campero, C. M. (2013). First report of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy sheep from Humid Pampa, Argentina. *Tropical Animal Health Production*, 45(7), 1645-7. <https://doi.org/10.1007/s11250-013-0396-1>.
- Hiramoto, R. M., Mayrbaurl-Borges, M., Galisteo, Jr A. J., Meireles, L. R., Macre, M. S., & Andrade, Jr H. F. (2001). Infectivity of cysts of the ME-49 *Toxoplasma gondii* strain in bovine milk and homemade cheese. *Revista de Saúde Pública*, 35(2), 113-118. <https://doi.org/10.1590/s0034-89102001000200002>.
- Howe, D. K., & Sibley, L. D. (1995). *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *The Journal of Infectious Diseases*, 172, 1561-1566. <https://doi.org/10.1093/infdis/172.6.1561>.
- Kimble, K. M., Gomez, G., Szule, J. A., Dubey, J. P., Buchanan, B., & Porter, B. F. (2021). Systemic Toxoplasmosis in a Horse. *Journal of Comparative Pathology*, 182, 27-31. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2020.11.004>.
- Mancianti, F., Nardoni, S., D'Ascenzi, C., Pedonese, F., Mugnaini, L., Franco, F., & Papini, R. (2013). Seroprevalence, detection of DNA in blood and milk, and genotyping of *Toxoplasma gondii* in a goat population in Italy. *Biomed Research International*, 905326. <https://doi.org/10.1155/2013/905326>.

- Miller, C. M., Boulter, N. R., Ikin, R. J., & Smith, N. C. (2009). The immunobiology of the innate response to *Toxoplasma gondii*. *International Journal for Parasitology*, 39, 23-39. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.08.002>.
- Moré, G., Basso, W., Bacigalupe, D., Venturini, M. C., & Venturini, L. (2008). Diagnosis of *Sarcocystis cruzi*, *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in cattle. *Parasitology Research*, 102, 671-675. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0810-6>.
- Moré, G., Pardini, L., Basso, W., Machuca, M., Bacigalupe, D., Villanueva, M. C., Schares, G., Venturini, M. C., & Venturini, L. (2010). Toxoplasmosis and genotyping of *Toxoplasma gondii* in *Macropus rufus* and *Macropus giganteus* in Argentina. *Veterinary Parasitology*, 169, 57-61. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.12.004>.
- Moré, G., Pardini, L., Basso, W., Marín, R., Bacigalupe, D., Auad, G., Venturini, L., & Venturini, M. C. (2008). Seroprevalence of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis* sp. in llamas (*Lama glama*) from Jujuy, Argentina. *Veterinary Parasitology*, 155, 158-160. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.04.003>.
- Moré, G., Maksimov, P., Pardini, L., Herrmann, D. C., Bacigalupe, D., Maksimov, A., Basso, W., Conraths, F. J., Schares, G., & Venturini, M. C. (2012). *Toxoplasma gondii* infection in sentinel and free-range chickens from Argentina. *Veterinary Parasitology*, 184, 116-121. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.09.012>.
- OIE. (2018). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. part 1 section i.1.Chapter I.1.3.
- Pardini, L. (2012). Estudios inmunológicos y moleculares de la infección por *Toxoplasma gondii* en cerdos. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP.
- Pardini, L., Carral, L. A., Bernstein, M., Gos, M. L., Olejnik, P., Unzaga, J. M., Kaufer, F. J., Freuler, C. B., Durlach, R. A., & Venturini, M. C. (2014). First isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from a human placenta in Argentina. *Parasitology International*, 63, 470-472. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2013.10.011>.
- Pardini, L., Dellarupe, A., Bacigalupe, D., Quiroga, M. A., Moré, G., Rambeaud, M., Basso, W., Unzaga, J. M., Schares, G., & Venturini, M. C. (2015). Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* in a colony of captive black-capped squirrel monkeys (*Saimiri boliviensis*). *Parasitology International*, 64, 587-590. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2015.08.009>.
- Pardini, L., Bernstein, M., Carral, L. A., Kaufer, F. J., Dellarupe, A., Gos, M. L., Campero, M. L., Moré, G., Messina, M. T., Schneider, M. V., Freuler, C. B., Durlach, R. A., Unzaga, J. M., & Venturini, M. C. (2019). Congenital human toxoplasmosis caused by non-clonal *Toxoplasma gondii* genotypes in Argentina. *Parasitology International*, 68, 48-52. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2018.10.002>.
- Pardini, L., Moré, G., Rudzinski, M., Gos, M. L., Campero, L. M., Meyer, A., Bernstein, M., Unzaga, J. M., & Venturini, M. C. (2016). *Toxoplasma gondii* isolates from chickens in an area with human toxoplasmic retinochoroiditis. *Experimental Parasitology*, 16-20. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2016.03.006>.

- Pena, H. F. J., Pinheiro, T. M., Soares, H. S., Oliveira, S., Alves, B. F., Ferreira, M. N., & Gennari, S. M. (2018). Typical Brazilian genotype of *Toxoplasma gondii* isolated from a horse destined for human consumption in Europe from a slaughterhouse. *Parasitology Research*, 117(10), 3305-3308. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5999-z>.
- Pomares, C., Ajzenberg, D., Bornard, L., Bernardin, G., Hasseine, L., Darde, M. L., & Marty, P. (2011). Toxoplasmosis and horse meat, France. *Emerging Infectious Diseases*, 17(7), 1327-1328. <https://doi.org/10.3201/eid1707.101642>.
- Soler, J. P., Dellarupe, A., & Moré, G. (2021). *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections and their relationship with reproductive losses in farmed red deer (*Cervus elaphus*). *Parasitology Research*, 120, 1851-1860. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612019009>.
- Steffen, K., Gos, M. L., Gortari, L., Arias, R. O., Venturini, M. C., & Moré, G. (2021). Eleven years of *Toxoplasma gondii* serological follow-up in a goat herd and association of toxoplasmosis with reproductive losses. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 25, 100599. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100599>.
- Su, C., Zhang, X., & Dubey, J. P. (2006). Genotyping of *Toxoplasma gondii* by multilocus PCR-RFLP markers: a high resolution and simple method for identification of parasites. *International Journal of Parasitology*, 36, 841-848. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2006.03.003>.
- Toxo DB *Toxoplasma* genomics resource. EuPathDB Project. <http://toxodb.org/toxo/showApplication.do>.
- Unzaga, J. M. (2004). Efecto de la infección por *Toxoplasma gondii* en hembras ovinas gestantes. Tesis doctoral. Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP.
- Unzaga, J. M., Moré, G., Bacigalupe, D., Rambeaud, M., Pardini, L., Dellarupe, A., De Felice, L., Gos, M. L., & Venturini, M. C. (2014). *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goat abortions from Argentina. *Parasitology International*, 63(6), 865-7. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2014.07.009>.
- Venturini, M. C., Bacigalupe, D., Venturini, L., Machuca, M., Perfumo, C. J., & Dubey, J. P. (1999) Detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in stillborn piglets in Argentina. *Veterinary Parasitology*, 85(4), 331-4. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(99\)00104-1](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(99)00104-1).
- Venturini, M. C., Bacigalupe, D., Venturini, L., Rambeaud, M., Basso, W., Unzaga, J. M., & Perfumo, C. J. (2004). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in sows from slaughterhouses and in pigs from an indoor and an outdoor farm in Argentina. *Veterinary Parasitology*, 124(3-4), 161-165. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.07.003>.
- Winter, M., Bernardo Alonso, A. M., Birochio, D., Fariña, F., Moré, G., Pardini, L., Ribicich, M., Pasqualetti, M., Castillo, M., Ercole, M., Venturini, M. C., Corominas, M. J., Perera, N., Veneroni, R., Mancini, S., & Abate, S. (2019). *Toxoplasma gondii* and *Trichinella* infections in wild boars (*Sus scrofa*) from the northeastern Patagonia, Argentina. *Preventive Veterinary Medicine*, 168, 75-80. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.04.014>.
- Weiss, L. M., & Kim, K. (2014). *Toxoplasma gondii* The Model Apicomplexan: Perspectives and Methods, First Edition. ELSEVIER, Ed., United Kingdom, 1085 p.