



UNIVERSIDAD DE CUENCA

**Facultad de Ciencias Agropecuarias**

**Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

Análisis epidemiológico de *Toxoplasma gondii* en mamíferos silvestres  
en el Bioparque Amaru del cantón Cuenca

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

**Autora:**

Estefania Carolina Calle Cueva  
CI: 0105247217  
Correo electrónico: tpcalle@gmail.com

**Director:**

Dr. Juan Carlos Ramón Cárdenas  
CI: 0103611604

**Cuenca - Ecuador**

7 de abril de 2022



## RESUMEN

*Toxoplasma gondii* (*T.gondii*) es un protozoo que infecta un gran número de animales de sangre caliente, es el causante de la Toxoplasmosis, una zoonosis de distribución mundial. El presente estudio analizó la seropositividad de *T. gondii* con sueros sanguíneos de 58 mamíferos del Bioparque Amaru de la ciudad de Cuenca-Ecuador, en una muestra estratificada de tres órdenes: Carnívora, Artiodáctila y Primate. Para ello se empleó el kit de ELISA Toxoplasmosis Indirect Multi-species, que utiliza el antígeno p30 y el conjugado anti-multi-especie IgG-HRP. Se obtuvo una seropositividad en 41 animales (70,68%), de los cuales a la orden Carnívora corresponde el 36,21%, a los primates 18,96% y a los artiodáctilos 15,51%. El estudio se realizó de forma triplicada. También se determinó que el mayor riesgo de infección lo tendrían los carnívoros debido a su tipo de alimentación, lo que puede estar relacionado con la existencia de quistes tisulares con bradizoitos en la carne, aunque los herbívoros y frugívoros también pueden infectarse por la contaminación del suelo con los ooquistes esporulados de *T. gondii* excretados por el hospedero definitivo, que pueden sobrevivir largos períodos en el suelo y hasta en las frutas y verduras. Otro factor de riesgo sería el tiempo de permanencia en el Bioparque. Adicionalmente, el ingreso de animales rescatados desde las regiones Costa y Oriente serían posibles factores de riesgo para la infección con *T. gondii*.

**Palabras clave:** *T. gondii*. ELISA. IgG. Carnívora. Artiodáctila. Primate.



## ABSTRACT

*Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) is a protozoan that infects many warm-blooded animals, causing Toxoplasmosis, a zoonosis with worldwide distribution. The aim of this study was to determine seropositivity of *T. gondii* in serum of 58 mammals from Amaru Biopark in the city of Cuenca-Ecuador, in a stratified sample of three orders: Carnivora, Artiodactyla and Primates. For this purpose, the Toxoplasmosis Indirect ELISA Multi-species kit was used, which uses the p30 antigen and the anti-multi-species IgG-HRP conjugate. Seropositivity was obtained in 41 animals (70,68%), of which the 36,21% corresponded to carnivores, 18,96% to primates, and 15,51% to artiodactyls. Three repetitions of the test were carried out. It was also determined that carnivores have the highest risk of infection - perhaps due to their type of diet - which may be related to the existence of tissue cysts with bradyzoites in the meat, although herbivores and frugivores can also be infected by soil contamination with sporulated oocysts of *T. gondii* excreted by the definitive host, which can survive long periods in the soil and even in fruits and vegetables. Another risk factor is the time spent in the Biopark. The entry of rescued animals from the Costa and Oriente regions are possible risk factors associated to infection with *T. gondii*.

**Keywords:** *T. gondii*. ELISA. IgG. Carnivora. Artiodactyla. Primates.



## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN .....	2
ABSTRACT .....	3
TABLA DE CONTENIDO .....	4
ÍNDICE DE TABLAS .....	6
ÍNDICE DE FIGURAS .....	7
CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL .....	8
CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL .....	9
AGRADECIMIENTOS .....	10
DEDICATORIA .....	11
INTRODUCCIÓN .....	12
CAPÍTULO 1. OBJETIVOS .....	15
Objetivo general .....	15
Objetivos específicos .....	15
Hipótesis .....	15
CAPÍTULO 2. REVISIÓN DE LITERATURA .....	16
2.1 Antecedentes .....	16
2.2 Taxonomía .....	16
2.3 Ciclo Biológico.....	17
2.4 Características .....	18
2.5 Microbiología .....	18
2.6 Epidemiología .....	19
2.7 Patogenia .....	20
2.8 Respuesta Inmunológica .....	21
2.9 Factores de riesgo .....	23
2.10 Pruebas diagnósticas .....	25
CAPÍTULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	26
3.1 Área de estudio .....	26
3.2 Universo .....	28
3.3 Muestra.....	29
3.4 Materiales .....	33
3.5 Métodos .....	34
3.5.1 Hoja de campo .....	34



3.5.2 Contención y sedación.....	35
3.5.3 Obtención de muestras.....	36
3.5.4 Análisis serológico .....	37
3.5.5 Procesamiento de datos .....	39
CAPITULO 4. RESULTADOS .....	41
4.1 Análisis de los resultados .....	41
CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN .....	51
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	55
6.1 Conclusiones .....	55
6.2 Recomendaciones .....	55
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	57
ANEXOS .....	66
Anexo 1. Hoja de campo .....	66
Anexo 2. Resultados de los análisis de suero sanguíneo .....	67
Anexo 3 .Tablas de Odds ratio .....	68
Anexo 4. Fotografías del proceso .....	69
Anexo 5. Permiso de Recolección emitido por Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica del Ecuador.....	72



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Unidades de análisis clasificadas por estratos.....	32
Tabla 2. Tabla de frecuencia de las tres órdenes analizadas.....	33
Tabla 3. Tamaño muestral.....	33
Tabla 4. Seroprevalencia de <i>T. gondii</i> en mamíferos de las órdenes Artiodactyla, Carnívora y Primate en el Bioparque Amaru .....	45
Tabla 5. Prueba Ji cuadrado en relación a orden .....	46
Tabla 6. Seroprevalencia de <i>T. gondii</i> en mamíferos de las órdenes Artiodactyla, Carnívora y Primate en relación al sexo .....	46
Tabla 7. Prueba Ji cuadrado en relación al sexo .....	47
Tabla 8. Seroprevalencia de <i>T. gondii</i> en mamíferos de las órdenes Artiodactyla, Carnívora y Primate según el tiempo de permanencia .....	47
Tabla 9. Prueba Ji cuadrado en relación al tiempo de permanencia en el Bioparque Amaru .....	48
Tabla 10. Seroprevalencia de <i>T. gondii</i> en mamíferos de las órdenes Artiodactyla, Carnívora y Primate del Bioparque Amaru según procedencia de las 3 regiones del país .....	49
Tabla 11. Prueba Ji cuadrado en relación a la procedencia de las 3 regiones del país .....	49



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico de <i>T. gondii</i> .....	17
Figura 2. Transmisión de <i>T. gondii</i> .....	19
Figura 3. Respuesta inmunológica de tipo humoral .....	22
Figura 4. Respuesta inmunológica de tipo celular .....	23
Figura 5. Mapa de la parroquia Paccha .....	26
Figura 6. Plano del Bioparque Amaru .....	28
Figura 7. Gráfico de porcentaje de mamíferos del Bioparque Amaru por órdenes .....	29
Figura 8. Gráfico dot-plot de lectura de densidades ópticas del ensayo de ELISA del orden Artiodactyla .....	41
Figura 9. Gráfico dot-plot de lectura de densidades ópticas del ensayo de ELISA del orden Carnívora .....	42
Figura 10. Gráfico dot-plot de lectura de densidades ópticas del ensayo de ELISA del orden Primate .....	43



**Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio  
Institucional**

---

Estefania Carolina Calle Cueva, en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Análisis epidemiológico de *Toxoplasma gondii* en mamíferos silvestres en el Bioparque Amaru del cantón Cuenca", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

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

Cuenca, 7 de abril de 2022

Estefania Carolina Calle Cueva

C.I: 010524721-7



### Cláusula de Propiedad Intelectual

---

Estefania Carolina Calle Cueva autora del trabajo de titulación "Análisis epidemiológico de *Toxoplasma gondii* en mamíferos silvestres en el Bioparque Amaru del cantón Cuenca", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 7 de abril de 2022

Estefania Carolina Calle Cueva

C.I: 010524721-7



## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia y amigos cercanos, por su fe en mí y apoyo incondicional para poder terminar este largo camino de aprendizaje.

A la Tribu de Bioparque Amaru, Blgo. Ernesto Arbeláez quien hizo posible este gran estudio, mi colega y amiga Blga. Ximena Cevallos, quien me apoyo en cada proceso y profesionales en general por su apoyo invaluable en este proyecto. Al Dr. Diego Medina, Dr. Andrés Ortega y estudiantes de la UTE por su buena voluntad y colaboración. A las MVZ. Paola Cañar y Noemí Torres por sus consejos y asesoría a lo largo de este camino.

A los profesores de la Facultad de Ciencias Agropecuarias en particular a mi director de tesis Dr. Juan Carlos Ramón y delegados, por depositar su confianza en mí y brindarme su apoyo durante el transcurso de mi carrera y especialmente este trabajo de titulación.

Al Blgo. Fernando Juela y MAATE por su asesoría y permitirme realizar esta investigación en fauna silvestre.

De manera muy especial a Flora N., Diana R., y Pablo B., por haberme dado el impulso necesario para continuar cuando este proyecto parecía demasiado grande y difícil, estoy muy agradecida con ustedes por apoyarme siempre.

De todo corazón, gracias.

Estefania Calle



## DEDICATORIA

Esta tesis la dedico a mi madre, por nunca haber dudado de mi potencial y apoyarme en cada paso. A mi abuela Jessy P., por tenerme tanta paciencia y ser la fuerza motora detrás de mi carrera universitaria y de este proyecto.

A mi tía Michelle, quien a más de ser un ejemplo de resiliencia, es la razón de haber elegido esta profesión y ser motivo de inspiración. A mi tío Numa, por motivarme día a día a continuar con mis estudios y llenarme de orgullo con cada uno de sus logros. Espero algún día poder llenarlos de orgullo a ustedes.

Finalmente, a todos los animales del Bioparque Amaru, en particular las aves rapaces, mi trabajo está dedicado a ustedes, son mi razón de continuar en esta noble labor.

Estefania Calle



## INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es un importante problema de salud pública en todo el mundo, estimándose en más de un billón los individuos afectados a nivel mundial, así como más de 300 especies de mamíferos domésticos y silvestres, y cerca de 30 especies de aves de corral y vida libre. La población humana adulta presenta entre el 20 y el 70% de evidencia serológica por infección previa con el parásito (Dubey, 2010).

En América Latina la infección se encuentra ampliamente distribuida, principalmente en países de clima caliente y húmedo (Dubey, 2010). En América Latina y África se han reportado prevalencias alarmantemente altas entre el 50% y 80% de toxoplasmosis en la población y en el Ecuador se reportaron 7.682 casos de toxoplasmosis humana, de los cuales el 72,7% fueron mujeres (Simancas Racines, 2019).

Estudios serológicos han demostrado una alta prevalencia de anticuerpos anti-*T. gondii* en animales silvestres en cautiverio, lo cual indica que los parques zoológicos representan un ecosistema favorable para la transmisión y diseminación del parásito (de Camps *et al.*, 2008).

Otro factor de riesgo importante es el tipo de alimentación, los carnívoros pueden infectarse al ingerir carne con presencia de quistes tisulares, mientras los herbívoros y frugívoros pueden infectarse por la contaminación del suelo con los ooquistes esporulados de *T. gondii* excretados por el hospedero definitivo, que en



condiciones favorables de temperatura y humedad pueden sobrevivir hasta 18 meses (Hill & Dubey, 2014). Como infección mecánica podemos mencionar también al consumo de artrópodos e insectos que también están infectados de *T. gondii*, en el caso de insectívoros (Bártová *et al.*, 2018).

Por ser un agente altamente patógeno de gran importancia médica y veterinaria, con diversas consecuencias, una morbilidad y mortalidad variables en función de las especies, la edad y el estado inmunológico (Dubey, 2002), responsable de muchas muertes en especies sensibles presentes en colecciones zoológicas, y debido a que muchas de estas especies cursan con una infección sin signología clínica (de Camps *et al.*, 2008), es indispensable la realización de un estudio serológico, que es la única forma de evaluar el alcance de la contaminación.

Las enfermedades de origen animal a las que el hombre es sensible, representan riesgos mundiales para la salud pública y pueden causar graves crisis sanitarias que se acentúan con la globalización y los cambios climáticos, y considerando que la salud humana y animal son interdependientes y están ligadas a la salud de los ecosistemas en los que existen, el control de todos los patógenos zoonóticos (transmisibles del animal al hombre y viceversa) en su origen animal, es la solución más eficaz y más económica para proteger la salud humana y animal (incluidos los animales domésticos y la vida silvestre) y la salud del ecosistema en su conjunto (PAHO, 2021).

En los zoológicos es importante la detección de la presencia de *T. gondii*, así como la implementación de un sistema de vigilancia epidemiológica, puesto que esta



zoonosis no solo afecta a la conservación de especies en peligro de extinción, sino también al personal que trabaja en el manejo de la fauna bajo su cuidado, e incluso a visitantes pertenecientes al grupo de riesgo como son las mujeres embarazadas, niños, ancianos e individuos inmunodeprimidos (Stidworthy, 2009), por lo que con este trabajo se pretende determinar la seropositividad a *T. gondii* en los mamíferos silvestres bajo cuidado humano en el Bioparque *Amaru* de la ciudad de Cuenca, mediante una evaluación epidemiológica que facilite una oportuna evaluación de riesgo.

Los estudios realizados en fauna silvestre en Ecuador deben contar con el permiso de investigación y recolección de material biológico, otorgado por el Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica, en el caso de la presente investigación se otorgó el permiso número MAAE-ARSFC-2021-1097 (Anexo 5).



## CAPÍTULO 1

### OBJETIVOS

#### Objetivo general

Determinar la frecuencia de anticuerpos a *T. gondii* en mamíferos silvestres mantenidos bajo cuidado humano en el Bioparque *Amaru* de la ciudad de Cuenca.

#### Objetivos específicos

- Detectar anticuerpos a *T. gondii* mediante prueba de ELISA.
- Determinar la frecuencia de seropositividad por estrato.
- Comparar la frecuencia de seropositividad entre estratos.

#### Hipótesis

Existe seropositividad de anticuerpos a *T. gondii* en mamíferos silvestres mantenidos bajo cuidado humano en el Bioparque *Amaru* del cantón Cuenca.



## CAPÍTULO 2

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1 Antecedentes

La toxoplasmosis es una de las parasitosis zoonóticas prevalente en humanos, es causada por un parásito coccidiano *T. gondii*. Su hospedero definitivo son los felinos que constituyen el principal reservorio, siendo los mamíferos los más susceptibles a esta enfermedad. Este parásito infecta aproximadamente a un tercio de la población mundial y su seroprevalencia depende de diferencias ambientales, socioeconómicas y culturales, por lo que es considerado una amenaza potencial para la salud humana (Dubey, 2010).

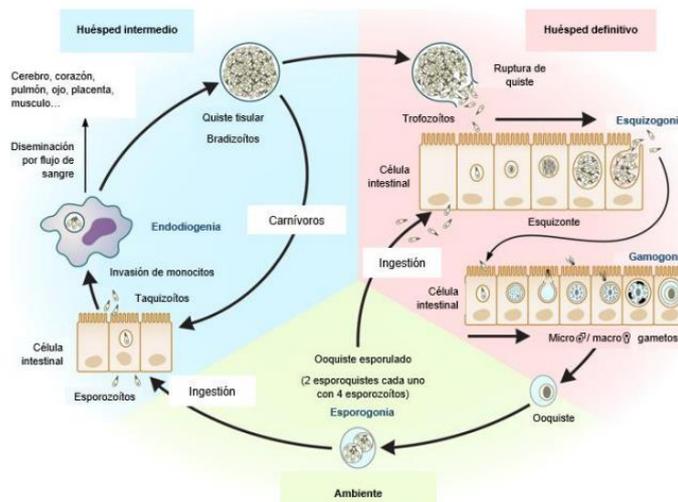
El protozoo *T. gondii*, parásito intracelular obligado que puede albergarse en diferentes órganos y tejidos del individuo infectado, posee un amplio intervalo de hospederos intermediarios, infectando a la mayoría de las especies de sangre caliente, incluido el ser humano, por lo que es considerada una zoonosis, pero el ciclo de vida se completa solo en felinos, quienes son los únicos que pueden arrojar la etapa ambientalmente resistente del parásito (ooquistes) en sus heces (Dubey, 2010).

#### 2.2 Taxonomía

*T. gondii* pertenece al Phylum *Apicomplexa*, Clase *Sporozoea*, Subclase *Coccidia*, Orden *Eucoccidida*, Suborden *Eimeriina*, Familia *Sarcocystidae*, Subfamilia *Toxoplasmatinae* y Género *Toxoplasma*. *T. gondii* es la única especie de *Toxoplasma* (Petersen & Dubey, 2001).

## 2.3 Ciclo Biológico

El ciclo vital de *T. gondii* (Figura 1) consiste en dos fases: asexual y sexual. La fase asexual (extra entérica) se lleva a cabo en los hospedadores intermediarios (mamíferos y humanos), las formas reproductivas se denominan taquizoítos, que se multiplican dentro de la célula hasta romper la membrana plasmática y son liberados al torrente sanguíneo, diseminándose por todo el cuerpo; la transformación de taquizoítos a bradizoítos es el paso de fase aguda a infección crónica, en la que los *quistes* se forman en los nervios, cerebro, hueso, músculo y miocardio y pueden mantenerse inactivos en el cuerpo por un largo tiempo. La fase sexual (entérica) se da cuando el felino ingiere ooquistes o quistes tisulares contenidos en presas infectadas, y posteriormente los elimina al ambiente en sus excrementos. En condiciones ambientales favorables los ooquistes pueden esporular en un período de tres semanas, contaminando el agua, suelo, frutas y vegetación (Dubey, 2010).



**Figura 1.** Ciclo biológico de *T. gondii* en hospederos intermedios y definitivos.

**Fuente:** Gangneux & Dardé, 2012.



## 2.4 Características

Los ooquistes de *T. gondii* requieren 48 horas para volverse infecciosos y pueden permanecer viables en el medio ambiente durante meses y hasta 1 año en agua o suelo húmedo. Los taquizoítos pueden sobrevivir en fluidos corporales hasta un día, en sangre completa a 4°C hasta 50 días y los quistes de tejido pueden sobrevivir durante semanas a temperatura ambiente en fluidos corporales. Los ooquistes se inactivan a temperaturas > 66°C, los quistes de tejido se inactivan a 0°C. Los ooquistes encontrados en el agua pueden eliminarse por ebullición o filtración (filtro absoluto de 1 µm) pero son resistentes a la cloración. La tintura de Yodo (2%) puede inactivar *T. gondii* con un tiempo de exposición prolongado de al menos 3 horas. Los taquizoitos se inactivan a pH < 4.0. Los ooquistes son susceptibles al Yodo y la Formalina, pero resistentes a la mayoría de los desinfectantes; los taquizoitos y los quistes de tejido son susceptibles a la mayoría de los desinfectantes; 70% de Etanol, 1% de Hipoclorito de sodio; además, los quistes no sobreviven en solución de NaCl >6% (Bucko & Gieger, 2019; Spickler, 2017).

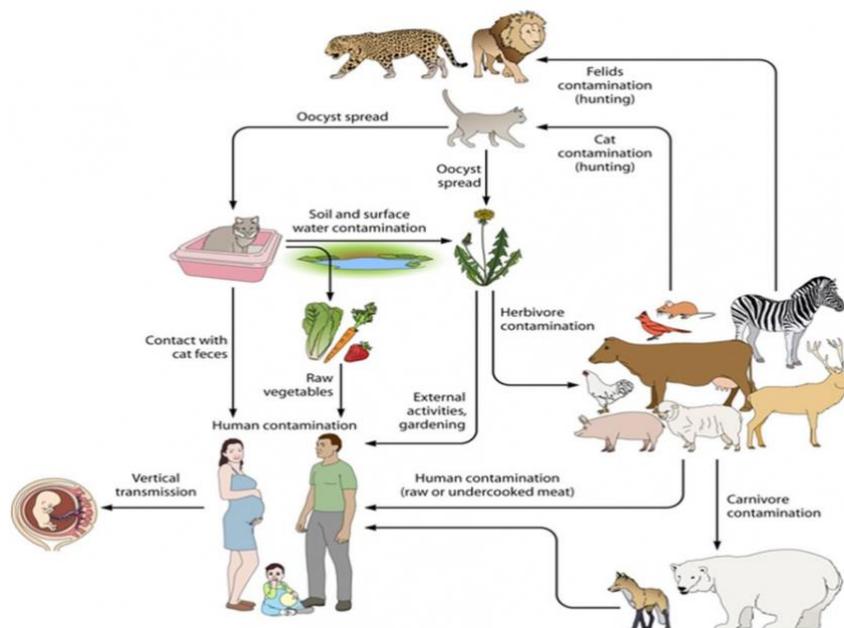
## 2.5 Microbiología

En América del Sur existe una gran diversidad genética de *T. gondii*, diversidad dada principalmente por las variaciones observadas en su infectividad y virulencia entre las diferentes cepas (Mimica *et al.*, 2015). Las cepas de *T. gondii* se clasifican en tres tipos: cepas tipo I que son las más virulentas, cepa tipo II adecuadas para establecer modelos murinos de infección crónica en los que se requiera gran cantidad de quistes tisulares y cepa tipo III corresponden a cepas menos virulentas; en humanos estas cepas frecuentemente se aíslan de casos congénitos y de

individuos inmunodeficientes con episodios de reactivación. No obstante, todas las cepas pueden infectar a los humanos (Giraldo, 2008).

## 2.6 Epidemiología

Los modos de transmisión más relevantes en humanos son (Figura 2): vía congénita (transmisión vertical), ingestión de alimentos infectados, agua contaminada o consumo accidental del parásito al manipular los suelos (herramientas contaminadas), por medio de trasplante de órganos y transfusiones infectadas con *T. gondii* (Mimica *et al.*, 2015).



**Figura 2.** Transmisión de *T. gondii*.

**Fuente:** Gangneux & Dardé, 2012.

Esta enfermedad cursa por dos fases: *aguda* y *crónica* y las mayores categorías de la infección son: 1) Toxoplasmosis adquirida en individuos inmunocompetentes,



2) Toxoplasmosis congénita, 3) Toxoplasmosis ocular, y 4) Toxoplasmosis cerebral la cual usualmente se da en individuos inmunodeprimidos (Halonen & Weiss, 2014).

En sujetos con sistema inmune no comprometido, la primo infección se presentará en 90% de ellos, en forma asintomática y en el 10% restante, de forma sintomática. En estos individuos la infección puede provocar alteraciones del sistema nervioso, neumonía y hepatitis (Mimica *et al.*, 2015).

La toxoplasmosis congénita tiene lugar cuando la madre adquiere la infección por primera vez durante la gestación, el parásito atraviesa la placenta y alcanza al feto. También se han reportado casos de toxoplasmosis congénita a partir de madres infectadas hasta 3 meses antes de la concepción. Esta infección se asocia con mayor riesgo de aborto, muerte fetal y parto prematuro (Giraldo, 2008; Velásquez Serra *et al.*, 2020).

La toxoplasmosis ocular presenta lesiones oculares como la coriorretinitis, que a menudo se acompaña de diversos grados de reacción inflamatoria vítrea, con muchas probabilidades de reaparecer (Spickler, 2017).

## **2.7 Patogenia**

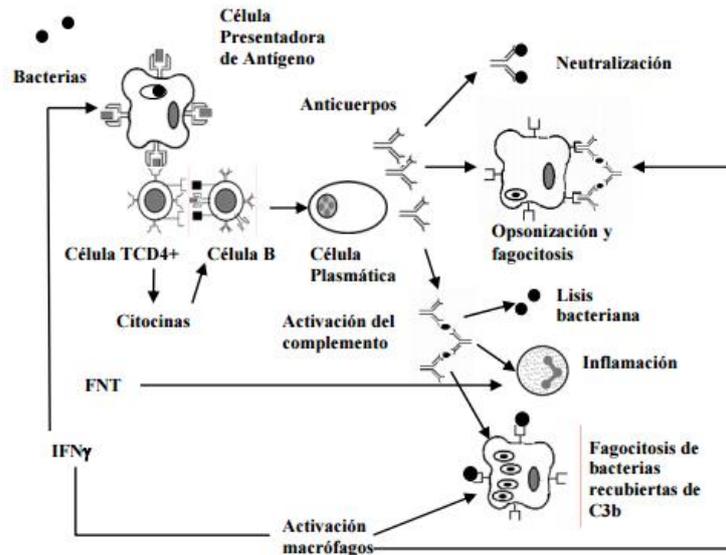
*T. gondii* es un parásito intracelular capaz de infectar una amplia variedad de células nucleadas; el tamaño del inóculo, la virulencia de la cepa y el estado inmune del individuo son algunos de los factores que influyen en el curso de la infección. La replicación parasitaria se mantiene hasta cuando la membrana plasmática de la



célula hospedera se lisa a causa de la tensión creciente que generan los taquizoitos, los parásitos libres comienzan un nuevo ciclo de invasión y replicación en las células adyacentes. La evolución de la infección aguda depende de la respuesta inmune del paciente (Grandía *et al.*, 2013).

## **2.8 Respuesta inmunológica**

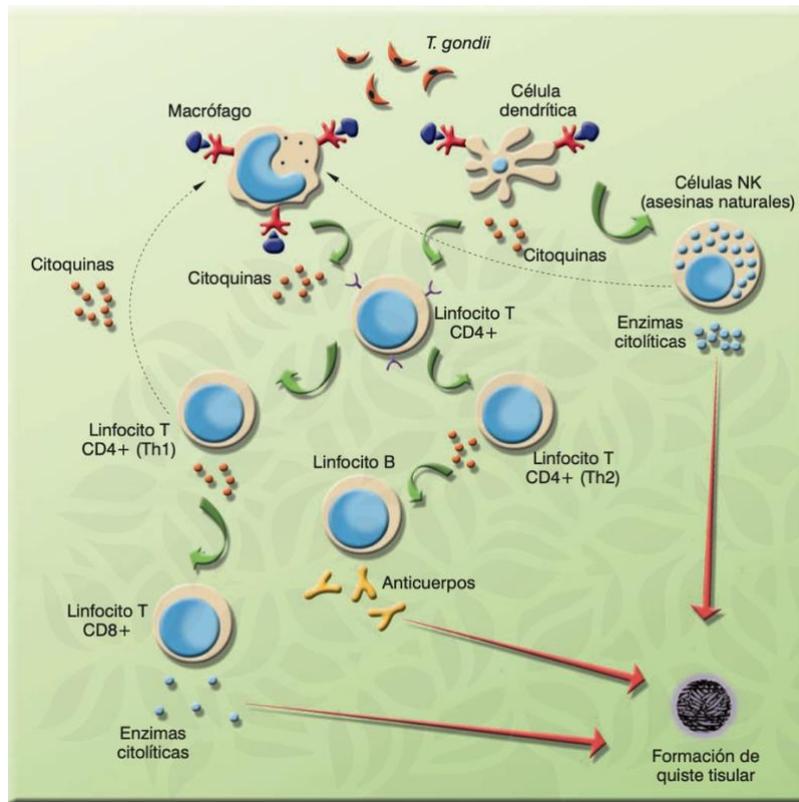
Existe respuesta inmunológica hacia *T. gondii* tanto de tipo humoral como celular. Durante la respuesta humoral (Figura 3), el parásito induce rápidamente niveles detectables de anticuerpos de tipo IgM e IgG en el suero. Los IgM antitoxoplasma se encuentran al inicio de la infección, aparecen en la sangre a las 1 o 2 semanas, alcanzando su pico más elevado al mes de la exposición y desaparecen después de varios meses, y los anticuerpos IgG antitoxoplasma aparecen dos a tres semanas después de la infección primaria, alcanzan concentración máxima a los dos o tres meses y permanecen a lo largo de toda la vida del animal (Becerril, 2014).



**Figura 3.** Respuesta inmunológica de tipo humoral ante infestación parasitaria.

**Fuente:** Ochoa Azze, 2008.

En la inmunidad celular (Figura 4), intervienen células asesinas naturales (NK), macrófagos, interleucinas (IL-12), interferón gamma (ITF) y los linfocitos T CD4+ y CD8+ siendo estos últimos, esenciales para la protección contra *T. gondii*. El ITF estimula la activación de los macrófagos que eliminan taquizoítos intracelulares permitiendo la unión lisosoma-fagosoma, a su vez los linfocitos T CD8+ eliminan los taquizoítos y las células infectadas por el parásito (Becerril, 2014).



**Figura 4.** Respuesta inmunológica de tipo celular ante una infestación de *T. gondii*.

**Fuente:** Giraldo, 2008.

## 2.9 Factores de riesgo

Las infecciones por *T. gondii* en felinos silvestres en cautiverio han demostrado una alta prevalencia debido a la difusión del parásito en ese entorno (Jones & Dubey, 2010), pues ellos pueden eliminar ooquistes a través de sus heces, que logran sobrevivir en el suelo por meses e incluso años y que a su vez pueden ser transportados mecánicamente por moscas, cucarachas, y escarabajos estercoleros, o incluso a través del material de limpieza o la vestimenta de los trabajadores del zoológico, permitiendo la diseminación de ooquistes en el medio



ambiente, lo cual puede presentar un riesgo para los animales de los zoológicos, principalmente a especies como canarios, marsupiales y primates del nuevo mundo que pueden desarrollar toxoplasmosis clínica (Navarro *et al.*, 2015).

Otro factor de riesgo podría ser la introducción de felinos silvestres en el grupo, la depredación de aves y pequeños roedores, la ingestión de carne cruda de caballos, porcinos, ciervos, conejos, carne de res y fetos bovinos (Ramos Silva *et al.*, 2007).

En estudios realizados en zoológicos de Brasil, se observaron como factores de riesgo para la infección de *T. gondii*, la alimentación de animales adultos mayores a 3 años con carne cruda congelada por menos de siete días y se determinó que los animales capturados son tres veces más susceptibles a la infección que los nacidos en cautiverio (Cañón-Franco *et al.*, 2013; Ramos Silva *et al.*, 2007; Ullmann *et al.*, 2010).

La depredación de hospedadores intermediarios es fundamental en la transmisión de *T. gondii*, por lo que la presencia de aves y roedores que suelen ser parte de la dieta de felinos silvestres de tamaño pequeño y mediano influye como factor de riesgo en estos animales (Rendón-Franco *et al.*, 2014).

Especialmente los roedores, en donde se ha demostrado que la infección con *T. gondii* altera la percepción del roedor hacia la orina de los felinos, mostrando una atracción hacia ésta y facilitando la depredación por parte del felino (Kaushik, Knowles, & Webster, 2014).



## **2.10 Pruebas diagnósticas**

Entre los métodos directos se encuentra la histopatología, exámenes coproparasitarios, cultivo y aislamiento celular. Entre los métodos indirectos tenemos las pruebas serológicas como la prueba de aglutinación modificada (MAT), Inmunofluorescencia indirecta, Prueba de aglutinación directa, Hemoaglutinación indirecta (HAI), y Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) (OIE, 2018).

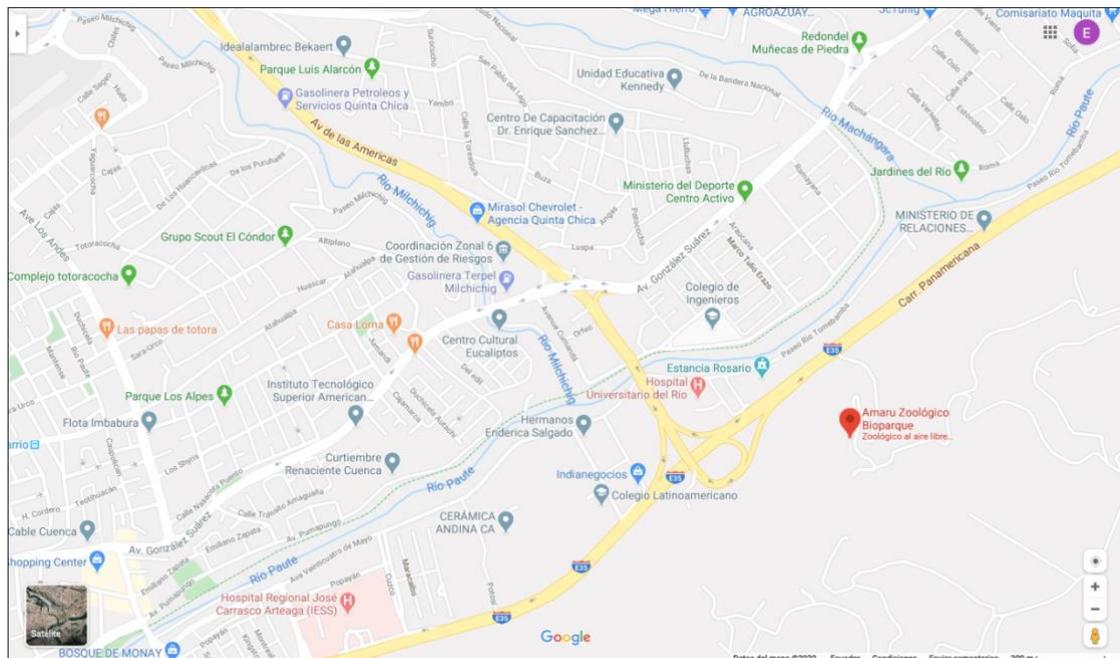
En este estudio se utilizó una prueba diagnóstica de inmunoensayo enzimático (ELISA) que detecta los anticuerpos IgM y es suficientemente sensible, específica y de fácil aplicación que permite diferenciar las infecciones crónicas de las agudas y es un método idóneo para determinar la prevalencia de la infección (OIE, 2018).

## CAPÍTULO 3

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Área de estudio

El presente trabajo de investigación se realizó en el Bioparque Amaru del cantón Cuenca, parroquia Paccha (Figura 5), que se encuentra ubicada a 11 km de la ciudad de Cuenca, conectada por la Autopista Cuenca-Azogues, en las coordenadas: 2,894023° S, 78,956901° O. Tiene una altitud mínima de 2.460 msnm y una máxima de 3.060, con una temperatura promedio de 15,6°C y una precipitación promedio de 829,9 mm anual.



**Figura 5.** Ubicación del Bioparque Amaru en la parroquia Paccha.

**Fuente:** Google maps.



Según datos obtenidos por el Plan de Ordenamiento Territorial de la Ilustre Municipalidad de Cuenca 2021, el uso del suelo corresponde en su mayoría a vegetación nativa del valle interandino de Cuenca-Azogues y áreas naturales protegidas, seguido de áreas destinadas a la agricultura, cultivos de ciclo corto, pastos, áreas de recuperación natural, entre otros. Los bosques ocupan el 52,8% del área total de la parroquia, con el mayor porcentaje de este ocupado por matorrales nativos densos y vegetación nativa. La fragmentación de los bosques producida por el aumento de la frontera agrícola, ha influenciado para que los refugios de los animales disminuyan. Esta parroquia no tiene áreas de páramo, razón por la que los cursos superficiales son escasos. El abastecimiento de agua para consumo humano y riego, en algunos casos, proviene de fuentes subsuperficiales o conducen agua desde otras parroquias.

Paccha cuenta con una población de 6.467 habitantes y su principal actividad comercial es la agricultura y crianza de animales pequeños, aunque la mayor parte de la producción está destinada al autoconsumo.

El Bioparque Amaru tiene una superficie de 6,25 hectáreas. y actualmente cuenta con una población de alrededor de 1.500 animales silvestres entre mamíferos, aves, reptiles y anfibios, ubicados en cinco bioregiones: Región Andina, Bosque Seco, Amazonía, Islas Encantadas y África Salvaje. La población de mamíferos es de 122, ubicados en las cuatro bioregiones según su procedencia (Figura 6) (Bioparque Amaru, 2022).

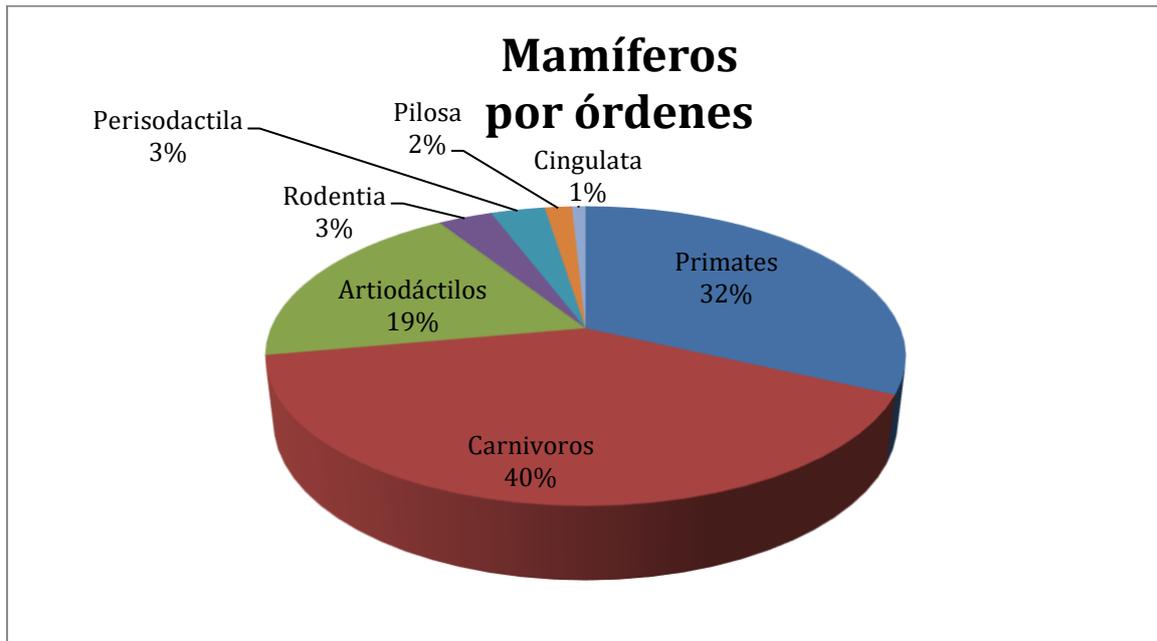


Figura 6. Plano del Bioparque Amaru con sus bioregiones.

Fuente: Bioparque Amaru (2022).

### 3.2 Universo

El Bioparque Amaru mantiene en sus instalaciones 122 mamíferos, todos ellos provenientes de rescates, donaciones o confiscaciones realizados en diversas regiones del país.



**Figura 7.** Gráfico de porcentaje de mamíferos del Bioparque Amaru expresado por órdenes.

**Fuente:** Elaboración propia.

### 3.3 Muestra

Los 122 mamíferos pertenecen a 7 órdenes, de los cuales el porcentaje más significativo lo constituyen los Carnívoros, Primates y Artiodáctilos (Figura 7), por lo que la muestra consideró 111 animales divididos en 3 estratos clasificados por el orden taxonómico al que pertenece cada individuo (Carnívoros, Primates y Artiodáctilos) (Tabla 1).

Cálculo muestral para proporciones al 90% de Intervalo de confianza (IC)

$$n = \frac{z^2 * p * q}{d^2}$$
$$n = \frac{1,645^2 * 0,674 * 0,3236}{0,1^2}$$



$$n = 59,45786$$

Donde  $n$  = muestra total,  $z$  = punto crítico para el 90% IC,  $d$  = precisión,  $p$  = proporción esperada de positivos,  $q$  = proporción esperada de negativos

Por tratarse de fauna silvestre, la extracción de sangre depende de varios factores, incluyendo los protocolos de seguridad establecidos tanto por el Bioparque como por el MAATE, por lo que se escogió el muestreo estratificado proporcional (Tabla 2), que nos permite obtener una información más útil y específica. Con este tipo de muestreo, la toma de muestras debió realizarse en 60 individuos (Tabla 3).

**Tabla 1.** Unidades de análisis clasificadas por estratos

Orden	Nombre científico	Nombre común
<b>Artiodactyla</b>	<i>Pecari tajacu</i>	Pecarí de collar
	<i>Tayassu pecari</i>	Pecarí de labio blanco
	<i>Lama glama</i>	Llama
<b>Carnívora</b>	<i>Potos flavus</i>	Cusumbo
	<i>Galictis vittata</i>	Grisón
	<i>Panthera onca</i>	Jaguar
	<i>Panthera leo</i>	León africano
	<i>Lycalopex culpaeus</i>	Lobo de páramo
	<i>Leopardus pardalis</i>	Ocelote
	<i>Tremarctos ornatus</i>	Oso de anteojos
	<i>Nasua nasua</i>	Cuchucho amazónico
	<i>Puma concolor</i>	Pumas
	<i>Eira barbara</i>	Tayra
<b>Primate</b>	<i>Ateles belzebuth</i>	Mono araña común
	<i>Ateles fusciceps</i>	Mono araña de cabeza negra
	<i>Lagothrix lagotricha</i>	Mono chorongó
	<i>Cebus albifrons*</i>	Mono capuchino
	<i>Sapajus macrocephalus</i>	Mono capuchino negro
	<i>Saimiri sciureus</i>	Mono ardilla

**Fuente:** Elaboración propia.

**Tabla 2.** *Tabla de frecuencia de las tres órdenes analizadas*

<b>Orden</b>	<b>fi</b>	<b>Fi</b>	<b>ni</b>	<b>Ni</b>	<b>Porcentaje</b>
Carnívoros	49	49	0,40	0,40	44,14
Primates	39	88	0,31	0,71	35,14
Artiodáctilos	23	111	0,18	0,89	20,72
<b>TOTAL</b>	<b>111</b>		<b>0,89</b>		<b>100,00</b>

fi = frecuencia absoluta, Fi = frecuencia absoluta acumulada, ni = frecuencia relativa, Ni = frecuencia relativa acumulada.

**Fuente:** Elaboración propia.

**Tabla 3.** *Tamaño muestral*

<b>Estrato</b>	<b>Población</b>	<b>Proporción</b>	<b>Muestra proporcional</b>
Carnívoros	49	44,00%	26
Primates	39	36,00%	22
Artiodáctilos	23	20,00%	12

**Fuente:** Elaboración propia.



## Intervalo de confianza

$$\bar{x} \pm 1.645 \left[ \frac{\alpha}{\sqrt{n}} \right]$$

Se calculó el intervalo de confianza con un nivel de confianza del 90% y un tamaño de muestra de 60, dando como resultado 18,51: 21,49.

### 3.4 Materiales

Para la determinación de la seroprevalencia a *T. gondii* en dichos animales, se obtuvieron muestras de sangre únicamente de mamíferos de las cuatro bioregiones, basados en la afirmación de algunos investigadores de que el toxoplasma afecta a animales de sangre caliente, de los cuales los más susceptibles son los mamíferos (Bucko & Gieger, 2019; Dubey, 2010).

Para la obtención de las muestras se requirió:

#### Materiales físicos

- Tubos vacutainer (tapón rojo)
- Agujas vacutainer
- Guantes desechables
- Solución antiséptica
- Etiquetas de identificación
- Caja térmica
- Anestésicos Zoletil, Xilacina, Ketamina
- Hoja de campo



- Sevofluorano

### **Materiales de laboratorio**

- Kit de ELISA ID Screen ® TOXOS-MS-2P IDvet
- Lector de placas ELISA
- Centrífuga

### **Materiales biológicos**

- Muestras de sangre

## **3.5 Métodos**

### **3.5.1 Hoja de campo.**

La hoja de campo (Anexo 1) se elaboró en cuatro secciones. La información de la primera sección correspondiente a registro individual, colectó información proveniente de la historia clínica registrada en el Bioparque, en la que constan los siguientes datos: especie, edad, sexo, peso, procedencia, tiempo de permanencia y código de identificación del animal.

En la sección correspondiente a la inmovilización y monitoreo anestésico, se calculó la dosis para contención química de cada individuo, de acuerdo con el peso apuntado en la primera sección. Se anotó el método de contención y una vez sedado el animal se registraron las constantes fisiológicas cada 5-10 minutos.



En la tercera sección correspondiente al examen físico se registró toda la información referente a la biometría del animal, así como los resultados de la inspección a distancia y evaluación física general.

En la sección final, correspondiente a muestreo y laboratorio se anotó información propia de la muestra como cantidad de sangre extraída, cantidad de suero obtenido posterior a la centrifugación, almacenamiento y procesamiento de la muestra. Finalmente se registró el resultado del análisis de ELISA.

### **3.5.2 Contención y sedación.**

El animal debía presentar un período de ayuno entre 12 a 24 horas previas al muestreo (Miller & Fowler, 2014).

Se realizó una contención física con utilización de todo el equipo de bioseguridad a través del uso de redes de manejo en aquellos animales donde su manejo se dificultaba por motivos de agresividad. Posteriormente se realizó una contención química mediante la administración de los anestésicos: Ketamina (3-10 mg/kg), Xilacina (0.3-1 mg/kg), Zoletil (2-5 mg/kg) o sus combinaciones por vía intramuscular en los miembros posteriores, la dosis fue calculada dependiendo del peso y especie de cada animal. En animales cuyo manejo lo permitió, se realizó una contención química mediante anestesia inhalatoria con Sevoflurano, en una cámara de Oxígeno a dosis de inducción 6-8% y mantenimiento 2-5% (Miller & Fowler, 2014).



### 3.5.3 Obtención de muestras.

La muestra de sangre se obtuvo por venopunción, el volumen extraído dependió del comportamiento, tamaño, estado del animal y recomendación del laboratorio.

Estas muestras fueron obtenidas durante procedimientos de medicina preventiva anual.

Por tratarse de fauna silvestre, para la obtención de muestras sanguíneas se tomaron en cuenta varios aspectos: 1. Los protocolos de seguridad del Bioparque, 2. Dificultad en el manejo, 3. Riesgos anestésicos, 4. Estado de salud del animal y 5. Estado de gestación.

#### Toma de muestra sanguínea

Una vez sedado el animal o debidamente sujetado, se procedió a la tricotomía la zona de punción para luego tomar la muestra sanguínea (como mínimo 1 ml) por medio de punción ya sea de la vena cefálica, yugular, safena o femoral, según ameritó el caso, previa antisepsia de la zona con alcohol etílico al 70%. La punción se realizó con jeringas con aguja calibre 21G x 1 ½" y la muestra sanguínea obtenida se almacenó en tubos sin anticoagulante (tapa roja) para su posterior procesamiento (Miller & Fowler, 2014).

Sin embargo, en algunos casos no fue posible obtener el volumen de muestra deseado de cada animal debido a varios factores limitantes como decisión del médico veterinario encargado del centro de no muestrear al animal por motivos de



salud, o dificultad para manejar el animal en donde se ponía en riesgo la vida del individuo y a las personas involucradas en su manejo. Cabe mencionar que 2 de las 60 muestras obtenidas no fueron viables para el análisis de laboratorio debido a una hemolisis imprevista, por lo que el análisis de ELISA se realizó únicamente con 58 muestras.

#### Obtención, almacenamiento y transporte de suero sanguíneo

Una vez obtenida la muestra sanguínea se dejó al ambiente aproximadamente 20 minutos en el laboratorio de Amaru Bioparque Cuenca. Posteriormente se centrifugó a 5.500 revoluciones por minuto (rpm) durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se procedió a extraer el suero mediante pipetas plásticas Pasteur y se almacenó a -20°C en tubos de tapa roja nuevos, hasta su procesamiento.

Las muestras serológicas fueron transportadas en caja térmica, manteniendo una temperatura entre 2 y 8°C, al Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca, donde fueron analizados,

#### **3.5.4 Análisis serológico.**

Para determinar la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* en los sueros, se empleó el kit de ELISA comercial ID Screen® Toxoplasmosis Indirect Multi-species (ID VET®, Montpellier, Francia), que utiliza el antígeno P30 y el conjugado anti-multi-especie IgG-HRP, que permite la detección de anticuerpos en suero, plasma o jugo de carne de músculo de perros, gatos, rumiantes, cerdos y otros mamíferos



(IDvet, 2017) y que tiene una sensibilidad diagnóstica del 95% y una especificidad diagnóstica del 97% (Györke *et al.*, 2011).

El procedimiento comprende la dilución de 10  $\mu$ l del control negativo y positivo en 90  $\mu$ l de diluyente por pocillo (1:10), los cuales se agregaron a 3 pocillos de cada placa utilizada.

En el resto de los pocillos se distribuyeron diluciones 1:10 de las muestras del suero sanguíneo, las que se incubaron 45 minutos ( $\pm$  4) a 25°C ( $\pm$ 5) en una estufa de cultivo.

Posteriormente, cada placa se lavó 3 veces, con aproximadamente 250  $\mu$ l de solución de lavado, para luego agregar 100  $\mu$ l de una dilución 1:10 de un anticuerpo secundario multi-especie conjugado con peroxidasa. Las microplacas, fueron incubadas 30 minutos ( $\pm$  3) a 21°C ( $\pm$ 5), para posteriormente ser lavadas 3 veces con solución de lavado. A continuación, se agregó a cada pocillo 100  $\mu$ l de solución de revelado, el cual se incubó 15 minutos ( $\pm$  2) a 21°C ( $\pm$ 5) en oscuridad. Finalmente, se agregó 100  $\mu$ l de una solución de detención de la reacción a cada pocillo y se leyó en un lector de placas de ELISA (Epoch, Biotek) a una longitud de onda de 450 nm, según las instrucciones incluidas en el kit.

Se realizaron tres análisis de las muestras de suero para confirmar el porcentaje S/P que determina la presencia o ausencia de anticuerpos (Anexo 2).



Para interpretar los resultados se calculó el % S/P mediante la fórmula:

$$\% \frac{S}{P} = \frac{DO_{muestra} - DO_{cp}}{DO_{cp} - DO_{cn}} * 100$$

Donde, DO = Densidad óptica, *cn* = control negativo, *cp* = control positivo. El valor S/P (Sample / Positive control) es la intensidad del cambio de color desarrollado en el suero analizado en comparación con el suero control positivo. Este valor es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos de la enfermedad, contenidos en la muestra.

Si el % S/P para cada muestra resulta inferior o igual a 40% se considera negativo. Si es superior a 40% e inferior a 50% se considera dudoso, y si es superior o igual a 50% se considera positivo.

### **3.5.5 Procesamiento de datos.**

Mediante la prueba de ELISA se identificó la presencia de anticuerpos a *T. gondii*, determinándose el porcentaje de casos positivos. Estos resultados se registraron en una base de datos, que luego se procesaron con el software estadístico SPSS 25.

Por ser un estudio analítico descriptivo de corte transversal, se empleó estadísticos descriptivos: tablas de frecuencia, para determinar los porcentajes de seropositividad de anticuerpos a *T. gondii* en los grupos taxonómicos evaluados en



el Bioparque Amaru. Además, se realizaron comparaciones entre los grupos utilizando las pruebas de diferencia de proporciones, Ji cuadrada, prueba exacta de Fisher y Odds ratio. La diferencia de proporciones sirvió para determinar si la diferencia entre las proporciones de las poblaciones es estadísticamente significativa. Ji cuadrada y prueba exacta de Fisher sirvieron para determinar si existe una asociación entre las variables. Finalmente, Odds ratio comparó el riesgo entre grupos con condiciones de vida similares (Díaz & Wörnberg, 2014).



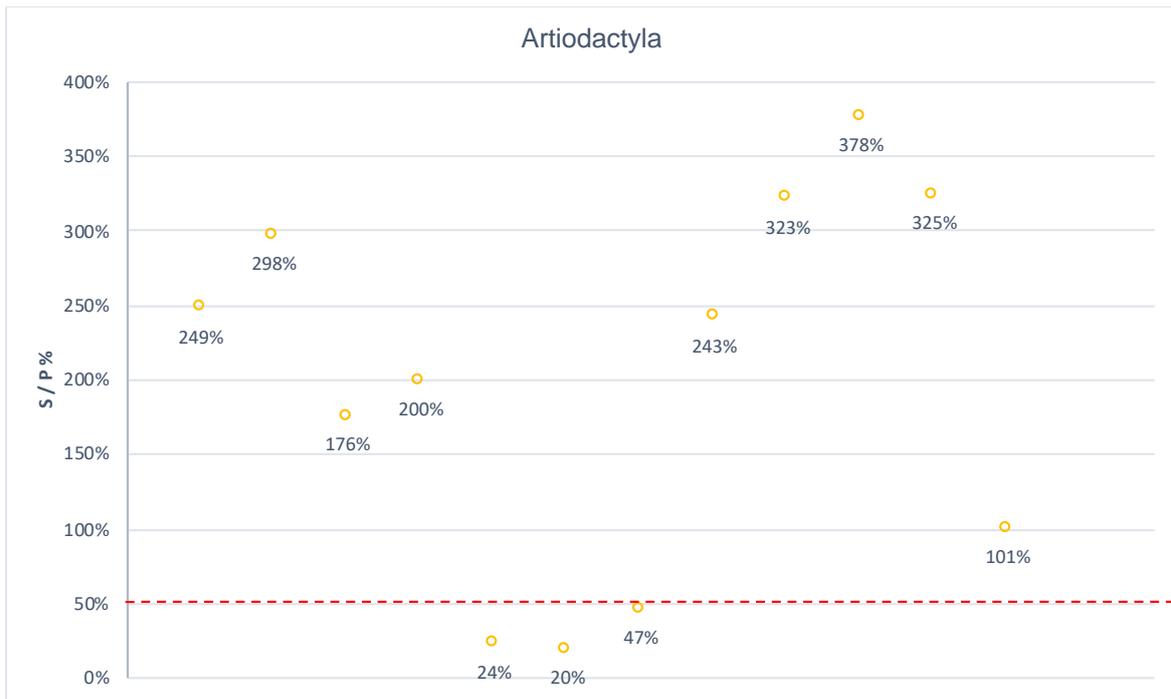
## CAPITULO 4

### RESULTADOS

#### 4.1 Análisis de los resultados

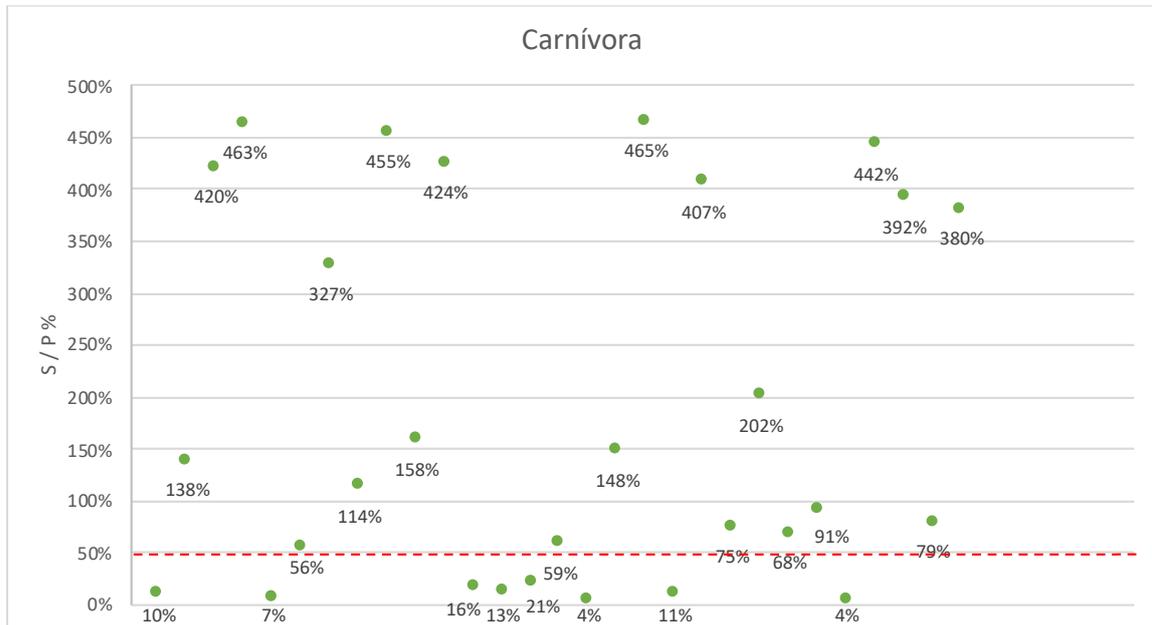
Los resultados de las muestras son expresados de manera descriptiva, como porcentajes de muestras positivas sobre el total de muestras analizadas, para un determinado grupo taxonómico (seroprevalencia). Las seroprevalencias obtenidas son expresadas en tablas, según orden, sexo, tiempo de permanencia y procedencia, siendo considerado estadísticamente significativo un valor de  $p < 0,10$ .

Se realizaron tres análisis de las muestras de suero para confirmar el porcentaje S/P que determina la presencia o ausencia de anticuerpos, las cuales fueron medidas en densidades ópticas a una longitud de onda de 450 nm. El punto de corte (50%) y los resultados por orden se pueden observar en las figuras 8-10.



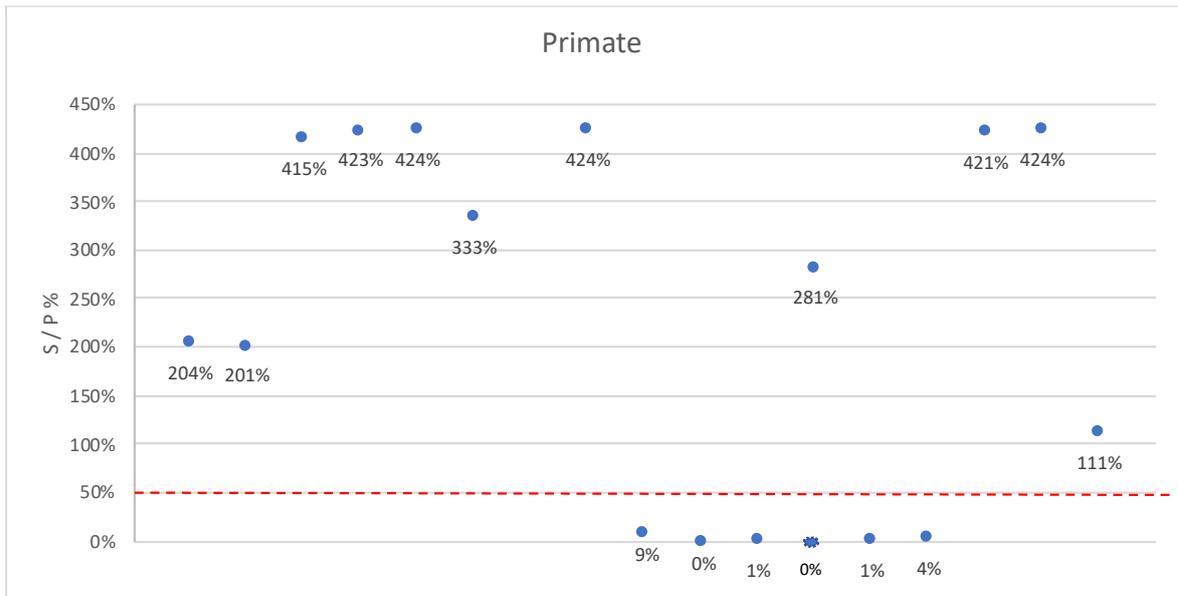
**Figura 8.** Gráfico dot-plot de la lectura de densidades ópticas del Ensayo de ELISA del orden Artiodactyla con su respectivo punto de corte.

**Fuente:** Elaboración propia.



**Figura 9.** Gráfico dot-plot de la lectura de densidades ópticas del Ensayo de ELISA del orden Carnívora con su respectivo punto de corte.

**Fuente:** Elaboración propia.



**Figura 10.** Gráfico dot-plot de la lectura de densidades ópticas del Ensayo de ELISA del orden Primate con su respectivo punto de corte.

**Fuente:** Elaboración propia.

Como se puede observar en la Tabla 4, la seroprevalencia de *T. gondii* en las 58 muestras de mamíferos analizadas en el Bioparque es de 70,68%, de los cuales el 15,51% corresponde al orden Artiodactyla, El orden Carnívora tiene una seroprevalencia de 36,21% y los Primates un 18,96%.



**Tabla 4.** Seroprevalencia de *T. gondii* en mamíferos de los órdenes *Artiodactyla*, *Carnívora* y *Primate* en el Bioparque Amaru.

Orden	Nombre científico	Nombre común	Positivos/Examin.	% por orden	% total			
<b>Artiodactyla</b>			<b>9/12</b>	<b>75,00</b>	<b>15,51</b>			
	<i>Pecari tajacu</i>	Pecarí de collar	5/7					
	<i>Tayassu pecari</i>	Pecarí de labio blanco	0/1					
	<i>Lama glama</i>	Llama	4/4					
<b>Carnívora</b>			<b>21/29</b>	<b>72,41</b>	<b>36,21</b>			
	<i>Potos flavus</i>	Cusumbo	2/3					
	<i>Galictis vittata</i>	Grisón	1/1					
	<i>Panthera onca</i>	Jaguar	2/2					
	<i>Panthera leo</i>	León africano	1/1					
	<i>Lycalopex culpaeus</i>	Lobo de páramo	3/4					
	<i>Leopardus pardalis</i>	Ocelote	1/4					
	<i>Tremarctos ornatus</i>	Oso de anteojos	8/9					
	<i>Nasua nasua</i>	Cuchucho amazónico	0/1					
	<i>Puma concolor</i>	Pumas	3/3					
	<i>Eira barbara</i>	Tayra	0/1					
	<b>Primate</b>					<b>11/17</b>	<b>64,71</b>	<b>18,96</b>
		<i>Ateles belzebuth</i>	Mono araña común			2/2		
<i>Ateles fusciceps</i>		Mono araña de cabeza negra	2/3					
<i>Lagothrix lagotricha</i>		Mono chorongó	0/2					
<i>Cebus albifrons*</i>		Mono capuchino	5/5					
<i>Sapajus macrocephalus</i>		Mono capuchino negro	1/2					
<i>Saimiri sciureus</i>		Mono ardilla	1/3					
<b>TOTAL</b>				<b>41/58</b>		<b>70,68</b>		

\*Incluye individuo de subespecie *C. albifrons aequatorialis*

**Tabla 5. Prueba Ji- cuadrado en relación a orden**

	Valor	Grados de libertad	Significancia asintótica de dos lados	Significancia exacta de dos lados
Ji- cuadrada de Pearson	,443	2	,801	,805
Prueba exacta de Fisher	,503			,805
Número de casos válidos	58			

Según la prueba Ji cuadrado, no existe relación estadísticamente significativa entre la seropositividad con el Orden al que pertenecen los mamíferos ( $p = 0,80$ ), a pesar de que al calcular el Odds ratio mediante comparación entre los órdenes, se observó que el ser carnívoro implica más riesgo de ser seropositivo a *T. gondii* en contraste a los otros órdenes (Anexo 3).

**Tabla 6. Seroprevalencia de *T. gondii* en mamíferos de las órdenes Artiodactyla, Carnívora y Primate en relación al sexo.**

Orden	Hembras positivas/Exam.	Machos positivos/Exam.
Artiodactyla	5/8	4/4
Carnívora	10/14	11/15
Primate	4/5	7/12
<b>TOTAL</b>	<b>19/27</b>	<b>22/31</b>

La Tabla 6 presenta la seroprevalencia de hembras de las 3 órdenes analizadas en un 70,37%, y los machos con un 70,96%, de lo que se deduce una igualdad entre ambos sexos en lo que respecta a la seropositividad a *T. gondii*.

**Tabla 7.** Prueba Ji cuadrado en relación al sexo

	Valor	Grados de libertad	Significancia asintótica de dos lados	Significancia exacta de dos lados
Ji- cuadrada de Pearson	,002	1	,960	1,000
Prueba exacta de Fisher				1,000
Número de casos válidos	58			

Se determina que el sexo del individuo no tiene asociación al estado de seropositividad a *T. gondii* ( $p = 0,96$ ). El Odds ratio indica que el sexo del individuo no implica riesgo de se seropositivo a *T. gondii* (Anexo 3).

**Tabla 8.** Seroprevalencia de *T. gondii* en mamíferos de las órdenes Artiodactyla, Carnívora y Primate según el tiempo de permanencia en el Bioparque Amaru.

Permanencia	Positivos/Exam.	%
0-1 año	3/8	37,50
1-2 años	10/14	71,42
+ 2 años	28/36	77,77

Según los datos de la Tabla 8, el mayor porcentaje de seroprevalencia le corresponde a la permanencia de más de 2 años en el Bioparque (77,77%), seguido



por los que han permanecido de 1 a 2 años (71,42%) y finalmente los que todavía no cumplen 1 año de estadía (37,50%).

**Tabla 9.** Prueba Ji cuadrado en relación al tiempo de permanencia en el Bioparque Amaru.

	Valor	Grados de libertad	Significancia asintótica de dos lados	Significancia exacta de dos lados
Ji- cuadrada de Pearson	5,130	2	,077	,072
Prueba exacta de Fisher	4,746			,088
Número de casos válidos	58			

Al evaluar el tiempo de permanencia en el Bioparque y la seropositividad a *T. gondii*, se encuentra una relación estadísticamente significativa ( $p = 0,07$ ), y el Odds ratio muestra también asociación positiva con el tiempo de permanencia en el Bioparque (Anexo 3). Por lo tanto, el tiempo de permanencia tiene una asociación al estado de seropositividad a *T. gondii*. Indicando que la permanencia de dos años o más en el bioparque implica 2,074 veces mayor riesgo de ser seropositivo a *T. gondii*.

**Tabla 10.** Seroprevalencia de *T. gondii* en mamíferos de las órdenes Artiodactyla, Carnívora y Primate del Bioparque Amaru según procedencia de las 3 regiones del país.

Procedencia	Positivos/Exam.	%
Costa	6/9	66,66
Sierra	25/38	65,78
Oriente	10/11	90,90

Según los datos exhibidos en la Tabla 10, el mayor porcentaje de seroprevalencia corresponde a los individuos que proceden de la región Oriental de nuestro país (90,90%), mientras que los procedentes de la Costa y la Sierra presentan un porcentaje de 66,66% y 65,78%, respectivamente.

**Tabla 11.** Prueba Ji cuadrado en relación a la procedencia de las 3 regiones del país.

	Valor	Grados de libertad	Significancia asintótica de dos lados	Significancia exacta de dos lados
Ji- cuadrada de Pearson	2,681	2	,262	,298
Prueba exacta de Fisher	2,652			,298
Número de casos válidos	58			

De la prueba de Ji cuadrado se deduce que no existe riesgo estadísticamente significativo asociado a la procedencia de los individuos con la seroprevalencia a *T. gondii* ( $p = 0,26$ ).



Sin embargo, del cálculo del Odds ratio se deduce que los animales provenientes de la Región Oriental del país son un 1.38 veces más propensos a ser seropositivos de *T. gondii*, que los que proceden de las otras dos regiones (Anexo 3).



## CAPÍTULO 5

### DISCUSIÓN

La comparación entre seroprevalencias de *T. gondii* en parques zoológicos y centros de tenencia es compleja por los diversos factores involucrados, tales como hábitos alimenticios y de comportamiento, variedad y número de especies estudiadas, técnica de diagnóstico serológico empleado, punto de corte, condiciones climáticas y de higiene y ubicación geográfica de los parques zoológicos o centros de manejo de fauna (Pinedo *et al.*, 2019).

El presente estudio evaluó el suero de 58 mamíferos del Bioparque Amaru, en muestra estratificada de las órdenes Artiodactyla, Carnívora y Primate, utilizando la prueba de ELISA indirecta (ELISA Toxoplasmosis Indirect Multi-species), con la que se obtuvo una seropositividad en mamíferos del 70,68%, del que 36,21% correspondió a los Carnívoros, 18,96% a los Primates y 15,51% a los Artiodáctilos. En investigaciones realizadas en zoológicos de otros países la seropositividad es mayor, como lo reportado en 2 zoológicos de Portugal que mostraron una seropositividad de 57,1% en mamíferos, de los cuales los Artiodáctilos fueron positivos en 100%, los Carnívoros 77,8% y los Primates 33,3% (Tidy *et al.*, 2017).

En una investigación realizada en 8 zoológicos de la República Checa, se obtuvo 63% de seropositividad en Carnívoros y un 26% en Primates (Bártová *et al.*, 2018). En otro trabajo hecho en 393 animales de zoológicos en España, se encontró una



seropositividad de 56,1% en Carnívoros y 27,4% en Artiodáctilos (Cano-Terriza *et al.*, 2020) y 25,4% en Primates (Cano-Terriza *et al.*, 2019).

En un zoológico de Chile, Muñoz (2019) reporta seropositividad de 56,16% en Carnívoros, 31,51% en Artiodáctilos y 12,33% en Primates. Denk y colaboradores (2019) manifiestan que en estudios llevados a cabo entre 2003 al 2019 en 32 zoológicos refiere una seroprevalencia de 41% en Primates y 68% en Carnívoros, y Pinedo y colaboradores (2019) encontraron en un zoológico de Perú una seropositividad indirecta de 76% en Carnívoros, 76,7% en Primates y 82,1% en Artiodáctilos.

Los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con la mayoría de las investigaciones citadas, en las que se observa una tendencia a presentar mayor seropositividad en mamíferos del orden Carnívora, debido quizás a que por su tipo de alimentación, tienen un mayor riesgo que las demás órdenes, lo que puede estar relacionado con la existencia de quistes tisulares con bradizoitos en la carne. Estos quistes tienen una mayor resistencia a enzimas digestivas y al pH ácido que los ooquistes, y más aún que los taquizoitos (Dubey, 2014).

Adicionalmente, en el presente estudio existe una seropositividad de 18,96% en Primates y 15,51% en Artiodáctilos. Este estudio no estuvo enfocado en establecer la dinámica de contagio, sin embargo, Villar-Echarte y colaboradores (2021) establecen que los herbívoros y frugívoros también pueden infectarse por la contaminación del suelo con los ooquistes esporulados de *T. gondii* excretados por el hospedero definitivo, que pueden sobrevivir largos períodos en el suelo y hasta



en las frutas y verduras. sugieren también que la infección en herbívoros se debe a que el forraje o el agua suministrados a estos animales pueden estar contaminados con ooquistes de *T. gondii* y al pasar la mayor parte del tiempo comiendo grandes volúmenes de forraje, aumenta la posibilidad de ingerir ooquistes de *T. gondii* si su entorno está contaminado por ellos. Por otro lado, la infección en primates puede deberse a la escasa higiene de los alimentos, el agua destinada a lavarlos y también su agua de bebida cuando se contamina con ooquistes esporulados del parásito (Ferreira *et al.*, 2015).

Bezerra Marujo y colaboradores (2017) apuntan que los animales mantenidos en recintos que facilitan la entrada de animales salvajes en libertad tienen 2,2 más probabilidades de estar infectados que los animales que viven en interiores. Esto pone de manifiesto el importante papel que desempeñan los gatos domésticos e incluso los animales sinantrópicos, ratas y palomas que viven cerca de los recintos, sobre los cuales no hay control de acceso. Estas conclusiones concuerdan con lo estudiado por Pinedo y colaboradores (2019), quienes encontraron que el 58,54% de gatos ferales y el 11,29% de ratas presentaban toxoplasmosis crónica y con lo encontrado por Navarro y colaboradores (2015) cuyos datos fueron de 25,3% en roedores y 77,8% en gatos ferales.

En nuestro estudio se encontró una asociación del tiempo de permanencia al estado de seropositividad a *T. gondii*. Indicando que la permanencia de dos años o más en el bioparque implica 2,074 veces mayor riesgo de ser seropositivo a *T. gondii*. Aunque el tiempo de permanencia en los centros no se ha determinado como factor de riesgo en estudios previos, se menciona que existe un mayor riesgo



de exposición al parásito en los animales silvestres que se encuentran bajo cuidado humano durante un tiempo prolongado, ya que en los zoológicos tienen mayores posibilidades de estrés y mayores grados de consanguinidad (Pamplona, 2021).

Respecto a la procedencia del animal, el Odds ratio de nuestro estudio implica 1,38 veces más de probabilidad de ser seropositivo a *T. gondii* si procede de la región Oriental del país, aunque la prueba de Ji cuadrado no determinó diferencia estadísticamente significativa para estas variables; aunque en un estudio que compara la seropositividad en tigrillos en los centros de tenencia de las 3 regiones: Costa, Sierra y Oriente, indica una seropositividad de 85,71% en el Oriente, 70% en la Sierra y 66,67% en la Costa (León Jaramillo, 2018); sin embargo, no se puede determinar que los animales procedentes del Oriente tienen mayor riesgo de ser seropositivos a *T. gondii* debido a la dificultad en establecer si su procedencia corresponde a la región donde fue encontrado, y a la ausencia de exámenes serológicos al momento del ingreso del animal al centro de tenencia.



## CAPÍTULO 6

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 6.1 Conclusiones

- Existe una alta seropositividad a *T. gondii* en los animales que se mantienen en cautiverio (70.68%), en especial en el Orden Carnívora en el Bioparque Amaru de Cuenca.
- Entre los posibles factores de riesgo para esta infección se puede sugerir el tipo de alimentación, el tiempo de permanencia en el Bioparque, y el ingreso de animales rescatados desde la región del Oriente.

#### 6.2 Recomendaciones

- Aplicar pruebas de detección de anticuerpos anti-*T. gondii* a todos los animales que ingresan al Bioparque Amaru, producto de rescates o donaciones, así como los que vayan a ser liberados o transportados a otro sitio.
- Vigilar la calidad sanitaria y un manejo adecuado de los alimentos y agua de bebida que se proporciona a los animales.
- Mantener un control de roedores, insectos, invertebrados y vectores mecánicos que se conoce que pueden transmitir la infección.
- Realizar análisis seroepidemiológicos de *T. gondii* en otras órdenes que se mantienen en el Bioparque, en especial en aves que son altamente susceptibles a esta infección.



- Implementar medidas de bioseguridad, a fin de evitar el contacto de los visitantes y manejadores con los excrementos, en particular de los felinos u otro tipo de material que pueda potencialmente mediar la transmisión de *T. gondii*.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bártová E, Lukášová R, Vodicka R, Váhala J, Pavlacík L, Budíková M, Sedlák K, (2018). Epizootological study on *Toxoplasma gondii* in zoo animals in the Czech Republic, *Acta Tropica*. 08.005. Disponible en:

<https://doi.org/10.1016/j.actatropica>

Becerril, M. A. (2014). *Parasitología Médica*. 4th ed. México: Mc Graw Hill.

Bezerra Marujo, R., Langoni, H., Ullmann, L. S., Pellizzaro, M., das Neves Dias Neto, R., Granuzzio Camossi, L., Friciello Teixeira, R., Veloso Nunes, A., Costa da Silva, R., & Donizete Menozzi, B. (2017). *Toxoplasma gondii* antibodies and related risk factors in mammals at Sorocaba zoo, São Paulo, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 38(4), 2845–2850.

<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445752611048>

Bioparque Amaru. (2022). Mapa y Bioregiones. Disponible en:

<https://www.zoobioparqueamaru.com/mapa-bioregiones/>

Bucko, M & Gieger, S. (2019). *Toxoplasma gondii*. Aetiology epidemiology diagnosis prevention and control potential impacts of disease agent beyond clinical illness references. *WAHIS-Wild*. Disponible en:

[http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahidwild.php/Index](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahidwild.php/Index)



Cano-Terriza, D., Almería, S., Caballero-Gómez, J., Jiménez-Martín, D., Castro-Scholten, S., Dubey, J. P., & García-Bocanegra, I. (2020). Exposure to *Toxoplasma gondii* in zoo animals in Spain. *Prev Vet Med*, 176, 104930.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.104930>

Cano-Terriza D, Almería S, Caballero-Gómez J, Díaz-Cao JM, Jiménez-Ruiz S, Dubey, JP, García-Bocanegra I. (2019). Serological survey of *Toxoplasma gondii* in captive nonhuman primates in zoos in Spain. *Comparative Immunology, J Microbiol Infect Dis*, (65), 54-57.

Cañón-Franco, W. A., Araújo, F. A., & Gennari, M. S. (2013). *Toxoplasma gondii* in small neotropical wild felids. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci., São Paulo*; 50(21), 54.

de Camps S, Dubey JP, Saville WJA. (2008). Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in zoo animals in selected zoos in the Midwestern United States. *J Parasitol* (94), 648-653. <http://doi: 10.1645/GE-1453.1>

Denk, D, De Neck, S. Khaliq, S & Stidworthy, M. Exotics and Wildlife. (2020). Retrospective review of toxoplasmosis in Zoo species between 2003 and 2019. *J. Comp. Path., Vol. 174*, 143-156.

Díaz, F. R., & Wörnberg, J. (2014). *Bioestadística* (2da ed.). Paraninfo.



- Dubey JP. (2010). *Toxoplasmosis of animals and humans. 2nd ed.* Maryland: CRC Press.
- Dubey, JP. (2014). The history and life cycle of *Toxoplasma gondii*. In: Weiss, L.M.; Kim, K. *Toxoplasma gondii the model apicomplexa – Perspectives and methods.* 2th ed. Elsevier. pp. 1-13.
- Ferreira, DR.; Ribeiro, VO.; Laroque, PO.; Wagner, PG.; Pinheiro Júnior, JW.; Silva, JC.; Dubey, JP; Rêgo, EW.; Mota, RA. (2015). Risk factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in captive *Sapajus spp.* *Am J Primatol.* (77),:558-562.
- Gangneux, F & Dardé, ML. (2012). Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin Microbiol Rev.*; 25(2), 264-96.
- Giraldo M. (2008). Toxoplasmosis. *Medicina & Laboratorio*, (14), :359-37.  
Disponibile en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2008/myl087-8c.pdf>
- Grandía, R, Entrena, A & Cruz, J. (2013). Toxoplasmosis en *Felis catus*: Etiología, epidemiología y enfermedad. *Rev Inv Vet Perú* 24(2), 131-149.
- Györke, A., Opsteegh, M., Mircean, V., Iovu, A., & Cozma, V. (2011) *Toxoplasma gondii* in Romanian household cats: evaluation of serological tests,



epidemiology and risk factors. *Prev Vet Med*, 102(4), 321–8. Disponible en:  
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.07.015>

Halonen, S. K., & Weiss, L. M. (2014). *Toxoplasmosis. Handbook of clinical neurology; Vol. 114.*

Hill, D.E., and Dubey, J.P. (2014). *Toxoplasmosis: Reston, Va., U.S. Geological Survey Circular 1389*, 1 appendix. <http://dx.doi.org/10.3133/cir1389>.

IDvet. (2017). *ID Screen® Toxoplasmosis Indirect Multi-species (ELISA test)*.  
Disponible en: <https://www.id-vet.com/produit/id-screen-toxoplasmosis-indirect-multi-species/>

Jones, J. L., & Dubey, J. P. (2010). Waterborne toxoplasmosis - Recent developments. *Exp Parasitol* 124(1), 10-25.  
<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.03.013>

Kaushik, M., Knowles, S. C. L., & Webster, J. P. (2014). What Makes a Feline Fatal in *Toxoplasma gondii*'s Fatal Feline Attraction? Infected Rats Choose Wild Cats. *Integr Comp Biol*, 54(2), 118–128.  
<https://doi.org/10.1093/icb/icu060>

León Jaramillo E. (2018). Determinación de anticuerpos para *Toxoplasma gondii* en tigrillos (*Leopardus Pardalis*) mantenidos en cautiverio en las regiones



Costa, Sierra y Oriente del Ecuador, (tesis). Universidad Central del Ecuador-Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Miller & Fowler. (2014). *Zoo and Wild Animal Medicine. Volumen 8. Capítulo 16.*  
ISBN: 9781455773992

Minervino, AH.; Cassinelli, AB.; De Souza, AJ.; Alves, MM.; Soares, MD.; Ferreira, DC.; Pereira, WL. Gennari, SM. (2017). Detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in captive non-human primates in the Amazon region, Brazil. *J Med Primatol. J Zoo Wildl Med.*; 46(6), 343-346.

Mimica, F.; Muñoz-Zanzi, C.; Hidalgo, M. & Padilla, O. (2015). Toxoplasmosis, a parasitic zoonoses prevalent in Chile: count and challenges. *Rev Chilena Infectol* (32), 541-549.

Muñoz R. (2019). Detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en mamíferos en cautiverio de un zoológico de la Región Metropolitana, (tesis): Universidad de Chile - Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/173503>

Navarro Dennis, Chávez V Amanda, Pinedo V Rosa, Muñoz D Karina. (2015). Factores de riesgo asociados a la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en mamíferos del Orden Carnívora y Primates mantenidos en cautiverio. *Rev. investig. vet. Perú* 26(3), 497-508. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v26i3.11175>



OIE (2018). Terrestrial manual: Toxoplasmosis. Disponible en:

[https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/tahm/3.10.08\\_To  
xoplasmosis.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.10.08_To<br/>xoplasmosis.pdf)

Ochoa Azze, R. (2008). *Bases Metodológicas para la evaluación de anticuerpos en ensayos clínicos de vacunas mediante técnicas inmunoenzimáticas.*

Disponible en: <http://www.finlay.sld.cu/ediciones.htm>

Pan American Health Organization (PAHO). (2021). One Health: A

Comprehensive Approach for Addressing Health Threats at the Human-Animal-Environment Interface. *168th Session of the Executive Committee, June.* <https://www.paho.org/en/documents/ce16813-rev-1-one-health-comprehensive-approach-addressing-health-threats-human-animal>

Pamplona, L. F. (2021). Frecuencia de *Toxoplasma gondii* en Primates y

Carnívoros silvestres del Bioparque Ukumarí, Pereira- Colombia, (tesis):

Unilasallista Corporación Universitaria.

Petersen E, Dubey JP. (2001). Biology of toxoplasmosis. In: Joynson DHM,

Wreghitt TG (eds). *Toxoplasmosis: A comprehensive clinical guide.* United

Kingdom: Cambridge University Press: p 1-42.



- Pinedo, R, Chávez, A, Muñoz, K, Gonzáles-Viera, O, Casas, Abad-Ameri, D, Villacaqui, E. (2019). Detección de anticuerpos y factores de riesgo asociados con *Toxoplasma gondii* en animales silvestres en un parque zoológico. *Rev Inv Vet Perú* 30(2), 883-901.
- Ramos Silva, J. C., Vianna, M., Dias, R. A., Ferreira, F., Amaku, M., Adania, C. H., & Ferreira Neto, J. S. (2007). Risk factors associated with sero-positivity to *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids from Brazil. *Prev Vet Med* 78(3-4), 286-295. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.10.013>
- Rendón-Franco, E., Xicoténcatl-García, L., Rico-Torres, C. P., Muñoz-García, C. I., Caso-Aguilar, A., Suzán, G., Correa, D., & Caballero-Ortega, H. (2014). Toxoplasmosis seroprevalence in wild small rodents, potentially preys of ocelots in north-eastern Mexico. *Parasite*, 21, 57. <https://doi.org/10.1051/parasite/2014058>
- Simancas Racines, A. (2019). Distribución espacial de la incidencia de casos de toxoplasmosis humana en el Ecuador durante el período 2013-2018, (tesis). Instituto Superior de Investigación y Posgrado. Quito: UCE
- Spickler, A. (2017). *Toxoplasmosis*. Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php>.
- Stidworthy, MF. (2009). *Toxoplasmosis - A Serious "Exotic" Disease For Ex Situ Captive Wildlife*. British Veterinary Zoological Society Proceedings.



Tidy, A, Fangueiro, S, Dubey, JP, Cardoso, L & Lopes, AP. (2017).

Seroepidemiology and risk assessment of *Toxoplasma gondii* infection in captive wild birds and mammals in two zoos in the North of Portugal. *Vet Parasitol*, (235), 47-52. <https://doi.org/10.1016/J.VETPAR.2017.01.004>

Ullmann, L. S., Costa Da Silva, R., De Moraes, W., Cubas, S., Correia, L., Santos, D., Hoffmann, J. L., Moreira, N., Marcia, A., Guimaraes, S., Montã, P., Langoni, H., & Welker Biondo, A. (2010). Serological survey of *Toxoplasma gondii* in captive Neotropical felids from Southern Brazil. *Vet. Parasitol.* <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.04.013>

Velásquez Serra, G. C., Piloso Urgiles, L. I., Guerrero Cabredo, B. P., Chico Caballero, M. J., Zambrano Zambrano, S. L., Yaguar Gutierrez, E. M., & Barrera Reyes, C. G. (2020). Current situation of congenital toxoplasmosis in Ecuador. *J Community Health*, 45(1), 170–175. <https://doi.org/10.1007/s10900-019-00729-3>

Villar-Echarte, G., Falco Arruda, I., da Silva Barbosa, A., Grandía Guzmán, R., Mendes Augusto, A., Troccoli, F., Manuel Rodríguez Segón, A., Letícia Carvalho Santos, A., Ferraz de Camargo Zanotto, P., Zanchetta Gava, M., Langoni, H., & Regina Reis Amendoeira, M. (2021). *Toxoplasma gondii* among captive wild mammals in zoos in Brazil and Cuba: seroprevalence



and associated risk factors *Toxoplasma gondii* entre mamíferos silvestres  
cativos em zoológicos no Brasil e em Cuba: soroprevalência e fatores de  
risco associados. *Braz J Vet Parasitol*, 30(2).

<https://doi.org/10.1590/S1984-29612021053>



## ANEXOS

## Anexo 1

## Hoja de campo

Hoja de Campo

Responsable: Estefania Carolina Calle Cueva

Análisis epidemiológico de <i>Toxoplasma gondii</i> en mamíferos silvestres en el Bioparque Amaru del cantón Cuenca.							
FICHA DE REGISTRO INDIVIDUAL							
Fecha:		Sexo:					
Especie:		Peso:					
N°/ID:		Edad:					
Procedencia:		T. Permanencia:					
INMOVILIZACIÓN QUÍMICA Y MONITOREO							
Hora	Fármaco	Dosis mg	Dosis ml	Método			
Hora inmovilización:			Hora recuperación:				
Hora	T (°C)	FC (lat/min)	FR (rpm)	R. Auditivo	R. Palpebral	R. Interdigital	Otros
EXAMEN FÍSICO							
Condición corporal:							
Lesiones o anomalías:							
Observaciones clínicas:							
MUESTREO Y LABORATORIO							
Volumen sanguíneo extraído:				OBSERVACIONES			
Volumen de suero obtenido:							
Tiempo de Congelación:							
Fecha de procesamiento:							
Resultado Test ELISA Anticuerpos <i>Toxoplasma gondii</i> :							

\_\_\_\_\_  
Estefania Carolina Calle Cueva

**Anexo 2****Resultados de los análisis de suero sanguíneo medidos en DO (densidad óptica)**

Trial 1	Trial 2	Trial 3	DO(muestra)	S/P%
2,372	2,38	2,372	2,374666667	249%
2,779	2,86	2,858	2,832333333	298%
1,679	1,714	1,709	1,700666667	176%
1,969	1,919	1,884	1,924	200%
0,291	0,291	0,292	0,291333333	24%
0,253	0,266	0,25	0,256333333	20%
0,514	0,503	0,504	0,507	47%
2,301	2,372	2,299	2,324	243%
3,074	3,059	3,042	3,058333333	323%
3,593	3,559	3,548	3,566666667	378%
3,097	3,056	3,086	3,079666667	325%
0,98	1,011	1,038	1,009666667	101%
0,144	0,142	0,144	0,143333333	10%
1,248	1,212	1,174	1,211333333	138%
3,6	3,559	3,561	3,573333333	420%
3,907	3,925	3,971	3,934333333	463%
0,114	0,113	0,114	0,113666667	7%
0,519	0,524	0,531	0,524666667	56%
2,76	2,735	2,89	2,795	327%
0,967	1,04	1,028	1,011666667	114%
3,878	3,849	3,855	3,860666667	455%
1,387	1,372	1,383	1,380666667	158%
4	4	4	4	424%
0,223	0,221	0,222	0,222	16%
0,162	0,164	0,158	0,161333333	13%
0,259	0,271	0,265	0,265	21%
0,55	0,552	0,541	0,547666667	59%
0,091	0,089	0,087	0,089	4%
1,356	1,226	1,306	1,296	148%
3,98	3,855	4	3,945	465%
0,143	0,162	0,145	0,15	11%
3,481	3,415	3,498	3,464666667	407%
0,694	0,677	0,678	0,683	75%
1,758	1,763	1,707	1,742666667	202%
0,633	0,641	0,614	0,629333333	68%
0,829	0,825	0,811	0,821666667	91%
0,078	0,116	0,077	0,090333333	4%
3,798	3,791	3,689	3,759333333	442%
3,331	3,371	3,307	3,336333333	392%
0,71	0,733	0,705	0,716	79%
3,247	3,2	3,259	3,235333333	380%
1,986	1,962	1,937	1,961666667	204%
1,941	1,925	1,938	1,934666667	201%
3,958	3,899	3,884	3,913666667	415%
4	4	3,966	3,988666667	423%
4	4	4	4	424%
3,222	3,193	3,058	3,157666667	333%
0,071	0,071	0,07	0,070666667	0%
4	4	4	4	424%
0,069	0,3	0,086	0,151666667	9%
0,076	0,069	0,068	0,071	0%
0,083	0,078	0,079	0,08	1%
2,701	2,651	2,674	2,675333333	281%
0,075	0,075	0,102	0,084	1%
0,177	0,058	0,08	0,105	4%
4	3,909	4	3,969666667	421%
4	4	4	4	424%
1,002	0,971	0,989	0,987333333	111%



### Anexo 3

#### Tablas de Odds ratio

##### **OR Orden**

---

Carn vs art	1.416
Carn vs prim	1.125
Art. vs. Prim	0.85

##### **OR Sexo**

---

Hembra	0.703
Macho	0.709

##### **OR Permanencia**

---

2 + años vs 1-2	1.008
1-2 vs 0-1	1.904
2 vs 0-1	2.074

##### **OR Procedencia**

---

Sierra vs Costa	0.984
Oriente vs Sierra	1.384
Oriente vs Costa	1.363

## Anexo 4

### Fotografías del proceso

#### Sedación y Extracción de Muestras

Sedación por vía inhalatoria de hurón



Monitoreo de sedación puma



Movilización de individuos para venopunción Oso de Anteojos



Monitoreo de Parámetros fisiológicos León Africano



Extracción de sangre llama hembra



Extracción de sangre Cusumbo hembra



Extracción de sangre llama macho



Extracción de sangre Cusumbo macho



Extracción de sangre Mono Capuchino



Extracción de sangre Oso de Anteojos



Extracción de sangre Cabeza de Mate



Extracción de sangre Ocelote



Extracción de sangre Pecarí de collar



Extracción de sangre oseño



## Sedación y Extracción de Muestras

Extracción sangre mono ardilla



Extracción de sangre Pecarí de Labio Blanco



Pesaje del animal para estimación de volumen máximo de extracción



Extracción de sangre Mono Capuchino negro



Extracción de sangre Jaguar



Monitoreo post-anestésico Mono Capuchino negro



Monitoreo post-anestésico León Africano



Monitoreo post-anestésico Jaguar



Monitoreo post-anestésico Oso de Anteojos





# Procesamiento y Análisis ELISA

Preparación de Muestras para centrifugación



Centrifugación de sangre entera para obtención de suero



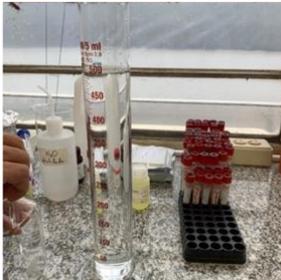
Suero obtenido posterior a centrifugación



Almacenamiento de Muestras en Refrigeración



Preparación de Kit ELISA



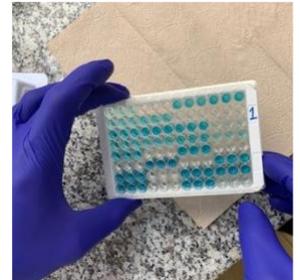
Colocación de suero en microplacas



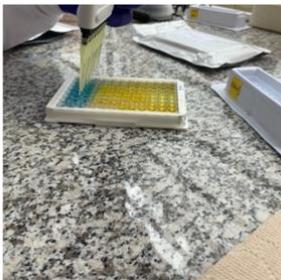
Homogenización de Diluyentes



Colocación de conjugado



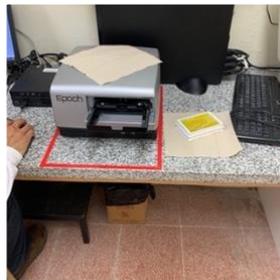
Colocación Solución de revelado



Adición de solución de parada



Lectura de densidad óptica



Resultados de placa 1

Well	1	2	3	4	5	6
A	0.879	0.916	0.885	0.008	0.006	0.008
B	0.901	0.889	0.907	0.143	0.152	0.145
C	0.923	0.921	0.922	0.361	0.361	0.361
D	0.980	0.980	0.981	0.708	0.703	0.702
E	0.982	0.982	0.982	1.002	0.971	0.985
F	0.981	0.981	0.981	1.114	0.913	0.914
G	0.977	0.977	0.976	0.979	0.924	0.931

Resultados de placa 1

Well	1	2	3	4	5	6
A	0.983	1.012	0.988	0.932	0.927	0.988
B	1.013	1.014	1.018	1.368	1.018	1.064
C	1.041	1.041	1.048	1.748	1.048	1.048
D	1.041	1.041	1.041	1.982	1.041	1.041
E	1.041	1.041	1.041	0.077	0.069	0.060
F	0.038	0.038	0.038	0.069	0.069	0.069
G	0.069	0.069	0.069	0.069	0.073	0.073
H	0.069	0.069	0.069	0.073	0.073	0.102

Resultados de placa 2

Well	1	2	3	4	5	6
A	0.980	0.980	0.981	0.710	0.703	0.702
B	1.000	1.000	1.000	0.994	0.941	0.944
C	1.000	1.000	1.000	0.994	0.941	0.944
D	1.000	1.000	1.000	0.994	0.941	0.944
E	1.000	1.000	1.000	0.994	0.941	0.944
F	1.000	1.000	1.000	0.994	0.941	0.944
G	1.000	1.000	1.000	0.994	0.941	0.944
H	1.000	1.000	1.000	0.994	0.941	0.944

Resultados de placa 2

Well	1	2	3	4	5	6
A	0.980	0.980	0.981	0.710	0.703	0.702
B	1.000	1.000	1.000	0.994	0.941	0.944
C	1.000	1.000	1.000	0.994	0.941	0.944
D	1.000	1.000	1.000	0.994	0.941	0.944
E	1.000	1.000	1.000	0.994	0.941	0.944
F	1.000	1.000	1.000	0.994	0.941	0.944
G	1.000	1.000	1.000	0.994	0.941	0.944
H	1.000	1.000	1.000	0.994	0.941	0.944



## Anexo 5

### Permiso de Recolección emitido por Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica del Ecuador

Previo al inicio de trabajo de campo y según lo establecido por el Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica las investigaciones realizadas en especies silvestres deben contar con el permiso de recolección de especímenes de especies de la diversidad biológica emitido por la Dirección de Biodiversidad, adjuntado a continuación.

MINISTERIO DEL AMBIENTE Y AGUA

#### PRONUNCIAMIENTO FAVORABLE No. MAAE-ARSFC-2021-1097

Srta. **CALLE CUEVA ESTEFANIA CAROLINA,**

Una vez que la propuesta para Autorización de Recolección de Especímenes de la Diversidad Biológica Sin Fines Comerciales para Investigación Científica, ha sido analizada, el Ministerio del Ambiente y Agua en uso de las atribuciones que le confiere el Acuerdo Interministerial SENESCYT-MAE N°001 aprueba el Proyecto **Análisis epidemiológico de Toxoplasma gondii en mamíferos silvestres en el Bioparque Amaru del cantón Cuenca.**, al haber cumplido con los parámetros técnicos, administrativos y legales, establecidas en la ley.

Por lo dispuesto, se solicita realizar el pago correspondiente en:

BANECUADOR

RUC MAAE: 1768192860001

CUENTA CTE. No. 3001480604 / SUB-LÍNEA: 190499

TIPOS DE SERVICIOS: Servicios de Áreas Protegidas y Vida Silvestre

En base a lo dispuesto en el Texto Unificado de la Legislación Ambiental Secundaria.

Atentamente,

CEVALLOS ROMAN GERARDO RAMIRO

**DIRECCIÓN DE BIODIVERSIDAD**

