



Estudios, detección y problemática de *Toxoplasma Gondii* en cerdos

Studies, detection and problems of *Toxoplasma Gondii* in pigs

Edy Frías

Universidad de Panamá. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología. Panamá.

<https://orcid.org/0000-0001-5707-5570>

*Autor de correspondencia: edyfrias2798@gmail.com

Fecha de recepción: 02/02/2024

Fecha de aceptación: 28/04/2024

DOI <https://doi.org/10.48204/synergia.v3n1.5092>

Resumen

La toxoplasmosis, causada por el protozoo intracelular obligado *Toxoplasma gondii*, es una zoonosis de importancia médica y veterinaria a nivel mundial. Esta enfermedad se contrae principalmente al ingerir carne cruda o poco cocida que contiene quistes tisulares viables, alimentos o agua contaminados. El diagnóstico de la toxoplasmosis ha mejorado gracias a las nuevas tecnologías moleculares para amplificar los ácidos nucleicos del parásito. Entre estos, las técnicas moleculares basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) han sido útiles para la caracterización genética de *T. gondii*. Los métodos de serotipificación basados en polimorfismos tienen el potencial de convertirse en la elección para tipificar *T. gondii* en humanos y animales. Se realizaron búsquedas de artículos publicados hasta 2020 en tres bases de datos bibliográficas, incluidas PubMed Central (PMC), Scopus y Google Scholar. Esta revisión bibliográfica explora lo observado y estudiado sobre el parásito *Toxoplasma* desde la perspectiva de salud animal y humana.

Palabras clave: Ácidos nucleicos, parásito, protozooario, variabilidad.



Abstract

Toxoplasmosis, caused by the obligate intracellular protozoan *Toxoplasma gondii*, is a zoonosis of medical and veterinary importance worldwide. This disease is contracted primarily by eating raw or undercooked meat containing viable tissue cysts, contaminated food or water. The diagnosis of toxoplasmosis has improved thanks to new molecular technologies to amplify the nucleic acids of the parasite. Among these, molecular techniques based on the polymerase chain reaction (PCR) have been useful for the genetic characterization of *T. gondii*. Polymorphism-based serotyping methods have the potential to become the choice for typing *T. gondii* in humans and animals. Three bibliographic databases, including PubMed Central (PMC), Scopus, and Google Scholar, were searched for articles published up to 2020. This short review explores what has been observed and studied about the *Toxoplasma* parasite from the perspective of animal and human health.

Keywords: nucleic acids, parasite, protozoan, variability.

Introducción

Se asume que aproximadamente el 30% de la población mundial está infectada por *Toxoplasma* (Almeria & Dubey, 2021). En realidad, las prevalencias varían mucho entre países de diferentes regiones (0,7 % - 92 %) y, a menudo, en países de una misma región e incluso en diferentes regiones dentro de un mismo país (Dubey, 2009a; Rostami et al., 2020).

La transmisión de *T. gondii* en los seres humanos, puede resultar de la ingestión de quistes tisulares en carne cruda o poco cocida de animales infectados, ingestión de vegetales crudos o agua contaminada con ooquistes de *T. gondii*, y por transmisión vertical o transplacentaria (Almeria & Dubey, 2021). La transmisión transplacentaria o vertical de la madre al feto ocurre cuando los taquizoítos atraviesan la placenta durante el embarazo y pueden causar infección fetal (toxoplasmosis congénita). El riesgo de transmisión vertical aumenta con la edad gestacional durante el embarazo (Rostami et al., 2020).

La mayoría de las transmisiones horizontales a los seres humanos se deben a la ingestión de quistes tisulares en la carne infectada o a la ingestión de suelo, agua o alimentos contaminados con ooquistes esporulados derivados del medio ambiente (Shapiro et al., 2019; Almeria & Dubey, 2021). Se desconoce la importancia relativa de las transmisiones a través de quistes tisulares versus ooquistes



en una población dada, excepto en el caso de brotes con una fuente de infección bien definida (Shapiro et al., 2019).

El descubrimiento de una proteína específica de esporozoítos u ooquistes, que provocó la producción de anticuerpos y diferenció la infección experimental inducida por ooquistes versus quistes tisulares en cerdos y ratones, puede ayudar a resolver ese problema (Hill et al., 2011). Los anticuerpos séricos contra la proteína del esporozoíto se detectaron en humanos dentro de los 6 a 8 meses posteriores a una infección inicial adquirida por ooquistes. Por lo tanto, este ensayo serológico podría ser útil para conducir estudios epidemiológicos que permitan diferenciar la infección por ooquistes versus quistes en los tejidos de los huéspedes intermediarios (Milne et al., 2020a). La ingesta de carne cruda o poco cocida contaminada con quistes de *T. gondii* procedente de animales de granja, es un factor de riesgo importante para la infección por *T. gondii* en humanos (Dubey et al., 2020a, 2020b, 2020c, 2020d, 2020e, 2020f, 2020g, 2020h, 2020i; Almeria & Dubey, 2021). Un estudio europeo de caso-control de más de dos décadas de realizado, reportó que del 30-63 % de las infecciones en mujeres embarazadas se relacionó al consumo de carne con quistes en los tejidos, mientras que del 6-17 % probablemente se transmitieron por el suelo (Cook et al., 2000). Recientemente, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) sugirió que la transmisión a través de la carne representa alrededor del 60 % de las infecciones por *T. gondii* y que las principales fuentes contribuyentes son las carnes contaminadas de vacuno, cerdo y pequeños rumiantes (Koutsoumanis et al., 2018).

Estudios realizados en cerdos

Las infecciones por *T. gondii* son más prevalentes en carne de cordero y cerdo que en carne de res y pollo. Dentro de las carnes, la carne de oveja presenta el mayor riesgo de infección por *T. gondii* para los seres humanos (Belluco et al., 2016, 2018; Boughattas, 2017; Lafrance-Girard et al., 2018). En una revisión sistemática de la prevalencia de *T. gondii* en animales de carne en todo el mundo, los resultados mostraron una prevalencia combinada para bovinos, porcinos y ovinos de 2,6 %, 12,3 % y 14,7 % (Belluco et al., 2016). Un estudio reciente realizado en carnes que se expenden en tiendas minoristas de Escocia encontró ADN de *T. gondii* en 1/21 (4,8 %) muestras de pollo, 3/71 (4,2 %)



muestras de cerdo, 6/87 (6,9 %) muestras de cordero, pero no en 39 muestras de carne de res (Plaza et al., 2020). Los resultados de la detección de *T. gondii* en productos cárnicos en tiendas minoristas son interesantes, ya que los productos infectados están disponibles directamente para el consumo humano en comparación con las muestras de los mataderos (Almeria & Dubey, 2021).

La seroprevalencia de *T. gondii* en cerdos a nivel mundial varía de un 0,4 al 90,4% y este porcentaje dependerá de la ciudad, región y el tipo de sistema de producción (Herrero et al., 2016). Actualmente, existen cuatro grandes bloques geográficos donde se han centrado los estudios de seroprevalencia de *T. gondii*: Asia, Europa, Norteamérica y Latinoamérica. En el caso de los estudios realizados en China, se han identificado tres arquetipos (I, II y III) y varios atípicos, de los cuales el "tipo I" parece ser más predominante (Wang et al., 2013). Aunque hay algunos estudios sobre la información genética de aislamientos de *T. gondii* en cerdos de China (Jiang et al., 2013; Li et al., 2015; Wang et al., 2013), no hay suficientes datos reportados en el noreste del país. Por el contrario, en algunos países africanos y de América Central y del Sur, se ha reportado una gran diversidad genética sin dominancia de linajes (Ajzenberg et al., 2004; Pena et al., 2008).

Estudios inmunológicos sobre la presencia de anticuerpos de *T. gondii* en cerdos domésticos realizados en Latinoamérica mostraron amplias variaciones en la seroprevalencia entre países y regiones dentro de los mismos (Cañón-Franco et al., 2014; Feitosa et al., 2014; Foroutan et al., 2019; Dubey et al., 2020). En México, la seroprevalencia de este parásito varía de 13 al 100 % y está asociada al clima, el tipo de crianza y la presencia de gatos que están en contacto con los cerdos (Hernández-Cortazar et al., 2016). En Perú los estudios son limitados y se han realizado principalmente en granjas comerciales y mataderos. Estas investigaciones demuestran una prevalencia entre el 4,5 y el 32,3 % utilizando una variedad de métodos serológicos para detectar anticuerpos (Carranza Fernando et al., 2016; Christian et al., 2017).

Actualmente, hay datos muy limitados sobre la seroprevalencia de *T. gondii* en animales domésticos en América Central. En Panamá, estudios previos han mostrado una alta seroprevalencia en cerdos (32,1%) y gatos (45,6%), lo que indica altos niveles de exposición al parásito y un alto riesgo de transmisión a humanos (Correa et al., 2008).



Problemática de la toxoplasmosis en el ciclo doméstico

Muchos factores pueden afectar la seroprevalencia de *T. gondii* en humanos. Se considera que los factores climáticos juegan un rol importante pues éstos afectan la supervivencia de los ooquistes en el medio ambiente y, por lo tanto, las tasas de infección en los animales productores de carne. Aunque los países tropicales con clima cálido y húmedo muestran prevalencias más altas que los países de clima árido, templado y frío, los factores antropogénicos explican gran parte de las variaciones en la seroprevalencia en los seres humanos (Rostami et al., 2020).

En el ámbito veterinario los cerdos pueden verse gravemente afectados, y los signos clínicos varían desde infecciones asintomáticas hasta la muerte. Adicionalmente, el rendimiento reproductivo de las hembras puede verse comprometido, lo que genera grandes pérdidas económicas en la industria porcina (Dubey, 2009).

Métodos moleculares basados en la detección de ácidos nucleicos de parásitos

En los animales de granja, las pruebas serológicas son la estrategia de primera línea para llegar a un diagnóstico, mientras que los métodos de PCR son muy específicos, sensibles y útiles para el diagnóstico en tejidos de animales. El bioensayo o ensayo biológico es el método de referencia utilizado para confirmar la viabilidad del parásito. Sin embargo, aunque el bioensayo es un método preciso y confiable para detectar *T. gondii* viable, requiere mucho tiempo y recursos (Guo et al., 2015). Debido a esto, se alienta el empleo de métodos de cultivo celular para probar la viabilidad de *T. gondii* (Rousseau et al., 2019; Opsteegh et al., 2020).

Los métodos moleculares se utilizan además de los métodos serológicos convencionales para el diagnóstico de la toxoplasmosis. Los métodos convencionales no suelen ser engañosos, pero están limitados en casos prenatales o en pacientes inmunocomprometidos. Por ejemplo, a una madre se le puede diagnosticar con precisión mediante serología que ha tenido una infección actual durante el embarazo y, por lo tanto, su bebé tiene un riesgo potencial de infección congénita, pero los resultados



de la serología no pueden confirmar si el parásito se ha transferido al bebé. Sin embargo, las técnicas de diagnóstico molecular pueden hacerlo (Liu *et al.*, 2012).

En los animales destinados a la producción de alimentos, la detección serológica ayuda a identificar granjas y animales positivos a *Toxoplasma* (Koutsoumanis *et al.*, 2018). La detección de anticuerpos indicaría que el animal tuvo contacto con el parásito, pero no necesariamente implica que el parásito esté presente y sea viable en ese animal. Muchos ensayos serológicos están disponibles para la detección de anticuerpos contra *T. gondii* tanto en suero como en jugo de carne procedentes de animales destinados a la producción de alimentos. Estos ensayos serológicos que se utilizan comúnmente en estudios epidemiológicos incluyen pruebas de determinación directa e indirecta de anticuerpos contra *T. gondii*. Dentro de las primeras podemos relacionar las que siguen: prueba de aglutinación en látex (LAT, siglas en inglés), y la prueba de aglutinación modificada (MAT, siglas en inglés). Dentro de las segundas encontramos la técnica indirecta de anticuerpos fluorescentes (IFAT, siglas en inglés), ensayos de inmunoabsorción ligados a enzimas (ELISA, siglas en inglés). Algunas pruebas, incluidas IFAT, ELISA y LAT, están disponibles comercialmente. IFAT es una técnica bien establecida para detectar anticuerpos anti-*T. gondii* en diferentes especies animales, pero requiere conjugado y no está automatizada. Los conjugados y anticuerpos secundarios específicos de la especie a menudo no están disponibles para muchas especies y, por esa razón, muchos estudios, particularmente en especies de vida silvestre, se basan en técnicas de ELISA competitivas (cELISA, siglas en inglés) y MAT que no necesitan anticuerpos secundarios específicos de la especie. Para los cELISA, el principio de competencia hace que esta prueba pueda ser utilizada en cualquier otra especie; sin embargo, los datos de validación aún no están disponibles para muchas especies.

Recientemente se estableció un ensayo multiplex basado en perlas que utiliza tecnología Luminex de alta sensibilidad y especificidad (Fabian *et al.*, 2020), así como un ensayo de captura de anticuerpos ligados a luciferasa (LACA) para la detección de *T. gondii* en pollos (Duong *et al.*, 2020). La serotipificación basada en el reconocimiento específico de anticuerpos y antígenos utilizando péptidos polimórficos también se ha descrito como un método de tipificación para las cepas de *T. gondii* en animales. Los microarrays de proteínas podrían ser útiles en procesar para el análisis de



anticuerpos en jugo de carne y suero para un alto rendimiento de muestras para animales sacrificados (Loreck et al., 2020).

La especificidad, la sensibilidad y el valor de corte de las pruebas serológicas no se han evaluado en muchas especies animales. Un proyecto de investigación europeo centrado en la detección de *T. gondii* en animales de granja concluyó que los métodos serológicos actualmente disponibles para cerdos, aves de corral y pequeños rumiantes, son útiles para identificar rebaños o animales de alto riesgo (Opsteegh et al., 2016). Sin embargo, un resultado negativo en una prueba indirecta no puede usarse para declarar que la carne es segura. Por otro lado, en bovinos y equinos, la detección de anticuerpos basada en MAT y, posiblemente, el cribado serológico en general, no se recomiendan como indicador de la presencia de *T. gondii* viable y se prefieren los métodos de detección directa (Opsteegh et al., 2016, 2019). Por lo tanto, se debe implementar la confirmación de los resultados serológicos, incluyendo técnicas moleculares y ensayos biológicos (Almeria & Dubey, 2021).

Factores de riesgo para la infección por *T. gondii* en humanos

La infección en los seres humanos se adquiere principalmente por la ingestión oral de alimentos o agua contaminados con ooquistes excretados por los gatos o por comer carne cruda o poco cocida que contiene quistes tisulares (Ogendi *et al.*, 2013).

Los factores de riesgo, se atribuyen a diferencias en el suministro de agua, con las poblaciones más pobres viviendo en áreas abastecidas con agua sin filtrar. Estos diferentes patrones de adquisición de *Toxoplasma* según los niveles socioeconómicos pueden ser más relevantes en los países tropicales subdesarrollados (Shapiro et al., 2019; Rostami et al., 2020). Las razones específicas de las altas tasas de prevalencia de toxoplasmosis latente en algunos países africanos y sudamericanos podrían incluir (1) un número relativamente grande de gatos y diversos genotipos de *T. gondii* en estas áreas; (2) la falta de medidas de control para los gatos callejeros que viven en áreas urbanas y periurbanas; y (3) altos niveles de contaminación del medio ambiente (suelo y agua) y/o alimentos con ooquistes de *T. gondii* (Shapiro et al., 2019).



Clásicamente, el consumo de carne poco cocida, en particular de cerdo y cordero, se ha atribuido como el principal factor de riesgo para la adquisición de toxoplasmosis (Mose *et al.*, 2020). Las variaciones en la seroprevalencia de *T. gondii* parecen estar correlacionadas con los hábitos alimentarios e higiénicos de una población.

Tratamiento

Las sulfonamidas, la clindamicina, la espiramicina y la pirimetamina son eficaces contra la infección por *T. gondii*. Las combinaciones de fármacos sulfadiazina/pirimetamina tienen un efecto sinérgico contra el toxoplasma. La profilaxis recomendada contra la toxoplasmosis en pacientes inmunocomprometidos es mediante la administración de cotrimoxazol (trimetoprima más sulfametoxazol o TMP-SMX). El régimen de tratamiento consiste en una dosis diaria de concentración doble o dos dosis únicas de por vida o hasta que los recuentos de CD4 superen las 200 células/mm³ en terapia antirretroviral de gran actividad (Vogel *et al.*, 2010).

Medidas de prevención

La educación sobre la toxoplasmosis y cómo prevenirla es reforzada por los profesionales de la salud particularmente como parte de la educación prenatal y neonatal y con personas inmunodeprimidas.

Sin embargo, su eficacia depende, en primer lugar, de la integridad y precisión de los consejos que se brinden y, en segundo lugar, del grado de cumplimiento de los mismos por parte de los pacientes. Existe cierta duda sobre la efectividad de los esfuerzos educativos sobre la toxoplasmosis, con una variabilidad informada en la comprensión de las personas sobre la existencia de la enfermedad y los riesgos que plantea (Velázquez-Hernández *et al.*, 2019).



Se han propuesto respuestas sistemáticas para garantizar que los alimentos estén libres de contaminación con *T. gondii* (Kijlstra y Jongert, 2008; Opsteegh *et al.*, 2015). Estas medidas se pueden clasificar como precosecha o postcosecha. El primero tiene como objetivo garantizar una contaminación mínima de las tierras agrícolas o forrajes con ooquistes de *T. gondii*. Este último tiene como objetivo eliminar o inactivar quistes u ooquistes en o sobre la carne, frutas y verduras, pero se centra principalmente en los quistes en la carne, ya que los ooquistes son resistentes al calor, el frío y una variedad de productos químicos. Además, el lavado de frutas y verduras por parte de los consumidores individuales ya es un hábito generalizado y probablemente razonablemente eficaz para eliminar los ooquistes, suponiendo que haya agua limpia disponible (Shapiro *et al.*, 2019).

Conclusiones

Toxoplasma gondii ha sido descrito, como “el parásito más exitoso del mundo” y “el apicomplejo modelo”. Es un parásito que aparentemente puede infectar cualquier célula nucleada en cualquier animal de sangre caliente, se ha propagado por la Tierra desde su origen en América del Sur, adaptándose al desarrollo agrícola humano en el proceso, y solo causa síntomas menores, si los hay, en la mayoría. de sus anfitriones.

Sin embargo, la enorme cantidad de personas y animales infectados con este parásito lo convierte en una de las enfermedades zoonóticas más importantes a nivel mundial. Por motivos sanitarios, económicos y ecológicos, el control de la toxoplasmosis es, por tanto, una necesidad, no un lujo.



Referencias Bibliográficas

- Almeria, S. & Dubey, J. P. (2021) 'Foodborne transmission of *Toxoplasma gondii* infection in the last decade. An overview', *Research in Veterinary Science*, 135(March), pp. 371–385. doi: 10.1016/j.rvsc.2020.10.019.
- Cerqueira-Cézar, C. K., Murata, F. H. A., Verma, S. K., Kwok, O. C. H., Rani, S., Fredericks, J., Adams, B., Jones, J. L., Wiegand, R. E., Ying, Y., Guo, M., Su, C., Pradhan, A. K. (2020f). 'Low prevalence of viable *Toxoplasma gondii* in fresh, unfrozen, American pasture-raised pork and lamb from retail meat stores in the United States', *Food Control*, 109, p. 106961. doi: 10.1016/j.foodcont.2019.106961
- Correa, R., Cedeño, I., de Escobar, C., & Fuentes, I. (2008). Increased urban seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infecting swine in Panama. *Veterinary Parasitology*, 153(1–2), 9–11. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.01.017>
- Dubey, J. P. (2009). Toxoplasmosis in pigs-The last 20 years. *Veterinary Parasitology*, 164(2– 4), 89–103. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.05.018>
- Dubey, J. P., Cerqueira-Cézar, C. K., Murata, F. H. A., Kwok, O. C. H., Hill, D., Yang, Y., Su, C. (2020a) 'All about *Toxoplasma gondii* infections in pigs: 2009–2020', *Veterinary Parasitology*, 288, pp. 109–185. doi: 10.1016/j.vetpar.2020.109185.
- Dubey, J. P., Cerqueira-Cézar, C. K., Murata, F. H. A., Kwok, O. C. H., Yang, Y. R., Su, C. (2020b) 'All about toxoplasmosis in cats: the last decade', *Veterinary Parasitology*, 283(March), pp. 109–145. doi: 10.1016/j.vetpar.2020.109145.
- Dubey, J. P., Cerqueira-Cézar, C. K., Murata, F. H. A., Verma, S. K., Kwok, O. C. H., Pedersen, K., Rosenthal, B. M., Su, C. (2020d) 'Genotyping of viable *Toxoplasma gondii* from the first national survey of feral swine revealed evidence for sylvatic transmission cycle, and presence of highly virulent parasite genotypes', *Parasitology*, 147(3), pp. 295–302. doi: 10.1017/S0031182019001586.
- Dubey, J. P., Cerqueira-Cézar, C. K., Murata, F. H. A., Verma, S. K., Kwok, O. C. H., Pedersen, K., Rosenthal, B. M., Su, C. (2020i) 'White-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) are a reservoir of a diversity of *Toxoplasma gondii* strains in the USA and pose a risk to consumers of undercooked venison', *Parasitology*, 147(7), pp. 775–781. doi: 10.1017/S0031182020000451
- Dubey, J. P., Hill, D., Fournet, V., Hawkins-Cooper, D., Murata, F. H. A., Cerqueira-Cézar, C. K., Kwok, O. C. H., Su, C. (2020e) 'Economic and public health importance of *Toxoplasma gondii* infections in sheep: 2009– 2020', *Veterinary Parasitology*, 286(July), p. 109195. doi: 10.1016/j.vetpar.2020.109195.



- Dubey, J. P., Murata, F. H. A., Cerqueira-Cézar, C. K., Kwok, O. C. H. (2020g) 'Public health and economic importance of *Toxoplasma gondii* infections in goats: The last decade', *Research in Veterinary Science*, 132, pp. 292–307. doi: 10.1016/j.rvsc.2020.06.014.
- Dubey, J. P., Murata, F. H. A., Cerqueira-Cézar, C. K., Kwok, O. C. H. (2020h) 'Toxoplasma gondii infections in horses, donkeys, and other equids: The last decade', *Research in Veterinary Science*, 132(July), pp. 492–499. doi: 10.1016/j.rvsc.2020.07.005.
- Dubey, J. P., Pena, H. F. J., Cerqueira-Cézar, C. K., Murata, F. H. A., Kwok, O. C. H., Yang, Y. R., Gennari, S. M., Su, C. (2020c) 'Epidemiologic significance of *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): The past decade', *Parasitology*, 147(12), pp. 1263–1289. doi: 10.1017/S0031182020001134.
- Duong, H. D., Appiah-Kwarteng, C., Takashima, Y., Aye, K. M., Nagayasu, E., Yoshida, A. (2020) 'A novel luciferase-linked antibody capture assay (LACA) for the diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in chickens', *Parasitology International*, 77(March), p. 102125. doi: 10.1016/j.parint.2020.102125
- Fabian, B. T., Hedar, F., Koethe, M., Bangoura, B., Maksimov, P., Conraths, F. J., Villena, I., Aubert, D., Seeber, F., Schares, G. (2020) 'Fluorescent bead-based serological detection of *Toxoplasma gondii* infection in chickens', *Parasites and Vectors*, 13(1), p. 388. doi: 10.1186/s13071-020-04244-6.
- Guo, M., Dubey, J. P., Hill, D., Buchanan, R. L., Gamble, H. R., Jones, J. L., Pradhan, A. K. (2015) 'Prevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in meat animals and meat products destined for human consumption', *Journal of Food Protection*, 78(2), pp. 457–476. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-14-328.
- Hill, D. E., Coss, C., Dubey, J. P., Wroblewski, K., Sautter, M., Hosten, T., Muñoz-Zanzi, C., Mui, E., Withers, S., Boyer, K., Hermes, G., Coyne, J., Jagdis, F., Burnett, A., McLeod, P., Morton, H., Robinson, D., McLeod, R. (2011) 'Identification of a Sporozoite-Specific Antigen from *Toxoplasma gondii*', *Journal of Parasitology*, 97(2), pp. 328–337. doi: 10.1645/GE2782.1.
- Kijlstra, A., & Jongert, E. (2008). Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. *International Journal for Parasitology*, 38(12), 1359–1370.
- Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., Davies, R., de Cesare, A., Herman, L., Hilbert, F., Lindqvist, R., Nauta, M., Peixe, L., Ru, G., Simmons, M., Skandamis, P., Suffredini, E., Cacciò, S., Chalmers, R., Deplazes, P., Devleeschauwer, B., Innes, E., Romig, T., van der Giessen, J., Hempen, M., van der Stede, Y., Robertson, L. (2018) 'Public health risks associated with food-borne parasites', *EFSA Journal*, 16(12). doi: 10.2903/j.efsa.2018.5495.



- Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., Davies, R., de Cesare, A., Herman, L., Hilbert, F., Lindqvist, R., Nauta, M., Peixe, L., Ru, G., Simmons, M., Skandamis, P., Suffredini, E., Cacciò, S., Chalmers, R., Deplazes, P., Devleesschauwer, B., Innes, E., Romig, T., van der Giessen, J., Hempen, M., van der Stede, Y., Robertson, L. (2018) 'Public health risks associated with food-borne parasites', *EFSA Journal*, 16(12). doi: 10.2903/j.efsa.2018.5495.
- Liu, Q., Singla, L. Das, & Zhou, H. (2012). Vaccines against *Toxoplasma gondii*: status, challenges and future directions. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 8(9), 1305– 1308. <https://doi.org/10.4161/hv.21006>
- Loreck, K., Mitrenga, S., Heinze, R., Ehricht, R., Engemann, C., Lueken, C., Ploetz, M., Greiner, M., Meemken, D. (2020) 'Use of meat juice and blood serum with a miniaturised protein microarray assay to develop a multi-parameter IgG screening test with high sample throughput potential for slaughtering pigs', *BMC Veterinary Research*, 16(1), p. 106. doi: 10.1186/s12917-020-02308-4.
- Milne, G., Webster, J. P., Walker, M. (2020a) 'Toward Improving Interventions Against Toxoplasmosis by Identifying Routes of Transmission Using Sporozoite-specific Serological Tools', *Clinical Infectious Diseases*, 71(10), pp. e686–e693. doi: 10.1093/cid/ciaa428.
- Mose, J. M., Kagira, J. M., Kamau, D. M., Maina, N. W., Ngotho, M., & Karanja, S. M. (2020). A Review on the Present Advances on Studies of Toxoplasmosis in Eastern Africa. *BioMed Research International*, 2020, 7135268. <https://doi.org/10.1155/2020/7135268>
- Ogendi, E., Maina, N., Kagira, J., Ngotho, M., Mbugua, G., & Karanja, S. (2013). Questionnaire survey on the occurrence of risk factors for *Toxoplasma gondii* infection amongst farmers in Thika District, Kenya. *Journal of the South African Veterinary Association*, 84(1), E1-6. <https://doi.org/10.4102/jsava.v84i1.191>
- Opsteegh, M., Kortbeek, T. M., Havelaar, A. H., & van der Giessen, J. W. B. (2015). Intervention strategies to reduce human *Toxoplasma gondii* disease burden. *Clinical Infectious Diseases*, 60(1), 101–107
- Opsteegh, M., Schares, G., Blaga, R., van der Giessen, J. (2016) 'Experimental studies on *Toxoplasma gondii* in the main livestock species (GP/EFSA/BIOHAZ/2013/01) Final report', *EFSA Supporting Publications*, 13(2). doi: 10.2903/sp.efsa.2016.EN-995.
- Opsteegh, M., Spano, F., Aubert, D., Balea, A., Burrells, A., Cherchi, S., Cornelissen, J. B. W. J., Dam-Deisz, C., Guitian, J., Györke, A., Innes, E. A., Katzer, F., Limon, G., Possenti, A., Pozio, E., Schares, G., Villena, I., Wisselink, H. J., van der Giessen, J. W. B. (2019) 'The relationship between the presence of antibodies and direct detection of *Toxoplasma gondii* in slaughtered calves and cattle in four European countries', *International Journal for Parasitology*, 49(7), pp. 515–522. doi: 10.1016/j.ijpara.2019.01.005.



- Rostami, A., Riahi, S. M., Gamble, H. R., Fakhri, Y., Nourollahpour Shiadeh, M., Danesh, M., Behniafar, H., Paktinat, S., Foroutan, M., Mokdad, A. H., Hotez, P. J., Gasser, R. B. (2020) 'Global prevalence of latent toxoplasmosis in pregnant women: a systematic review and meta-analysis', *Clinical Microbiology and Infection*, 26(6), pp. 673–683. doi: 10.1016/j.cmi.2020.01.008.
- Rousseau, A., Escotte-Binet, S., La Carbona, S., Dumètre, A., Chagneau, S., Favennec, L., Kubina, S., Dubey, J. P., Majou, D., Bigot-Clivot, A., Villena, I., Aubert, D. (2019) 'Toxoplasma gondii Oocyst Infectivity Assessed Using a Sporocyst-Based Cell Culture Assay Combined with Quantitative PCR for Environmental Applications', *Applied and Environmental Microbiology*, 85(20). doi: 10.1128/AEM.01189-19.
- Shapiro, K., Bahia-Oliveira, L., Dixon, B., Dumètre, A., de Wit, L. A., VanWormer, E., & Villena, I. (2019). Environmental transmission of *Toxoplasma gondii*: Oocysts in water, soil and food. *Food and Waterborne Parasitology*, 15, e00049. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2019.e00049>
- Velázquez-Hernández, N., Avilés Ávila, A. Y., Rivas- González, M. A., Delgado-González, S. P., Alvarado- Félix, G. A., Alvarado-Félix, Á. O., Beristain-Garcia, I., & Alvarado-Esquivel, C. (2019). Knowledge and practices regarding toxoplasmosis in housewives: a cross sectional study in a northern Mexican city. *PloS One*, 14(9), e0222094.
- Vogel, M., Schwarze-Zander, C., Wasmuth, J.-C., Spengler, U., Sauerbruch, T., & Rockstroh, J. K. (2010). The treatment of patients with HIV. *Deutsches Arzteblatt International*, 107(28–29), 507–515; quiz 516. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2010.0507>