

36
207



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**

DETECCION DE ANTICUERPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* MEDIANTE LA PRUEBA DE FIJACION DEL COMPLEMENTO EN UNA POBLACION DE FELINOS SILVESTRES ALBERGADA EN EL ZOOLOGICO DE CHAPULTEPEC.

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la

Universidad Nacional Autónoma de México

para obtener el título de

Médico Veterinario Zootecnista

por

DAVID BERRON HERNANDEZ

M.V.Z. Aurora Velázquez Echeagaray.

Asesor:

FALLA EN EL IMPRESO

México, D.F.

1991.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	10
RESULTADOS.....	16
DISCUSION.....	17
RECOMENDACIONES.....	20
LITERATURA CITADA.....	25

DETECCION DE ANTICUERPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* MEDIANTE LA PRUEBA DE FIJACION DEL COMPLEMENTO EN UNA POBLACION DE FELINOS SILVESTRES ALBERGADA EN EL ZOOLOGICO DE CHAPULTEPEC.

Asesor: M.V.Z. Aurora Velazquez Echegaray.

RESUMEN

Se realizó un estudio serológico de Toxoplasmosis en una población de felinos silvestres en seis de las siete especies diferentes, albergadas en el Zoológico de Chapultepec en México, D. F. Se tomó una muestra representativa en 20 animales a los que se les inmovilizó y se les extrajo sangre venosa para la obtención del suero. Se realizó la Prueba de Fijación del Complemento en búsqueda de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*. De los veinte sueros analizados, solo se encontró uno positivo contra *T. gondii*, por lo según Daniel, el 5% de dicha población se encuentra infectada por el citado parásito, representando esto un problema de Salud Pública.

INTRODUCCION

La toxoplasmosis es una enfermedad causada por *Toxoplasma gondii*, parásito capaz de infectar a la mayoría de animales de sangre caliente incluyendo al hombre, en el que causa enfermedades en los recién nacidos y ocasionalmente abortos. (13,24)

El parásito se descubrió en 1908 en un roedor del norte de Africa llamado "Gondi" (*Ctenodactylus gondii*) por Nicolle y Manceaux. (21,24)

Durante aproximadamente 60 años, *T. gondii*, se conoció como un parásito tisular del ser humano, otros mamíferos y aves. Los intentos por transmitir experimentalmente al parásito por medio de artrópodos chupadores de sangre nunca tuvieron éxito. Posteriormente se encontró que la ingestión de carne con quistes tisulares de *Toxoplasma* consistía en una fuente de infección. Sin embargo, el modo por el cual la carne de los animales herbívoros se infectaba, seguía siendo un misterio. En este aspecto, Hutchinson (1967) propuso la idea de que la transmisión de la enfermedad a través de las heces de los gatos podía ser una posibilidad. El demostró que, después de que los gatos eran alimentados con ratones infectados con *Toxoplasma*, sus heces se volvían infectantes. Inicialmente se creyó que los huevos del ascárido *Toxocara cati*, contenían las "formas fecales" del *Toxoplasma*. Estos estudios condujeron a un número de

investigaciones en los que el Toxoplasma fue separado de los huevos del nemátodo y se supo que eran pequeños ooquistes coccidianos. Así, Hutchinson y otros grupos de investigadores norteamericanos, comprobaron en 1968-1969, que la infección también se transmitía por las heces de gatos sin vermes. Estudios epidemiológicos posteriores demostraron el papel principal que juega el gato en el ciclo de vida del Toxoplasma y de su transmisión al hombre. (10,11,12,13)

El ciclo de vida del Toxoplasma es bastante complejo: los ooquistes sin esporular salen en las heces de gatos y otros felinos; contienen un esporonte o masa interna del citoplasma. Después de la esporulación en el medio exterior, en condiciones favorables de temperatura y humedad, el esporonte se divide y da lugar a dos cuerpos esferoides llamados esporoblastos, los que al madurar dan lugar a los esporoquistes; después, dentro de cada esporoquiste se desarrollan cuatro esporozoitos. A este proceso se le conoce como esporogonia. (7,13,22)

Los gatos pueden adquirir la infección ingiriendo cualquiera de los tres estadios infecciosos del Toxoplasma: los taquizoitos (en pseudoquistes), los bradizoitos (en quistes) y los esporozoitos (en ooquistes) contenidos en diferentes células de los huéspedes intermediarios que pueden ser ratones, otros roedores, perros, cerdos, ovinos, caprinos, bovinos, equinos, hombre y otros mamíferos y aves. (7,8,18,22)

Después que los gatos ingieren los quistes, la acción de las enzimas proteolíticas del estómago e intestino disuelven la

pared. Los bradizoitos penetran en las células del epitelio intestinal e inician la formación de varias generaciones. Se conocen cinco diferentes formas que varían en su manera de reproducción y se suceden. La primera, tipo A, se divide por endodiogonia y se presenta de 12 a 18 horas después de la ingestión del parásito, el tipo B por endodiogonia y endopoligenia y aparece de 12 a 54 horas después de ser ingerido el parásito, el tipo C por esquizogonia y aparece de 28 a 54 horas después de ingerir el *Toxoplasma*, el tipo D por esquizogonia y endopoligenia y está presente de 32 horas a 15 días después de ingerido el parásito y el tipo E por esquizogonia y se presenta de 3 a 15 días después de ingerir el parásito. (16,18,22)

La gametogonia se inicia a partir del tipo E o D, generalmente en las células epiteliales del íleon 5 a 15 días después de la infección, iniciándose la eliminación de oocistos.

Simultáneamente con el desarrollo del ciclo enteroepitelial, los bradizoitos penetran a la *lamina propria* del intestino del gato y se multiplican como taquizoitos. En pocas horas, la infección se disemina por los tejidos extraintestinales. La infección intestinal y extraintestinal persiste durante la vida del animal. El ciclo extraintestinal de *T. gondii* en el gato es similar al que se desarrolla en los animales que no pertenecen a la familia *Felidae*, con dos excepciones: los taquizoitos no se encuentran en el intestino de los gatos, mientras que en los otros animales sí; los tipos D y E no infectan a las ratas.

Los taquizoitos se multiplican asexualmente por repetidas endodogonias dentro de las células (dos células hijas dentro de la célula madre que crecen y rompen la membrana materna). El proceso continúa hasta ocupar la célula. (9,13,22)

El periodo prepatente (tiempo que transcurre de la infección inicial hasta la liberación de los oocistos) varía de acuerdo al estado del Toxoplasma ingerido. Menos del 50% de los gatos eliminan oocistos después de la ingestión de taquizoitos u oocistos, mientras que todos los gatos eliminan oocistos después de la ingestión de oocistos (Dubey y Frankel 1976; Wallace, 1973). (6,9,10,11,17)

En nuestro medio, esta enfermedad representa no solo un problema de salubridad pública al causar enfermedades congénitas, muertes neonatales o abortos, sino también un problema económico en el aspecto pecuario, al producir los mismos cuadros en animales recién nacidos y la posibilidad de infección de por vida de la madre. (10)

Existen varias formas de transmisión de esta enfermedad: por medio de heces fecales contaminadas, carnivorismo, transplacentaria, por leche u orina; siendo la primera la de mayor importancia, debido a que se ha informado sobre diferentes especies de felinos como los principales transmisores. (5,12,15,20,22,29)

De las diferentes formas del toxoplasma, es el oocisto el que se libera de las células epiteliales del intestino de los individuos de la familia *Felidae*, que salen con las heces fecales

convirtiéndose en esporogonias. (23,28)

En Mexico se desconocen muchos aspectos epidemiológicos de la toxoplasmosis, así como del riesgo perinatal. En una encuesta serológica nacional, en la que se analizaron 86.000 sueros sanguíneos procedentes de diversos estados del país, se encontró que el 41.3% de la población mexicana posee títulos de anticuerpos que los hace meritorios de un diagnóstico presuntivo y el 25.5% de la población con diagnóstico definitivo de la enfermedad. La mayor prevalencia de la enfermedad (alrededor del 50% de los casos), se presentó en los estados del centro y sur del país y la menor prevalencia (menor al 10%), se presentó en los estados del norte, probablemente debido a lo árido de los terrenos y a los climas extremos que poseen. (14,25)

El problema de albergar dentro de los parques zoológicos felinos silvestres, es que estos pueden actuar como transmisores de la enfermedad, lo cual representa un peligro latente tanto para sus cuidadores, el veterinario a cargo y para el público en general, ya que el manejo de excretas junto con la limpieza, aunque se hagan a diario, podrían quedar restos de excremento que serían acarreados por vectores como moscas (*Musca sp.*), cucarachas (*Periplaneta americana*, *Blatella germanica*), escarabajos (Orden *Coleoptera*), etc., que pueden contaminar los alimentos que en esos lugares se expenden, al posarse sobre ellos, con lo cual la posibilidad de una zoonosis es elevada. (2,19)

Los signos clínicos de la toxoplasmosis en los felinos

silvestres varían dependiendo del órgano o sistema afectado. En la forma crónica, el cerebro, ojo, corazón y músculo esquelético están infectados con los quistes del parásito. En la forma aguda, puede observarse fiebre recurrente, anorexia, emaciación, disnea, tos, enteritis, ictericia y desórdenes del sistema nervioso central. (29)

Existen diferentes pruebas serológicas para el diagnóstico del *T. gondii* como son: La Tinción Sabin-Feldman, Prueba Indirecta de Anticuerpos Fluorescentes, Prueba Directa de Anticuerpos Fluorescentes y la Prueba de Fijación del Complemento. (1,22,29)

La Tinción Sabin-Feldman, aunque ha sido usada desde hace tiempo, tiene los inconvenientes de necesitar sueros de cada especie a analizar y el riesgo de trabajar con toxoplasmas vivos. (1,27)

La Prueba Indirecta de Anticuerpos Fluorescentes permite la identificación y medición de anticuerpos en el suero o los antígenos en el tejido o cultivo de células. (1,27)

La Prueba Directa de Anticuerpos Fluorescentes, es la más efectiva de todas, pero tiene el inconveniente del alto costo de los reactivos y de requerir personal altamente especializado para su realización. (1,27)

La Prueba de Fijación del Complemento es una de las técnicas inmunológicas de más amplia aplicación. Una vez preparados y estandarizados los reactivos, esta prueba permite identificar

muchas interacciones inmunes. El punto final de la reacción es fácil de leer y a diferencia de las pruebas de hemoaglutinación, no se depende de la sedimentación de los eritrocitos; además es mucho menos probable el fenómeno de prozona. Además, la Prueba de fijación del Complemento no requiere disponer de suspensiones purificadas de antígenos. El mas grave inconveniente de esta prueba, es su complejidad, sobre todo respecto a la estandarización y preparación de los reactivos.

La prueba hemolítica de fijación del complemento se lleva a cabo en dos etapas. En primer lugar, el antígeno y el suero problema (cuyo complemento se destruyó por el calentamiento a 56°C durante 30 minutos) se incuban en presencia de suero normal de cuye, el que suministra una fuente de complemento que tiene una gran actividad hemolítica. Después de dejar reaccionar algún tiempo la mezcla antígeno-anticuerpo-complemento, se mide la cantidad de complemento libre en el sobrenadante añadiendo un sistema hemolítico formado por eritrocitos de ovino cubiertos de anticuerpos. La lisis de esos eritrocitos, que se traduce por la aparición de una solución roja transparente, constituye un resultado negativo, pues significa que el complemento no fue fijado y que por lo tanto no había anticuerpos en el suero problema. Si no hay lisis (o sea, si persiste la suspensión turbia de globulos rojos), la prueba fue positiva. De ordinario, se titula el suero problema, de manera que si existen anticuerpos en el, al diluirlo la reacción en cada tubo (en este caso pozos), pasara de eritrocitos sin destruir (prueba positiva) a lisis completa (prueba negativa). Se puede considerar que el título es

la dilucion del suero mas alta en la cual hay lisis de una cantidad inferior al 50% de los glóbulos rojos añadidos. (1.27)

La importancia de llevar a cabo el presente estudio en este tipo de animales, es que debido a la alta incidencia de la toxoplasmosis en la población humana de nuestro país y a la gran afluencia de visitantes en este zoológico (aproximadamente 250,000 personas al mes), se debe llevar a cabo un riguroso programa de medicina preventiva y curativa para evitar la transmisión de enfermedades zoonóticas.

Con la Prueba de Fijación del Complemento, se obtienen resultados veraces en un periodo muy corto, con lo que pueden instaurarse programas de medicina curativa al detectar la presencia de anticuerpos contra este parásito, para disminuir el riesgo de diseminación de esta enfermedad.

HIPOTESIS

Se espera encontrar datos serológicos que revelen la presencia de *Toxoplasma gondii* en la población bajo estudio.

OBJETIVOS

Determinar la presencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* por medio de la realización de pruebas de Fijación del Complemento en la población de felinos silvestres en el Zoológico de Chapultepec.

MATERIAL Y METODOS

Para el presente estudio se eligió la Prueba de Fijación del Complemento en microplaca, debido a la poca cantidad de suero y reactivos que se requieren para su realización, así como por la rapidez en la obtención de los resultados.

Material: Actualmente el Zoológico de Chapultepec cuenta con 75 ejemplares de la familia *Felidae* entre los que se encuentran representantes de los géneros *Felis*, *Lynx* y *Panthera*, como lo son respectivamente el puma y el tigrillo, el lince canadiense y el gato montes y finalmente el tigre de Bengala, el jaguar, el león africano, la pantera y el leopardo. Estos animales se encuentran en albergues distribuidos en todo el zoológico.

Se les tomaron muestras sanguíneas a 20 animales tomando como base la presentación de la toxoplasmosis en felinos silvestres en libertad, estimada en un 18%, utilizando la fórmula para la determinación del tamaño de la muestra en una población finita descrita por Daniel, para un 0.1 de margen de error, lo que significa que se obtendrá un 90% de seguridad en los resultados. (4,20)

Para este estudio se excluyeron las crías, hembras gestantes o que se encontraban criando y animales seniles, por lo cual se decidió por el muestreo aleatorio. Estos animales fueron excluidos del estudio para evitar que las crías fueran rechazadas por las madres después del manejo, ya que se conoce por experiencias anteriores, que al ser manejadas las crías por seres

humanos. estas quedan impregnadas con su olor, lo que causa el rechazo y a veces la muerte y posterior devoramiento por las madres; así, también se evitó el manejo de las hembras gestantes o en periodo de crianza, para eliminar la posibilidad de partos prematuros o abandono de las crías por la anestesia y manejo y finalmente en los ejemplares ancianos se eludieron los factores enervantes que debido a su avanzada edad, pudieran haber puesto en riesgo su vida.

POBLACION

Para el presente estudio se utilizaron 5 leones africanos (*Panthera leo*); 2 panteras (*Panthera pardus*); 5 jaguares (*Panthera onca*); 3 tigres de Bengala (*Panthera tigris tigris*); 1 puma americano (*Felis concolor*) y 4 tigrillos (*Felis wiedii*). Estos ejemplares quedaron alojados en sus albergues originales distribuidos en las diferentes secciones en las que se divide el zoológico: Sección Hospital Veterinario: 2 leones africanos hembras, identificados por sus registros y sus nombres propios; 1 pantera macho, identificado por su registro y su nombre propio; 4 tigrillos (1 macho y 3 hembras), identificados por sus registros y número de tatuaje en la región inguinal izquierda. Sección Cúpulas: 3 tigres de Bengala (2 machos y 1 hembra), identificados por sus registros y sus nombres propios; 5 jaguares (4 machos y 1 hembra), identificados por estar en jaulas individuales, sus registros y sus nombres propios; 1 pantera macho, identificado por estar aislado, su registro y su nombre propio. Sección Tren de Felinos: 3 leones africanos (2 machos y 1 hembra).

identificados por el número de jaula, sus registros y sus nombres propios y 1 puma americano macho, identificado por ser el único macho en el momento del estudio, por su registro y su nombre propio.

Metodo: Los animales fueron anestesiados con Hidrocloruro de Ketamina en dosis de 8 mg/kg de peso vivo e Hidrocloruro de Xilazina a razón de 2 mg/kg de peso vivo. Para su aplicación se utilizaron dardos prefabricados con jeringa desechable de 3 ml para inyección remota con cerbatana. A los animales que habitan en grupos, se les aplicó Hidrocloruro de Yohimbina en una dosis de .125 mg/kg de peso vivo, para revertir los efectos del Hidrocloruro de Xilazina, ya que sus efectos se prolongan hasta por 2 horas. (26)

MANEJO Y TRABAJO DE LAS MUESTRAS

A cada ejemplar se le tomaron 10 ml de sangre venosa para la obtención del suero para la realización de las pruebas de Fijación del Complemento.

Las muestras sanguíneas obtenidas para la realización de la prueba, fueron colocadas en tubos Vacutainer estériles sin anticoagulante con capacidad de 5 ml cada uno y se dejaron reposar durante 2 horas, se refrigeraron durante 12 horas y se centrifugaron posteriormente a 3,000 rpm/5 min para la obtención del suero. Los sueros sanguíneos así obtenidos fueron colocados en tubos Vacutainer estériles sin anticoagulante y fueron congelados a -12°C hasta el momento de su uso para la aplicación de la prueba. Para su transporte al laboratorio, los sueros

fueron colocados en una caja térmica de cierre hermetico de unigel, con bolsas de gel refrigerante, para evitar que se descongelaran. En el laboratorio, los sueros fueron colocados en un congelador a -12 a -14°C . Para la ejecución de las pruebas, los sueros fueron sacados del congelador y se esperó a que se descongelaran, ya descongelados, se tomó .1 ml de cada tubo para hacer las diluciones necesarias para la realización de la prueba. El suero sobrante se congeló nuevamente bajo las mismas circunstancias, para posteriormente repetir las pruebas.

REALIZACION DE LAS PRUEBAS

El desarrollo de las pruebas se llevó a cabo en el Laboratorio de Serología del Departamento de Virología de la F.M.V.Z. de la U.N.A.M., el cual facilitó todos los reactivos para la realización del presente estudio.

Los reactivos requeridos para la realización de la Prueba de Fijación del Complemento fueron: Complemento de cuye (suero sanguíneo depositado en viales con .5 ml c/u, congelado a -70°C); glóbulos rojos de ovino lavados y diluidos al 2% en solución Buffer; hemolisina (anticuerpos contra los eritrocitos de ovino), para el sistema hemolítico; solución Buffer (preparada con tabletas *OXOID Complement Fixation Test Buffer* en agua destilada y NaCl); los sueros analizados y alcohol para el flameado de los microdilutores.

El material necesario consistió en microplacas pocificadas para la Prueba de Fijación del Complemento, cinta adhesiva para la identificación de los sueros, las diluciones y los controles

anticomplementarios. micropipetas de .025 ml para la aplicación de los reactivos, microdilutores de .025 ml para la realización de las diluciones, gradillas para del depósito de los sueros diluidos, baño maria de 56°C para la inactivación de los sueros diluidos, baño maria de 37°C para incubación y lectura de resultados en la fase final de la prueba.

METODOLOGIA

Se realizaron diluciones 1:10 de los 20 sueros a analizar y se colocaron en baño maria a 56°C durante media hora para inactivar el complemento propio.

Se identificaron las pocetas de las microplacas con los números de los sueros, las diluciones a probar, controles anticomplementarios con sus diluciones, controles positivos y negativos y los controles de Antígeno (Ag), Antígeno/Complemento (Ag/C'), Complemento (C') y Sistema Hemolítico (S.H.)

Las diluciones utilizadas fueron 1:10, 1:20, 1:40 y 1:80.

Se colocaron .025 ml de Solución Buffer en todos los pozos con excepción de aquellos de la dilución 1:10, ya que los sueros se diluyeron previamente 1:10. La diferencia en esto la constituyeron los pozos para los controles Ag, Ag/C', C' y S.H. a los que se les agregaron 2, 1, 2 y 3 gotas de Solución Buffer respectivamente, ya que únicamente se colocaron esos reactivos en los pozos y se buscó manejar un mismo volumen en todos los pozos.

Una vez inactivados los sueros, se colocaron .025 ml de cada uno de estos en su pozo marcado previamente en las diluciones 1:10 y 1:20.

Se hicieron las diluciones hasta 1:80.

Se diluyó el Ag en dilución 1:5 y se colocaron .025 ml de este en todos los pozos con excepción de los controles anticomplementarios y los pozos de control del C' y del S.H.

Se descongeló el complemento y se diluyó con Solución Buffer para trabajarlo con una unidad y se agregaron .025 ml a todos los pozos (excepto a los controles de Ag y S.H.)

Posteriormente se pusieron a incubar las microplacas en baño maría a 37°C durante 30 minutos. Mientras transcurría este tiempo, se preparó el sistema hemolítico (Hemolisina+Globulos Rojos de Ovino+Solución Buffer). A los 30 minutos de incubación de la mezcla de antígeno-anticuerpo-complemento de la microplaca, se puso a incubar en las mismas condiciones el sistema hemolítico también por 30 minutos. Al terminar el período de incubación, se le agregaron dos gotas del sistema hemolítico a cada uno de los pozos de la microplaca: se mezcló perfectamente con movimiento rotatorio y por agitación y se regresó la microplaca al baño maría en espera de la reacción para la lectura, que en la mayoría de los casos solo se llevó de 10 a 15 minutos. Para hacer la lectura final, el sistema hemolítico funciona, como ya se mencionó, como un "indicador", formado por los globulos rojos de ovino cubiertos de anticuerpos. La lisis de esos eritrocitos, que se traduce por la aparición de una solución roja transparente, constituye un resultado negativo, pues significa que el complemento no fue fijado y que por lo tanto no había anticuerpos en el suero analizado, por lo que se le puede considerar libre del parásito y si por el contrario existe turbiedad en la mezcla (sin lisis de los eritrocitos) la prueba fue positiva.

RESULTADOS

La Prueba de Fijación del Complemento en microplaca, fue aplicada cinco veces a cada uno de los sueros sanguíneos a analizar, con el fin de obtener resultados veraces y eliminar los posibles resultados falsos positivos o falsos negativos.

De los veinte sueros probados, solo uno mostró ser positivo con un título de 1:20, quedando los diecinueve restantes como negativos, es decir que el 5% de la población de felinos silvestres albergada en el Zoológico de Chapultepec, se encuentra infectada por *Toxoplasma gondii*.

DISCUSION

En base a los resultados obtenidos (5% de la población positiva a *Toxoplasma gondii*), se puede suponer que ese 5%, son los animales capturados en vida libre o de otras colecciones y que han sido ingresados recientemente a la colección del zoológico, ya que en los archivos clínicos o historias médicas de los demás animales, nunca se ha presentado un caso clínico de toxoplasmosis. Esto apoyado en que los títulos de anticuerpos (Ig G) detectados por la Prueba de Fijación del Complemento, indican una infección reciente o activa y que en los individuos de la familia *Felidae* este tipo de anticuerpos tienden a desaparecer al cabo de uno o dos años, pero se les puede detectar con otro tipo de pruebas serológicas como la Prueba Indirecta de Anticuerpos Fluorescentes o la Hemaglutinación Indirecta. (15)

Siempre que se realice alguna prueba serológica en busca de anticuerpos contra *T. gondii* en felinos, no deben esperarse altos títulos de estos, pues en general, los felinos desarrollan títulos de anticuerpos mas bajos y mucho mas lentamente contra este parásito que cualquier otra especie. (15)

Aunque la toxoplasmosis es una enfermedad relativamente no frecuente, continúa siendo un problema de Salud Pública desde el punto de vista de su severidad. (15)

Los riesgos de padecer la enfermedad por la infección, son para el feto cuando la madre se infecta estando embarazada. El segundo lugar en riesgo lo ocupan los animales juvenes. Frenkel

(1981) encontró que el 21% de cachorros de gato que pesaban menos de 1 kg, murieron de toxoplasmosis experimental, comparado con solo un 4% de cachorros de gato que pesaban entre 1 y 1.5 kg y gatos jóvenes. (11)

La infección asintomática es general en los animales adultos, ya que ellos desarrollan inmunidad muy rápido para prevenir lesiones serias. Los animales inmunosuprimidos son aparentemente mas susceptibles.

Muchas aves, tales como canarios y pichones, aparentemente son altamente susceptibles, mientras que los pollos mayores de 2 a 3 semanas son resistentes. Los monos del nuevo mundo, especialmente las marmosetas y monos ardilla, son altamente susceptibles a los brotes que se han reportado en los zoológicos. Los monos del viejo mundo generalmente presentan mayor resistencia. Entre los animales de zoológico, los canguros y wallabies son altamente vulnerables y se ha informado de la enfermedad en gato de Pallas, hyrax y leopardo de las nieves y estudios serológicos reportan la infección en alces, berrendos, wapities, caballos y humanos. (11)

En experimentos realizados por Wallace (1973), se encontró que en los gatos domésticos el porcentaje de presentación de esta enfermedad es del 14%, siendo mayor o igual a 1:4 el título sérico positivo hallado en las pruebas. (28)

Existen muchas rutas de transmisión de la enfermedad en los zoológicos. Los gatos silvestres, pueden eliminar los oocistos

del *Toxoplasma*. Las ratas, ratones, gorriones y palomas comunmente sirven de alimento a este tipo de gatos y ocasionalmente por los felinos silvestres de las colecciones zoológicas. Las escobas, la paja o los alimentos contaminados con heces fecales de gatos, esparcen ooquistes del parásito a los animales susceptibles del zoológico. Estos ooquistes pueden infectar otros animales, en los cuales se desarrolla la infección asintomática. Debe evitarse el alimentar con los cadáveres de esos animales a los felinos silvestres, ya que puede transmitirse el *Toxoplasma* e iniciar la eliminación de los ooquistes. (11)

Debido a lo invasivo y a la capacidad infectante del *Toxoplasma gondii*: (sobre todo en animales que se encuentran sujetos a un estrés permanente) y a la cercanía de los exhibidores unos con otros en el Zoológico de Chapultepec, es probable que otras especies se encuentren infectadas, aunque convendría efectuar estudios serológicos, sobre todo las especies que se describen como mas susceptibles para aseverarlo y en caso de ser positivos instaurar el tratamiento.

RECOMENDACIONES

Mientras se desarrollan vacunas contra el *Toxoplasma gondii*, como método definitivo de prevención de la enfermedad, se sugieren los métodos convencionales de limpieza y desinfección como métodos preventivos. Las medidas preventivas que sugieren varios autores son:

- 1) los carnívoros deben ser alimentados con carne cocida (hasta que la carne alcance los 66°C internos), seca o pasteurizada (aunque en los zoológicos esta medida se antoja poco factible, debido a los hábitos alimenticios de los felinos mayores y otros carnívoros que ahí se exhiben).
- 2) Controlar las poblaciones flotantes de: gatos silvestres, ya que son estos la fuente principal de eliminación de los ooquistes; palomas y gorriones como huéspedes intermediarios del parásito; moscas, cucarachas, escarabajos y lombrices de tierra, como vectores.
- 3) Evitar el acceso de gatos silvestres a las zonas de almacenamiento de alimento tales como granos, carnes y pajas, donde podrían defecar, y por lo tanto contaminarlos con los ooquistes del parásito.
- 4) Evitar usar los mismos implementos de limpieza tales como escobas, cepillos, láminas recogedoras, etc. para evitar la transmisión del parásito.
- 5) La limpieza y desinfección diarias, así como el retiro de

las heces lo mas rápido posible disminuye enormemente la capacidad de esporulación de los ooquistes, con lo que las posibilidades de transmisión se abaten.

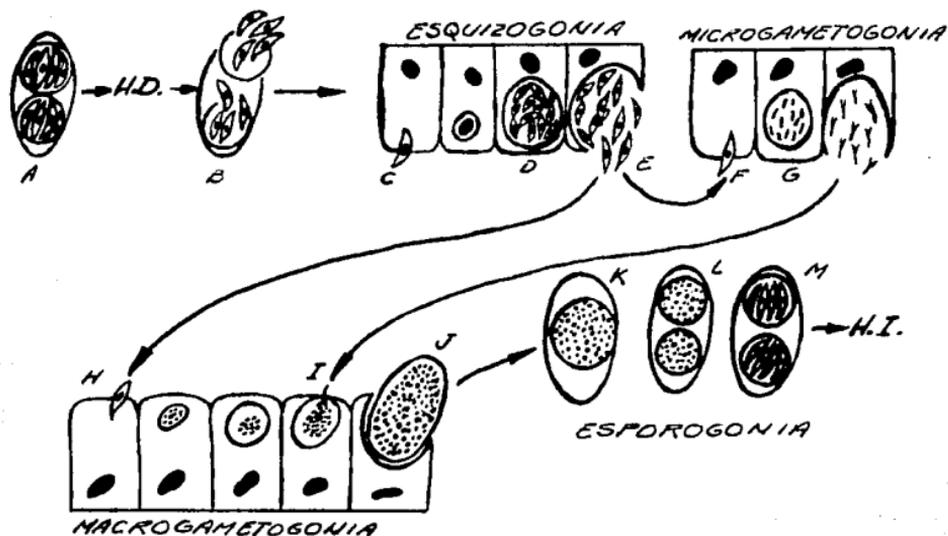
- 6) Las heces de los animales infectados deben ser incineradas, ya que la resistencia del parásito al medio ambiente y a la mayoría de los agentes desinfectantes, no hacen segura la disposición de los excrementos en basureros.
- 7) Es recomendable la desinfección de los implementos de limpieza y los lugares donde los felinos suelen defecar con una solución de amoniaco al 7%, ya que este ha demostrado ser efectivo contra el *Toxoplasma*.
- 8) Se debe contar con tapetes sanitarios fuera de los albergues también con una solución de amoniaco al 7%, para evitar diseminar al parásito por todo el zoológico.
- 9) El personal auxiliar de zootecnista, encargados de la limpieza y la alimentación deberán lavarse las manos inmediatamente después de estar en contacto con las heces fecales.
- 10) Asimismo, el personal que se encuentre enfermo o inmunosuprimido, deberá abstenerse de manejar las excretas de estos animales, ya que se ha encontrado que todos los organismos inmunosuprimidos o enfermos se vuelven mas susceptibles a padecer la enfermedad. (3.11.17)
- 11) Se deben efectuar pruebas serológicas en los animales que se han reportado como mas susceptibles asi como en los animales que se alojan en la cercanía de los albergues de felinos, para eliminar la sospecha de enfermedad.

En los animales en los que las pruebas serológicas resulten positivas, debe instaurarse el tratamiento médico adecuado para la eliminación del parásito. Debido a que el *T. gondii* no puede utilizar el ácido fólico exógeno y debe sintetizar su propio ácido, el microorganismo difiere de los mamíferos, ya que estos pueden incorporar el ácido fólico directamente de fuentes exógenas. Por lo tanto, los inhibidores de la trayectoria biosintética del ácido fólico, como la pirimetamina y la sulfadiazina, actúan en forma sinérgica en contra del parásito.

La sulfadiazina se emplea en una dosis de 60 mg/kg al día dividida en 4 ó 6 tomas, por vía oral. La pirimetamina¹ se administra en una sola toma al día de 0.5 a 1.0 mg/kg por vía oral. (12,17)

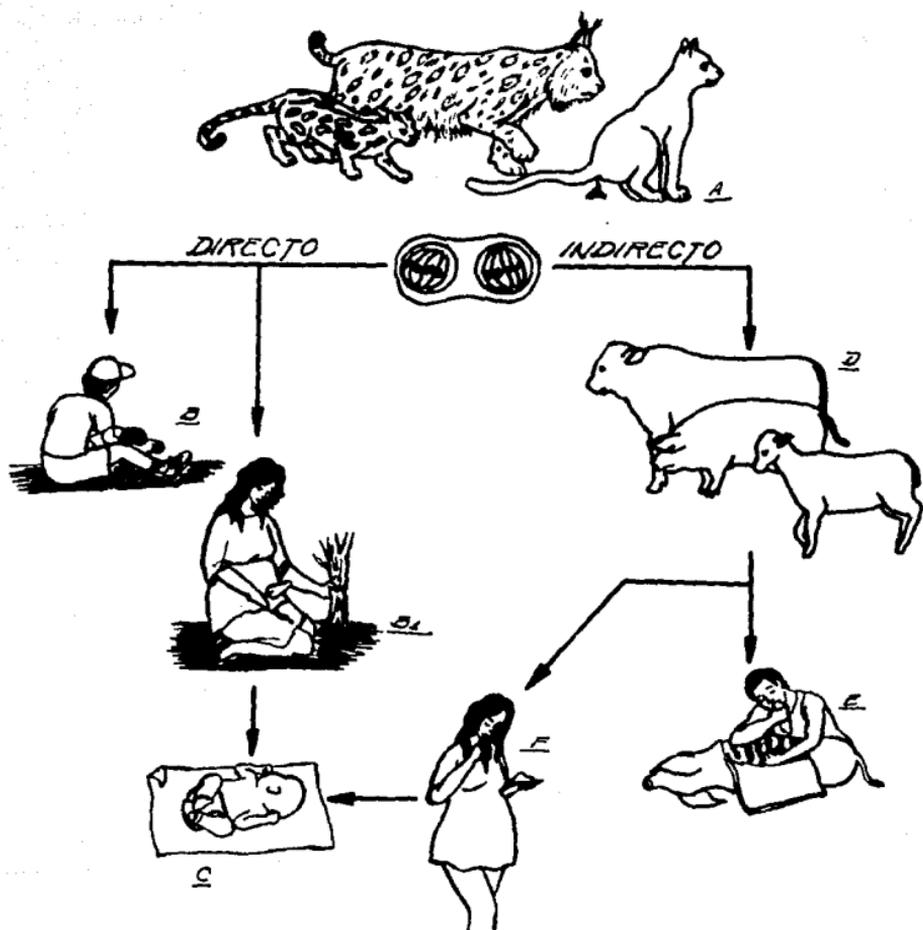
Al implicar la presencia de *Toxoplasma gondii* un problema de Salud Pública en el Zoológico de Chapultepec, se deben adoptar medidas sanitarias escrupulosas para evitar la transmisión y la adquisición de la enfermedad por parte del personal que en este lugar labora. Estas medidas deben comprender la cuarentena y la realización de exámenes físicos y de laboratorio completos a los animales de recién ingreso, máxime a aquellos que han sido capturados en vida libre y son llevados a donación; la realización de exámenes serológicos del personal a cargo de los felinos; evitar que las mujeres aún más si están embarazadas manejen la carne cruda que se destina para el consumo de los animales y manejar el excremento de los animales con guantes desechables.

1(Daraprim. Labs. Burroughs Wellcome)



ESQUEMA DEL CICLO EVOLUTIVO DEL *Toxoplasma*

H.D.- Huesped Definitivo H.I.- Huesped Intermediario
 A: Ooquiste esporulado; B: Liberación de Esporozoitos; C: Esporozoitos inician la esquizogonia en epitelio intestinal; D: Esquizonte; E: Liberación de Merozoitos; F: Un Merozoito inician la microgametogonia; G: Liberación de microgametos; H: Un Merozoito inician la macrogametogonia; I: Fecundación; J: Cigoto; K: Esporonte; L: Formación de esporoblastos; M: Ooquiste esporulado (Fase infectante al huésped intermediario).



TRANSMISION DEL TOXOPLASMA AL HOMBRE

A: Eliminación de oquistes; B, B₁: Infección por contacto directo con oquistes; C: Transmisión de la madre al producto; D: Ingestión de oquistes en pastos contaminados, infectando la carne; E: Infección por comer carne infectada cruda; F: Infección por consumo de carne no completamente cocida; C: infección al producto.

CUADRO 1:

TITULOS OBTENIDOS DE LOS 20 ANIMALES EN LAS CINCO
PRUEBAS EFECTUADAS

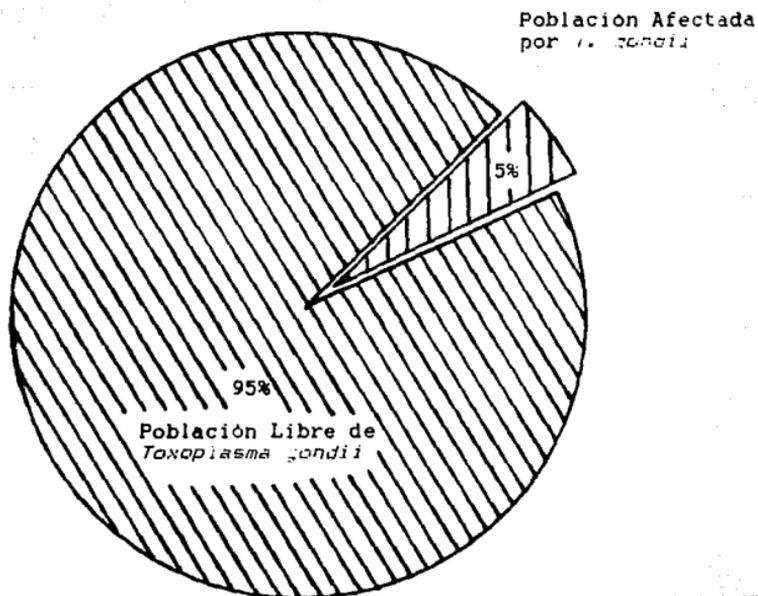
SUERO	ANIMAL (*)	TITULOS OBTENIDOS EN LA PRUEBA				
		#1	#2	#3	#4	#5
1	Pantera macho	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
2	Pantera hembra	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
3	Puma macho	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
4	Tigrillo hembra	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5	Tigrillo hembra	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
6	Tigrillo hembra	1:20	1:20	1:20	1:20	1:20
7	Tigrillo macho	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
8	León hembra	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
9	León hembra	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
10	León hembra	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
11	León hembra	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
12	León macho	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
13	Jaguar macho	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
14	Jaguar macho	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
15	Jaguar macho	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
16	Jaguar macho	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
17	Jaguar hembra	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
18	Tigre de Bengala macho	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
19	Tigre de Bengala macho	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
20	Tigre de Bengala hembra	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Total de animales positivos: 1

(*) Todos los animales fueron encontrados en excelente estado de salud, con excepción del ejemplar número 20 (Tigre de Bengala hembra), que fué inmovilizada por presentar una herida en la porción terminal de la cola

GRAFICA 2:

RELACION DE POBLACION AFECTADA POR *Toxoplasma gondii* EN EL ZOOLOGICO DE CHAPULTEPEC.



LITERATURA CITADA

- 1 .- Behymer, R. D., Hariow, D. R., Behymer, B. S. and Franti, C. E.: Serologic diagnosis of toxoplasmosis and prevalence of *Toxoplasma* spp. antibodies in selected feline, canine and human populations. J.A.V.M.A. 162: 959-963 (1973)
- 2 .- Cheng, T. C.: General Parasitology. 2nd. ed. Edited by Academic Press College Division. Harcourt Brace Jovanovich Publishers, Florida, 1986.
- 3 .- Chisman, S. L.: Problemas Neurológicos en Pequeñas Especies. 1a. ed. CECSA, México, 1986.
- 4 .- Daniel, J. P.: Bioestadística. Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. 1a. ed. Limusa, México, 1977.
- 5 .- Dubey, J. P.: Fatal neonatal toxoplasmosis in a bobcat (*Lynx rufus*). J. Wildlife Dis. 23: 324-327 (1987).
- 6 .- Dubey, J. P.: Toxoplasmosis in cats. Feline Practice. 16: 12-26, 44-45 (1986)
- 7 .- Dubey, J. P., Miller, N. L. and Frenkel, J. K.: *Toxoplasma gondii* life cycle in cats. J.A.V.M.A. 157: 1767-1770 (1970)
- 8 .- Dubey, J. P. and Johnston, I.: Fatal neonatal toxoplasmosis in cats. J.A.A.H.A. 18: 671-678 (1982)
- 9 .- Dubey, J. P.: Toxoplasma, Hammondia, Besnoitia, Sarcocystis, and Other Tissue Cyst-Forming Coccidia of Man and Animals. In: Parasitic Protozoa. Edited by Kreier, J. P., Academic Press. 101-171 (1977)
- 10 .- Emmerling, P.: Nuevos puntos de vista sobre la epidemiología de la toxoplasmosis. M.M.W. 7 431-432 (1973).
- 11 .- Frenkel, J. K.: Common questions on toxoplasmosis. V.M.S.A.C. 77 1188-1196 (1982).
- 12 .- Frenkel, J. K.: Toxoplasmosis. In: Microbiology. Edited by Loretta Lieve and David Schlesinger. 212-216 American Society for Microbiology, Washington, 1984.
- 13 .- Frenkel, J. K.: Toxoplasmosis: Parasite, Lyfe Cycle, Pathology and Immunology. In: The Coccidia: *Eimeria*, *Iscospora*, *Toxoplasma* and Related Genera. Edited by D. M. Hammond and P. L. Long. 343-410 University Park Press, Baltimore, 1973.
- 14 .- Isita, T. L., Miranda, F. I. y Sanchez, P. A.: Antígenos circulantes en el diagnóstico de la toxoplasmosis. Rev. Mex. Paras. 3: 227 (1990).
- 15 .- Jones, S. R.: Toxoplasmosis a review. J.A.V.M.A. 163: 1038-1042 (1973).

- 16 .- Levine, N. D.: Taxonomy of *Toxoplasma*. J. Protozool. 24: 36-41 (1977)
- 17 .- Marin, H. J.: Enfermedades Infecciosas de los Gatos. 1a. ed. Esfera Editores, Mexico, 1989.
- 18 .- Miller, N. L., Frenkel, J. K. and Dubey, J. P.: Oral infections with *Toxoplasma* cysts and oocysts in felines, other mammals and in birds. The Journal of Parasitology, 58: 928-937 (1972)
- 19 .- Noble, E. R., Noble, G. A., Schad, G. A. and Mac Innes, A. J.: Parasitology: The Biology of Animal Parasites. 6th. ed. Lea & Febiger Editors, Philadelphia, 1989.
- 20 .- Oertley, K. D. and Walls, K. W.: Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* among bobcats of West Virginia and Georgia. J.A.V.M.A. 177: 852-853 (1980).
- 21 .- Quinn, P. J. and McCraw, B. M.: Current status of toxoplasma and toxoplasmosis: a review. Canad. Vet. J., 13: 247-262 (1972).
- 22 .- Quiroz, R. H.: Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos. 1a. ed. Limusa, México, 1984.
- 23 .- Remington, J. S. and Krahenbuhl, J. L.: Immunology of *Toxoplasma* Infection. In: Immunology of Parasitic Infections. Edited by Cohen, S. and Sadun, E. H. 235-267. Blackwell and Scientific Publications, Washington, 1976.
- 24 .- Scott, B. A.: Toxoplasmosis. Trop. Dis. Bul., 75: 809-827 (1978).
- 25 .- Sedano, A. M., Galindo, V. S. y Castrejón, V.: Toxoplasmosis, resultados preliminares de la encuesta serológica nacional. Rev. Mex. Paras., 3: 226 (1990).
- 26 .- Sumano, L. y Ocampo, C.: Farmacología Veterinaria, 1a. ed. Limusa, México, 1988.
- 27 .- Tizard, I. R.: Inmunología Veterinaria. 1a. ed. Interamericana, México, 1983.
- 28 .- Wallace, G. D.: The role of the cat in the natural history of *Toxoplasma gondii*. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 22: 313-322 (1973)
- 29 .- Wallach, J. D. and Boever, W. J.: Diseases of Exotic Animals: Medical and Surgical Management. 1st. ed. W. B. Saunders Company, Philadelphia, 1983.