



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

**Estudio epidemiológico de *Trichinella sp* y *Toxoplasma gondii* en poblaciones de prociénidos y animales sinantrópicos de Tabasco, México.**

**TESIS**

**QUE PARA OPTAR EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS**

**PRESENTA:**

**Adrián Hernández Ortiz**

**TUTOR:**

**M. en C. Emilio Rendón Franco**

**Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco**

**COMITÉ TUTOR:**

**Dr. Jorge Luis de la Rosa Arana**

**Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos**

**M. en C. Heriberto Caballero Ortega**

**Instituto Nacional de Pediatría**

**MÉXICO D.F.**

**Enero 2016**



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 esta 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.

Este trabajo de investigación fue realizado en:

- El Laboratorio de Inmunoparasitología, Coordinación de Investigaciones Inmunológicas del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE) bajo la dirección del Dr. Jorge Luis de la Rosa Arana como asesor en lo correspondiente al estudio de *Trichinella* sp.
- El Laboratorio de Inmunología Experimental, Subdirección de Medicina Experimental del Instituto Nacional de Pediatría (INP), Torre de Investigación, bajo la dirección del M. en C. Heriberto Caballero Ortega como asesor en lo correspondiente al estudio de *Toxoplasma gondii*.
- El laboratorio de Histopatología de la Universidad Nacional Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco bajo la dirección de la M. en C. Claudia Irais Muñoz García como asesora en lo correspondiente al análisis de los hábitos alimenticios.
- El Laboratorio de Ecología del Paisaje y Cambio Global, División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco bajo la dirección de la M. en C. Claudia Villanueva García como asesora en lo correspondiente a la captura de roedores.

El alumno fue becario de CONACYT durante agosto del 2013 a julio del 2015.

## Dedicatoria

A mi mamá, papá y hermana que siempre han estado junto a mí,  
me han brindado todo su apoyo para seguir adelante,  
por su enorme cariño incondicional que me da fuerzas,  
los amo.

## Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por darme la oportunidad de ser parte de su comunidad, transmitirme tantos conocimientos y llenarme de experiencias muy gratas.

Al Posgrado de la UNAM por permitirme desarrollar una nueva etapa en mi vida y todo los apoyos brindados que ayudaron a mi crecimiento.

A mi tutor Dr Emilio Rendón Franco por darme la oportunidad de integrarme a su equipo de trabajo y confiar en mí para realizar este proyecto, gracias por todo el apoyo y enseñanzas y sobre todo por compartir el amor a la ciencia y la naturaleza.

A mi comité tutorial: Dr Jorge Luis de la Rosa Arana y Dr Heriberto Caballero Ortega por su apoyo, paciencia y por compartir tantos conocimientos conmigo.

A los integrantes de mi jurado: Dra Evangelina Romero Callejas, Dr Fernando Alba Hurtado, Dr José Juan Martínez Maya y Dr Juan José Pérez Rivero Cruz y Celis por su tiempo invertido en la revisión de mi tesis, sus observaciones y sugerencias con el fin de mejorar este trabajo.

A la M. en C. Claudia Irais Muñoz García, miembro importante del equipo para que este proyecto se llevara a cabo, por su apoyo, confianza, consejos y conocimientos que compartió conmigo.

A la M. en C. Claudia Villanueva García por su paciencia y apoyo durante mi estancia en Villahermosa, y sobre todo gracias a su familia por compartir su casa conmigo.

Al M. en C. Osvaldo López Díaz por hacerme un espacio en el laboratorio de Histopatología de la UAM-X y por sus consejos para mejorar este proyecto.

A los miembros del laboratorio de Ecología del Paisaje y Cambio Global de la UJAT por su recibimiento y apoyo durante mis estancias en Villahermosa.

A la coordinación de INVI del InDRE por aceptarme en el laboratorio de INPA, por el apoyo que me brindaron la Dra Yolanda Medina Flores y su equipo de trabajo en el laboratorio de AcMo desde antes de la gran mudanza, y a LINE y LINA que estuvieron al pendiente de mi trabajo, gracias a todos por permitirme formar parte de un excelente equipo y familia.

A la Dra Dolores Correa y su equipo de trabajo del LIE en el INP por aceptarme en su laboratorio y por su gran apoyo, en especial a la M. en C. Lizbeth Xicoténcatl García, Héctor Luna y Rafael Reboseño quienes estuvieron apoyándome constantemente.

A mis amiguitos INVI por su amistad, muchos momentos felices y muchas risas, las chicas AcMo: Pao, Jess, Anita, Arge y MaLu; los chicos INPA: Dany, Paco y Mary.

A Gaby, Ismar, Sam, Cris, Chayo, Clau, Adris y Luz por su amistad durante todo este tiempo, gracias por ser parte de mi vida.

## Resumen

*Trichinella* y *Toxoplasma* son parásitos de gran importancia en salud pública que comparten hospedadores y la vía de infección oral por el consumo de carne contaminada. En ambas zoonosis influyen diferentes factores para que la trasmisión se lleve a cabo como las actividades atropogénicas que generan una estrecha interacción entre humanos, animales silvestres, animales domésticos y animales sinantrópicos. Los mapaches y coatíes son carnívoros de los que se sabe poco de su papel en el ciclo de estos parásitos. Por lo anterior, el objetivo del trabajo fue determinar la frecuencia de *Trichinella sp* y *Toxoplasma gondii* en poblaciones de prociónidos y animales sinantrópicos en el Parque-Museo La Venta en Tabasco, México y analizar la relación de depredación entre estas especies. El periodo de captura de animales fue durante el 2012 al 2013, se analizaron muestras de 123 coatíes, 66 mapaches, 25 roedores y 17 gatos para determinar anticuerpos contra los parásitos mediante ELISA indirecto. Para los sueros de los prociónidos se utilizó como conjugado la Proteína A peroxidasa. A los prociónidos se les tomó muestra de materia fecal para analizar su hábitos alimenticios. Para los ELISAs se encontró una frecuencia de anticuerpos del 24.39% en coatíes, 36.36% en mapaches y 5.88% en gatos para *Trichinella* y para *Toxoplasma* 13.01%, 7.58%, 11.76% y 16.67% en coatíes, mapaches, gatos y ratones respectivamente. No se encontraron diferencias significativas en cuanto la edad, sexo y temporada de captura de los prociónidos. El análisis de la dieta mostró que los tres componentes mas abundantes son la materia vegetal, artrópodos y el pelo de mamífero. La Proteína A peroxidasa es una herramienta útil como conjugado para un ELISA especialmente cuando no se cuenta con antiucuerpo específico de especie. Las frecuencias de anticuerpos a *Trichinella* están dentro de los rangos reportados en carnívoros silvestres en el mundo. Es el primer reporte de *Toxoplasma gondii* en coatíes y mapaches en el estado de Tabasco. Se considera importante continuar con el estudio para confirmar los casos positivos e identificar la especie de *Trichinella* y cepas de *T. gondii*.

**Palabras clave:** *Trichinella Toxoplasma*, mapache, coatí, roedor, gato.

## Abstract

*Trichinella* and *Toxoplasma* are parasites with a big public health importance that share hosts and the oral route of infection by eating contaminated meat. In both zoonoses different factors influence for the transmission, like the anthropogenic activities that generate a close interaction between humans, wildlife, domestic and synanthropic animals. Raccoons and coatimundis are carnivores, which their role in the cycle of these parasites is limited. Therefore, the objective was to determine the frequency of *Trichinella* sp and *Toxoplasma gondii* in procyonids and synanthropic animals in the Parque-Museo La Venta in Tabasco, Mexico and to analyze the relationship between these species predation. The trapping period was in 2012 to 2013. Samples from 123 coaties, 66 raccoons, 25 rodents and 17 cats were analyzed for antibodies against parasites by indirect ELISA. For procyonids sera it was used Protein A peroxidase as conjugated. To the procyonids were taken fecal samples to analyze their food habits. By ELISAs it was found an antibody frequency of 24.39% in coatimundis, 36.36% in raccoons and 5.88% in cats for *Trichinella* and for *Toxoplasma* 13.01%, 7.58%, 11.76% and 16.67% in coatimundis, raccoons, cats and mice respectively found. No significant differences were found in age, sex and season for the procyonids. The food habits analysis showed that the three most abundant components are the plant material, arthropods and mammalian hair. Protein A peroxidase is a useful tool as conjugate for ELISA especially when there isn't a specie specific antibody. Frequencies from *Trichinella* antibodies are within the ranges reported wild carnivores in the world. It is the first report of *Toxoplasma gondii* in coatimundis and raccoons in the state of Tabasco. It is considered important to continue the study to confirm the positive cases and identify the *Trichinella* species and strains of *T. gondii*

**Key words:** *Trichinella*, *Toxoplasma*, raccoon, coatimundi, rodent, cat.

## Índice

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>1.1</b>	<b>TRIQUINELOSIS</b>	<b>1</b>
1.1.1	CICLO BIOLÓGICO DE <i>TRICHINELLA</i>	1
1.1.2	IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA	2
1.1.3	<i>TRICHINELLA</i> EN FAUNA SILVESTRE	3
<b>1.2</b>	<b>TOXOPLASMOSIS</b>	<b>3</b>
1.2.1	CICLO BIOLÓGICO DE <i>TOXOPLASMA GONDII</i>	3
1.2.2	IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA	5
1.2.3	TOXOPLASMOSIS EN FAUNA SILVESTRE	6
<b>1.3</b>	<b>LOS PROCIÓNIDOS</b>	<b>6</b>
1.3.1	MAPACHES ( <i>PROCYON LOTOR</i> )	6
1.3.2	COATÍES ( <i>NASUA NARICA</i> )	7
<b>1.4</b>	<b>ANTECEDENTES</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>10</b>
<b>3.1</b>	<b>OBJETIVO GENERAL</b>	<b>10</b>
<b>3.2</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>10</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>11</b>
<b>4.1</b>	<b>ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.</b>	<b>11</b>
<b>4.2</b>	<b>ÁREA DE ESTUDIO</b>	<b>11</b>
<b>4.3</b>	<b>CAPTURA Y CONTENCIÓN DE ANIMALES</b>	<b>12</b>
<b>4.4</b>	<b>OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS</b>	<b>13</b>
4.4.1	MUESTRAS DE SUERO	13
4.4.2	MÚSCULOS DE ROEDORES	14
4.4.3	EXCRETAS DE PROCIÓNIDOS	14
<b>4.5</b>	<b>ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO PARA <i>TRICHINELLA SP</i></b>	<b>14</b>
4.5.1	ANTÍGENO DE EXCRECIÓN-SECRECIÓN DE <i>TRICHINELLA SPIRALIS</i>	14
4.5.2	ELISA EN MICROPLACA PARA PROCIÓNIDOS	14
4.5.3	ELISA EN MICROPLACA PARA GATOS	16
4.5.4	ELISA EN MICROPLACA PARA RATAS Y RATONES.	16
<b>4.6</b>	<b>ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO PARA <i>TOXOPLASMA GONDII</i></b>	<b>16</b>
4.6.1	ANTÍGENO DE EXTRACTO CRUDO DE <i>TOXOPLASMA GONDII</i>	16
4.6.2	ELISA EN MICROPLACA PARA PROCIÓNIDOS	16
4.6.3	ELISA EN MICROPLACA PARA RATAS	18
4.6.4	ELISA EN MICROPLACA PARA GATOS Y RATONES.	19
<b>4.7</b>	<b>CÁLCULO DEL PUNTO DE CORTE</b>	<b>19</b>
<b>4.8</b>	<b>TRIQUINOSCOPIA</b>	<b>20</b>
<b>4.9</b>	<b>ANÁLISIS DE HÁBITOS ALIMENTICIOS</b>	<b>20</b>
<b>4.10</b>	<b>ANÁLISIS DE DATOS</b>	<b>20</b>

<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>21</b>
<b>5.1</b>	<b>MUESTRAS BIOLÓGICAS</b>	<b>21</b>
<b>5.2</b>	<b>PUNTO DE CORTE</b>	<b>22</b>
<b>5.3</b>	<b>FRECUENCIAS DE SEROPOSITIVOS</b>	<b>22</b>
5.3.1	FRECUENCIA DE SEROPOSITIVOS A <i>TRICHINELLA SP</i> DE PROCIÓNIDOS.	23
5.3.2	FRECUENCIA DE SEROPOSITIVOS A <i>TOXOPLASMA GONDII</i> EN PROCIÓNIDOS.	24
<b>5.4</b>	<b>TRIQUINOSCOPIAS</b>	<b>25</b>
<b>5.5</b>	<b>HÁBITOS ALIMENTICIOS</b>	<b>25</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>26</b>
<b>6.1</b>	<b><i>TRICHINELLA SP</i> EN PROCIÓNIDOS</b>	<b>26</b>
<b>6.2</b>	<b><i>TOXOPLASMA GONDII</i> EN PROCIÓNIDOS</b>	<b>28</b>
<b>6.3</b>	<b><i>TRICHINELLA</i> Y <i>TOXOPLASMA GONDII</i> EN ANIMALES SINANTRÓPICOS</b>	<b>30</b>
<b>6.4</b>	<b>LOS ANIMALES SINANTRÓPICOS Y LA INTERACCIÓN MEDIANTE DEPREDACIÓN CON LOS PROCIÓNIDOS</b>	<b>31</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>33</b>
<b>8</b>	<b>PERSPECTIVAS</b>	<b>33</b>
<b>9</b>	<b>REFERENCIAS.</b>	<b>34</b>
<b>10</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>43</b>

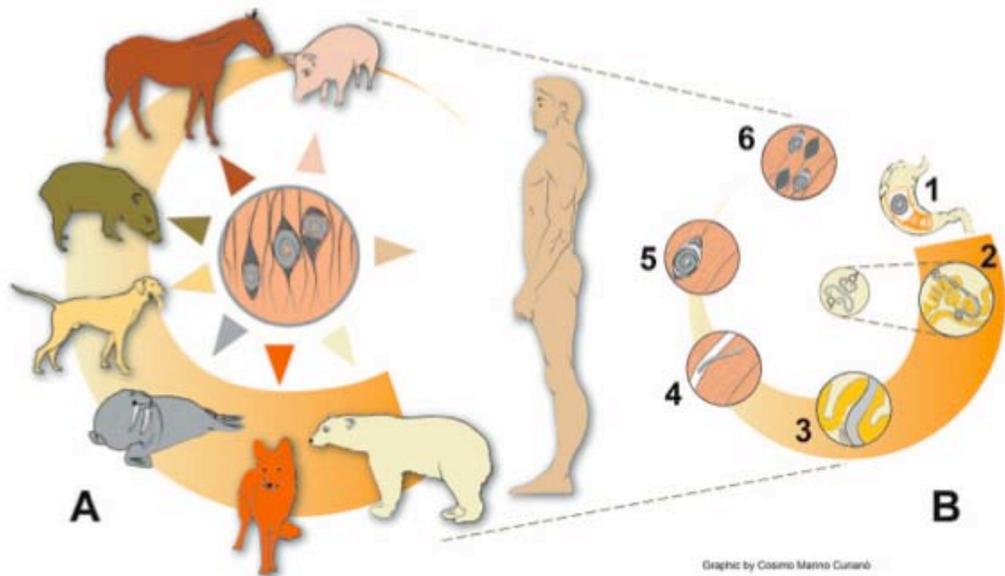
# 1 INTRODUCCIÓN

## 1.1 Triquinelosis

La triquinelosis es una zoonosis producida por nematodos del orden Trichurida, familia Trichinellidae y del género *Trichinella*, transmitida de forma directa de un hospedador vertebrado infectado a un hospedador vertebrado susceptible (Ramírez-Valenzuela, 1981). Este género está en todos los continentes excepto en la Antártica, o por lo menos no hay evidencia o estudios realizados en esta zona (anexo 1; Pozio y Murrell, 2006). Se han reconocido 9 especies diferentes: *T. spiralis*, *T. nativa*, *T. britovi*, *T. murrelli*, *T. nelsoni*, *T. patagoniensis*, *T. pseudospiralis*, *T. papuae* y *T. zimbabwensis*; y 3 genotipos que tienen una relación molecular cercana a alguna de las especies y que se ha demostrado que puede haber cruzamiento entre ellas, generando larvas viables para la reproducción: genotipo T6 relacionado a *T. nativa*, genotipo T8 relacionado con *T. britovi* y genotipo T9 relacionado con *T. murrelli* (La Rosa *et al*, 2003; Zarlenga *et al* 2006; Pozio *et al* 2009); de igual forma se dividen en dos clados de acuerdo con la capacidad de formar cápsula, de los cuales 6 especies y 3 genotipos forman cápsula de colágeno alrededor de la larva muscular y 3 especies no forman esta cápsula (Pozio y Zarlenga, 2013; anexo 2). En México se ha reportado *Trichinella spiralis* en humanos y animales domésticos, principalmente en cerdos y caballos, de la zona centro y norte del país (Ortega-Pierres *et al*, 2000).

### 1.1.1 Ciclo Biológico de *Trichinella*

Las hembras grávidas se encuentran en la mucosa del intestino delgado de los hospedadores, liberan larvas recién nacidas que migran por vía linfática y vasos sanguíneos a la circulación general del hospedero en busca de tejido muscular con altos niveles de oxígeno, penetran las células de músculo estriado y maduran a larva muscular aproximadamente en 15 días posterior a la invasión de la célula (Gottstein *et al*, 2009). El ciclo continúa cuando el hospedador infectado es consumido por otro vertebrado; posterior a la ingestión, las larvas de los músculos son liberadas por la digestión gástrica llegando al duodeno, donde sufren varias mudas para madurar a adultos aproximadamente en 2 días. Los adultos copulan de 5 a 6 días post infección (Gottstein *et al*, 2009) y de esta manera se reinicia el ciclo (figura 1).



**Figura 1** Representación del ciclo biológico de *Trichinella sp.* En (A) hospedadores del parásito. (B) Ciclo dentro del hospedador; (1), ingestión de la larva muscular. (2) La larva penetra la mucosa intestinal y muda a adulto. (3) La hembra libera las larvas recién nacidas vía linfática. (4) La nueva larva busca músculos estriados y penetra a las células. (5) La larva madura a su fase infectante en las células musculares. (6) Después de un periodo de tiempo indefinido, puede ocurrir calcificación de la larva. (Obtenido de Gottstein, Pozio y Nöckler, 2009).

### 1.1.2 Importancia en Salud Pública

La triquinelosis en humanos está relacionada a las prácticas culturales y alimenticias, incluyendo el consumo de carne cruda o mal cocida de diferentes animales, tanto domésticos, como silvestres (Ramírez, 1981. Pozio, 2007). Los cazadores y las personas cercanas a ellos están en mayor riesgo de la infección con el parásito pues la carne cruda de los animales cazados no es inspeccionada para detectar *Trichinella* antes del consumo. El aumento de viajeros internacionales ha resultado en muchos reportes de turistas que adquieren infecciones con *Trichinella* cuando viajan o cazan en áreas endémicas y posteriormente desarrollan la enfermedad al regresar a su país (Ramírez-Valenzuela, 1981; Gottstein *et al*, 2009). Adicionalmente en países en vías de desarrollo, como México, particularmente en áreas rurales y comunidades indígenas, la carne de animales silvestres constituye un recurso fundamental para su subsistencia como principal fuente de alimento proteico, incrementando el riesgo por este parásito (Martínez-Marquez, 2011; Contreras-Moreno *et al*, 2012). Las seroprevalencias reportadas en México van

desde el 1% hasta 3.65% en pacientes humanos (de-la-Rosa *et al*, 1998; Gutierrez-Quiroz *et al*, 2000; Martínez-Barbosa *et al*, 2000).

### 1.1.3 *Trichinella* en Fauna Silvestre

Diferentes especies de *Trichinella* han sido identificadas en un amplio grupo de fauna silvestre, principalmente en mamíferos, pero también en reptiles y aves (*Trichinellas* no encapsuladas). Dentro de la clase mamífera, los órdenes en los que se ha identificado son Marsupialia, Insectívora, Edentata, Rodentia, Perissodactyla, Artiodactyla y Carnívora. Este último orden es el que juega el papel más importante en la epidemiología de *Trichinella*, ya que las larvas se han detectado en más de 80 especies de carnívoros incluyendo a los prociónidos, principalmente los mapaches (*Procyon lotor*), además de presentar las prevalencias más altas entre diferentes órdenes (Pozio, 2005; Masuoka *et al*, 2009).

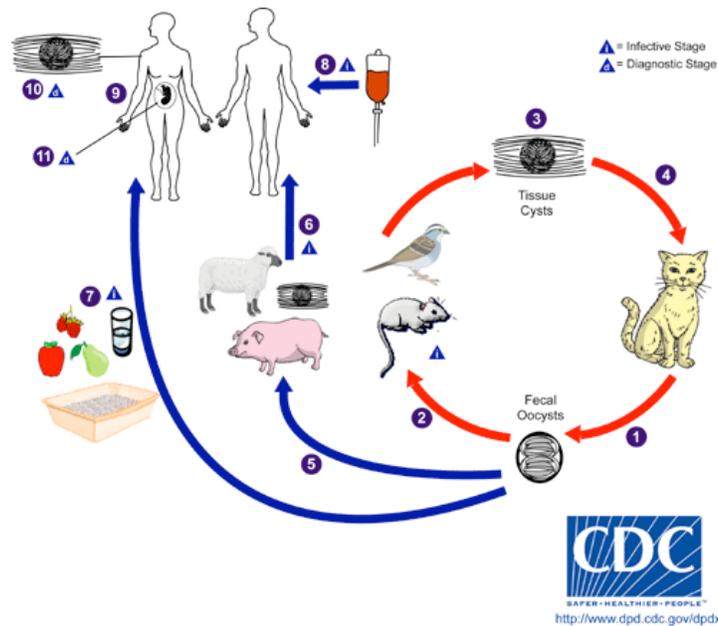
## 1.2 Toxoplasmosis

La toxoplasmosis es producida por un parásito coccidio del Phylum Apicomplexa, orden Eimeriorina, familia Sarcocystidae llamado *Toxoplasma gondii*, del cual existe una sola especie. Los felinos, entre estos el gato doméstico (*Felis silvestris catus*), son los hospedadores definitivos, mientras que los hospedadores intermediarios son diferentes especies de aves y mamíferos, incluyendo al ser humano (Hill *et al*, 2005). La toxoplasmosis es prevalente en la mayor parte del mundo incluyendo México, donde las prevalencias en humano varían de acuerdo con las regiones geográficas, siendo las áreas costeras del golfo de México y del Océano Pacífico las que presentan prevalencias más altas en seres humanos (anexo 3). Además, tiene importancia médica y veterinaria por causar principalmente abortos y enfermedades congénitas en los hospedadores intermediarios (Tenter *et al*, 2000).

### 1.2.1 Ciclo Biológico de *Toxoplasma gondii*

Existen tres formas infectantes de *T. gondii*: los taquizoítos (estadio de replicación rápida), los bradizoítos (forma de replicación lenta y contenidos en quistes tisulares) y los esporozoítos (contenidos en ooquistes). En el hospedador intermediario, el taquizoíto invade células nucleadas por penetración activa invaginando la membrana celular; posteriormente el taquizoíto toma una forma ovoide y es rodeado por una vacuola

parasitófora que lo protege de los mecanismos de defensa del hospedador. Dentro de las células del hospedador se lleva a cabo la multiplicación asexual del taquizoíto que continuará su división hasta romper las células infectadas y de esta forma infectar a otras células. Si el hospedador es inmunológicamente competente, después de varias divisiones, *T. gondii* forma quistes tisulares con cientos de bradizoítos en su interior, alojándose en órganos viscerales incluyendo pulmón, hígado, tejido muscular esquelético y cardiaco y sistema nerviosos incluyendo cerebro y ojos. Estos quistes probablemente no causen daño y persistan por toda la vida del hospedador (Hill *et al*, 2005). Si un hospedador definitivo consume el quistes tisulares, la pared de estos es disuelta por las enzimas proteolíticas del estómago y el intestino delgado, los bradizoítos se liberan y penetran a las células epiteliales del intestino delgado e inician el desarrollo de numerosas generaciones de ciclos asexuales y sexuales. En esta etapa, los parásitos de *T. gondii* se denominan esquizontes los cuales dan lugar a los gametos femeninos y masculinos. Después de la fertilización del gameto femenino por el masculino, inicia la formación de los ooquistes. Una vez maduros, los ooquistes son liberados al lumen intestinal y excretados sin esporular junto con la materia fecal. Estos esporulan y se vuelven infecciosos en el ambiente de 1 a 5 días después de haber sido excretados (Hill *et al*, 2005). La infección de los hospederos intermediarios puede ocurrir de manera horizontal, es decir, por el consumo del ooquiste esporulado en agua o alimento, o bien por la ingesta de los quistes tisulares por carne cruda o mal cocida (figura 2). Los parásitos penetran las células epiteliales del intestino y se multiplican como taquizoítos, son diseminados a los linfonodos y después a órganos distantes por la invasión de los vasos linfáticos y sanguíneos, pudiéndose multiplicar prácticamente en cualquier célula del organismo (Hill *et al*, 2005). La transmisión vertical de *T. gondii* se da por el paso transplacentario del taquizoíto de la madre a su producto (Tenter *et al*, 2000).



**Figura 2 Vías de transmisión de *Toxoplasma gondii*; (1) Los felinos eliminan oocistos al ambiente. (2) Los hospedadores intermediarios incluyendo aves y mamíferos ingieren los oocistos. (3) Formación de bradizoítos en quistes tisulares en hospedadores intermediarios. (4) Los felinos depredan al hospedador intermediario infectado con los quistes tisulares. (5) Animales de consumo humano se infectan al ingerir oocistos esporulados. (6) Los seres humanos adquieren la parasitosis por el consumo de carne cruda o mal cocida, o (7) por el consumo de agua o alimento contaminado con oocistos. (8) La transmisión del parásito también puede darse mediante transfusiones sanguíneas o trasplantes de órganos infectados. (9) El parásito puede transmitirse verticalmente de las madres a los fetos. (10,11) El diagnóstico se realiza por serología, biopsias o detectando DNA del parásito en fluido amniótico (Obtenido de CDC, 2015).**

### 1.2.2 Importancia en salud pública

La toxoplasmosis es una de las zoonosis parasitarias más comunes en el mundo. Se estima que más de un tercio de la población humana ha estado expuesta al parásito. Si bien la infección con *T. gondii* es muy común en humanos, la enfermedad clínica está confinada en gran medida a grupos de riesgo; las mujeres embarazadas expuestas por primera vez a la infección pueden transmitir el parásito a los fetos, en los cuales los efectos de la enfermedad son más severos si la transmisión ocurre en etapas tempranas de la gestación. En humanos inmunocomprometidos una infección previa latente puede reactivar la toxoplasmosis produciendo encefalitis y toxoplasmosis diseminada (Tenter *et al*, 2000). Aunque la mayoría de casos se vinculan con hospedadores domésticos, se han comprobado algunos brotes asociados a la fauna silvestre (Aramini *et al*, 1998).

### 1.2.3 Toxoplasmosis en fauna silvestre

Debido a la importancia de la toxoplasmosis en salud pública y la facilidad de transmisión entre especies mamíferas, existen diferentes estudios serológicos, de aislamientos e identificación de cepas de *T. gondii* en una amplia variedad de aves y mamíferos silvestres, incluidos los carnívoros como los felinos y los mapaches (Dubey y Jones, 2008; Siqueira *et al*, 2013). Mas recientemente debido a la interacción del hombre con la fauna silvestre, cepas nuevas y en ocasiones más patógenas han sido identificadas y vinculadas con reservorios silvestres (Carme *et al*, 2009).

## 1.3 Los Prociónidos

La familia Procyonidae, pertenece al orden Carnívora y cuenta con dos subfamilias: la Ailurinae, con una sola especie que es el panda rojo (*Ailurus fulgens*) encontrándose en Asia, y la Procyoninae, en la cual se encuentran 6 géneros con 18 especies en total, distribuidas en el continente americano. Son mamíferos medianos que llegan a tener un peso de hasta 12 Kg aproximadamente. Sus hábitos alimenticios son principalmente omnívoros con actividad forrajera, tanto depredadores como carroñeros (Fowler y Miller, 2003, Wilson y Ruff, 1999). Su carne es comestible y sus pieles son utilizadas en la industria de la peletería (Wilson y Ruff, 1999). En México se cuentan con 4 géneros y 7 especies, dentro de las cuales las de mayor distribución en el territorio nacional son el mapache (*Procyon lotor*) y el coatí (*Nasua narica*; Ceballos y Oliva, 2005).

### 1.3.1 Mapaches (*Procyon lotor*)

Los mapaches son de tamaño mediano con cuerpo robusto y extremidades cortas, las extremidades posteriores son más largas que las anteriores (figura 3). Los mapaches se encuentran en regiones con temperaturas tropicales y frías, desde el sur de Canadá hasta Panamá. Han sido introducidos a los continentes Asiático y Europeo. En México se encuentra en todo el país en lugares con ríos y cuerpos de agua permanentes (Wilson y Ruff, 1999; Ceballos y Oliva, 2005). Son animales de hábitos crepusculares y nocturnos, con hábitos omnívoros, la materia vegetal constituye desde 48 hasta más del 70% de su dieta. Su consumo de materia animal consta principalmente de invertebrados, aunque también consumen peces, anfibios huevos de aves y reptiles, mamíferos pequeños y carroña de mamíferos mayores (Ceballos y Oliva, 2005). La piel del mapache es de buena

calidad para la peletería de gran importancia para Estados Unidos y algunos países de Europa. En México, comunidades rurales en la sierra de Tabasco, la zona costera de Campeche y la selva Lacandona en Chiapas los mapache son cazados para alimento y peletería (Guerra-Roa, 2000; Ceballos y Oliva, 2005; Mendez y Montiel, 2007; Keynes, 2008; Hernández-Lopez, 2013). Los mapaches han sido identificados como reservorios de enfermedades zoonóticas en Estados Unidos (EEUU) y Canadá, al mismo tiempo han sido utilizados como monitores ambientales de estas enfermedades y tóxicos (Bigler *et al*, 1975).



**Figura 3 Mapache (*Procyon lotor*), fotografía de un ejemplar en cautiverio del zoológico Miguel Álvarez del Toro, Chiapas.**

### **1.3.2 Coatíes (*Nasua narica*)**

Los coatíes son de tamaño mediano, cuerpo largo y esbelto con una cola larga generalmente erecta (figura 4). Se distribuyen desde el suroeste de EEUU hasta el norte de Colombia, en México se encuentra en casi todo el país excepto en la península de Baja California y parte del Altiplano (Wilson y Ruff, 1999; Ceballos y Oliva, 2005). Pasan gran parte del día buscando alimento en la tierra, se alimenta principalmente de frutos y de invertebrados, en menor proporción cazan vertebrados pequeños como anfibios, reptiles y roedores (Wilson y Ruff, 1999; Ceballos y Oliva, 2005). Son una especie importante para la cacería de subsistencia en localidades de la sierra de Tabasco, la zona costera de Campeche y la selva Lacandona en Chiapas, se les caza para alimento, medicina e incluso como animal de compañía (Guerra-Roa, 2000; Ceballos y Oliva, 2005; Mendez y Montiel, 2007; Keynes, 2008; Hernández-López, 2013). Los estudios acerca de sus patógenos son escasos, limitándose a algunos pocos trabajos y en la mayoría de los casos con pocos individuos.



**Figura 4** Coatíes (*Nasua narica*). (A) fotografía de ejemplares del Parque-Museo La Venta, Tabasco. (B) fotografía de un ejemplar del Parque Nacional El Tepozteco, Morelos.

#### 1.4 Antecedentes

Se han realizado diferentes estudios en prociónidos, principalmente en mapaches en EEUU, Canadá y Japón en los que se han encontrado animales positivos tanto a *Trichinella* spp como a *Toxoplasma gondii*. Por su parte, en coatíes se han reportado dos individuos en Panamá y el 42% de seropositivos a toxoplasmosis en el noreste mexicano (Jewell, 1972; Smith *et al*, 1985; Richardson *et al*, 1992; Hancock *et al*, 2005; Hwang *et al*, 2007; Kobayashi, 2007; Hill *et al*, 2008; Sato *et al*, 2011; Pozio, 2013; Rendón-Franco *et al*, 2014).

Los estudios en México han reportado *Trichinella spiralis* en humanos y animales domésticos, principalmente en cerdos, pero también se ha reportado en ratas, gatos, perros y caballos en diferentes estados del norte al centro del país (Ortega-Pierres, 2000; Padilla-Lopez, 1998; Ramírez-Valenzuela, 1985). En un estudio previo en el Parque-Museo de La Venta, en Villahermosa, Tabasco, se encontraron mapaches y coatíes seropositivos a *Trichinella* sp en el último de tres años que comprendía el estudio (2009-2011), detectando además variaciones estacionales, con una frecuencia del 6.89% y 14.28% para coatíes en verano e invierno respectivamente; y de 9.09% y 7.14% en mapaches, respectivamente (Godínez-García, 2012).

*Toxoplasma gondii* en México se ha reportado en humanos, animales domésticos y silvestres como cabras (*Capra aegagrus hircus*), borregos (*Ovis orientalis aries*), aves domésticas (*Gallus gallus*), caballos (*Equus ferus caballus*), cerdos (*Sus scrofa*), gatos, pumas (*Puma concolor*), ocelotes (*Leopardus pardalis*), venados (*Odocoileus virginianus*)

entre otras, en diferentes estados de la república (Alvarado-Esquivel *et al*, 2011, 2012 y 2014; Caballero-Ortega *et al*, 2012; Galván-Ramírez *et al*, 2012; Ortega-Pacheco *et al*, 2013; Dubey *et al*, 2013; Rendón-Franco *et al*, 2012, 2014a, 2014b; Olamendi-Portugal *et al*, 2012).

## **2 Justificación**

La triquinosis y la toxoplasmosis son zoonosis de gran importancia en salud pública que, a pesar de ser ocasionadas por parásitos diferentes, ambas comparten hospedadores y la vía de infección oral por el consumo de carne contaminada. En ambas zoonosis influyen diferentes factores para que la transmisión se lleve a cabo, como las costumbres de preparar y consumir la carne por su forma de cocción o ausencia de ella; así mismo la caza de animales silvestres para subsistencia y comercialización. A pesar de que la carne de los prociónidos no es tan demandada ni económicamente importante, existen comunidades rurales en los estados de Campeche, Chiapas y Tabasco en México que cazan a estos mamíferos para diferentes usos incluyendo alimento de subsistencia e incluso como medicamento, favoreciendo la persistencia de la infección de ambos parásitos.

Las actividades antropogénicas como la agricultura, la urbanización, la introducción de especies exóticas a los ecosistemas naturales (generalmente los animales domésticos), la fragmentación del hábitat, la cacería, entre otras, generan una estrecha interacción entre los animales silvestres, el ser humano, los animales domésticos y los animales sinantrópicos, permitiendo que los ciclos silvestres de las enfermedades, se mezclen con los ciclos domésticos. Esto quiere decir que los patógenos pueden pasar de un animal silvestre a un doméstico o al humano, y viceversa, generando problemas de enfermedades emergentes afectando la salud pública y la salud de la vida silvestre. En este sentido, los animales sinantrópicos que juegan un papel importante en los ciclos de ambos parásitos son los roedores y los gatos debido a la interacción que tienen con los asentamientos humanos y con los animales silvestres permitiendo el flujo de los parásitos de una población a otra.

Dada la importancia de estos dos parásitos se han estudiado las prevalencias de los parásitos en animales silvestres y sinantrópicos, sin embargo, han quedado del lado

estudios integradores que permitan vincular a los animales silvestres y sinantrópicos, además de evaluar los factores que pueden estar afectando la prevalencia de ambos parásitos.

Por lo anterior, el estudio epidemiológico de *Trichinella* sp y *Toxoplasma gondii* en poblaciones de prociónidos y animales sinantrópicos es importante ya que aportará información acerca de las frecuencias de los parásitos en poblaciones poco estudiadas, como son los prociónidos, información de la interacción entre estas poblaciones y permitirá determinar variables que afectan la frecuencia de ambos parásitos, sentando las bases para realizar análisis de riesgo y en su caso, manejos preventivos de las diferentes poblaciones.

### **3 Objetivos**

#### **3.1 Objetivo General**

Determinar la frecuencia de *Trichinella* sp y *Toxoplasma gondii* en poblaciones de prociónidos y animales sinantrópicos, así como la relación de depredación entre ellas en el Parque-Museo de La Venta, Tabasco.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Estandarizar los ELISAs indirectos contra los antígenos de *Trichinella* y de *Toxoplasma gondii* así como determinar un punto de corte.
- Determinar las frecuencias de muestras seropositivas a la presencia de anticuerpos contra *Trichinella* sp y *Toxoplasma gondii* en coatíes (*Nasua narica*), mapaches (*Procyon lotor*), roedores (*Rattus* sp y *Mus musculus*) y gatos (*Felis catus*) mediante ELISA.
- Determinar las frecuencias de larvas musculares de *Trichinella* sp en tejido muscular de ratas (*Rattus* sp) y ratones (*Mus musculus*).
- Analizar las frecuencias de ambos parásitos comparándolas por especie, sexo, edad y temporada de la captura.
- Determinar relaciones de depredación mediante la identificación de los hábitos alimenticios de los prociónidos a través de los restos no digeridos en las excretas.

## 4 Material y Métodos

### 4.1 Estrategia experimental.

La figura 5 muestra la estrategia general de trabajo para este estudio, iniciando con la captura de los prociónidos, gatos y roedores para la posterior toma de muestras y su respectivo procesamiento.

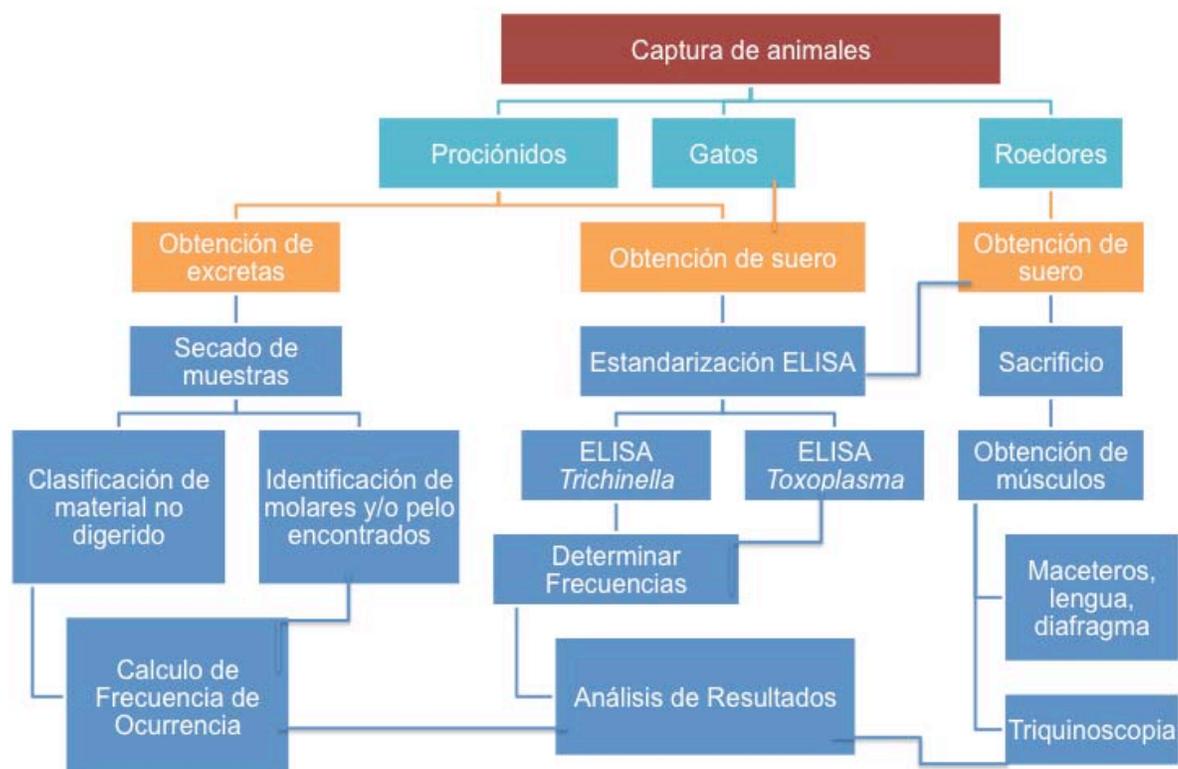
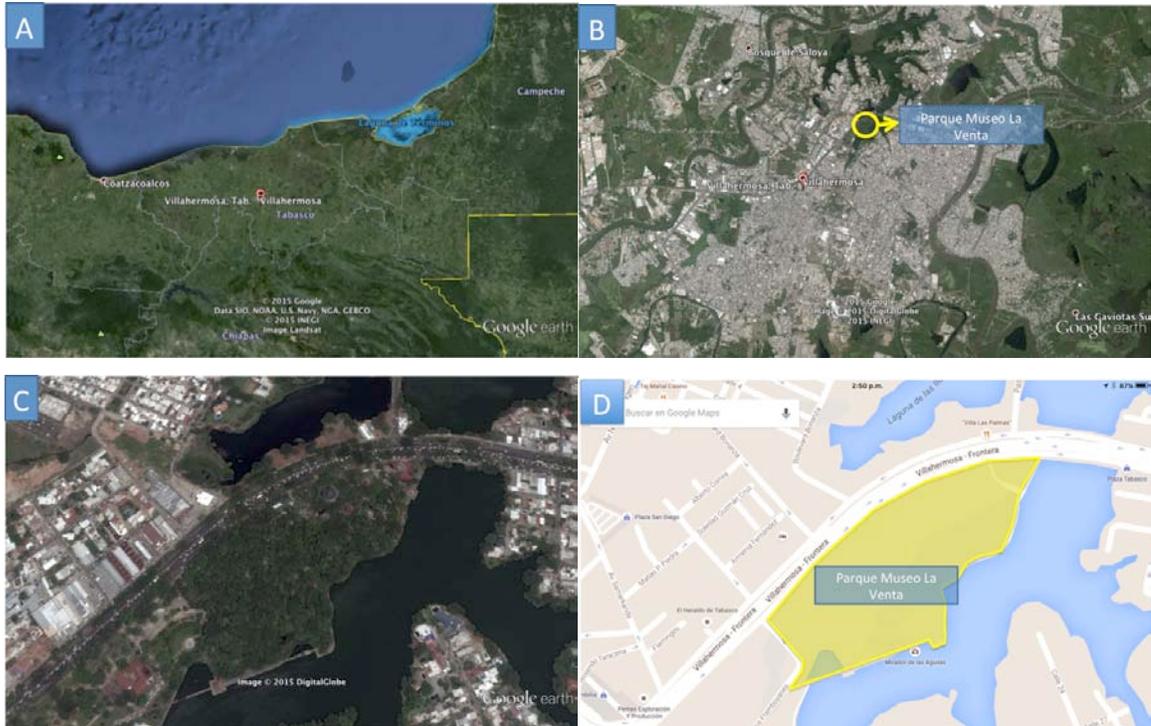


Figura 5 Flujograma de estrategia general de trabajo.

### 4.2 Área de estudio

El Parque-Museo de La Venta está ubicado en la parte norte de la ciudad de Villahermosa en el estado Tabasco. El parque colinda al norte con el boulevard Adolfo Ruiz Cortines, al sureste con la Laguna de las Ilusiones, al este con el Museo de Historia Natural y al oeste con el parque recreativo Tomas Garrido Canabal. El parque cubre una superficie de 6.8 hectáreas, de las cuales 4.3 están cubiertas de bosque con vegetación secundaria e introducida con elementos de selva alta y mediana subperennifolia (figura 6). Actualmente el parque exhibe piezas arqueológicas de la cultura Olmeca y un área de zoológico con fauna del estado de Tabasco. Dentro del parque se encuentran especies de fauna

silvestre en estado de semi cautiverio teniendo acceso a las instalaciones circundantes. Entre los mamíferos que habitan en el parque se encuentran monos aulladores (*Alouatta palliata*), ardillas (*Sciurus aureogaster* y *S. deppei*), coatíes (*Nasua narica*) y mapaches (*Procyon lotor*). Adicionalmente hay registros de animales sinantrópicos como ratas, (*Rattus sp*) ratones (*Mus musculus*) y gatos (*Felis catus*).



**Figura 6** Ubicación del área de estudio. Fotografía satelital del estado de Tabasco y la ubicación de Villahermosa (A); Ciudad de Villahermosa, en el círculo amarillo se encuentra el Parque-Museo la Venta (B); fotografía satelital del Parque-Museo La Venta (C); mapa indicando la ubicación del Parque-Museo la Venta en amarillo.

### 4.3 Captura y contención de animales

Se realizaron cuatro capturas de los animales en el periodo comprendido del 2012 al 2013, cada 6 meses durante el verano e invierno de cada año. Cada muestreo con una duración de 10 días. Las autoridades del parque permitieron la captura y el manejo de los animales, posterior al manejo, los prociónidos y los gatos fueron regresados al área de captura por disposición de las mismas autoridades. Este proyecto fue aprobado por el Subcomité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales Experimentales (SICUAE) registrado con el número de protocolo MC-2014-19.

Los mapaches y los gatos fueron capturados mediante trampas de caja Tomahawk® (Tomahawk Live Trap, Wisconsin, EEUU) colocadas con una separación de 100 metros entre ellas y cebadas con sardina. Los coatíes fueron capturados mediante contención química a distancia con dardos y cerbatana. Los roedores fueron capturados utilizando trampas de caja Sherman® (H.B. Sherman Traps, Inc. Florida, EEUU) colocadas a 10 metros de distancia entre ellas y cebadas con avena, crema de cacahuete y alimento concentrado para herbívoros.

La contención química en prociénidos se realizó con una combinación de Ketamina (Anesket®, PISA, Jalisco, México) y Xilacina (Procin Equus®, PISA, Jalisco México) a una dosis de 10 mg/kg y 0.5 mg/kg respectivamente. En el caso de los coatíes, se aplicó en una sola administración por vía intramuscular (IM) a distancia y en los mapaches en los miembros pélvicos dentro de las trampas; en los gatos se utilizó Ketamina, Acepromacina y Tramadol a dosis de 20 mg/kg, 0.5 mg/kg y 2 mg/kg, respectivamente en una administración única vía IM en los miembros pélvicos dentro de las trampas. En los roedores se empleó anestesia inhalada impregnando una torunda de algodón con Isoflurano (Sofloran®, PISA, Jalisco, México), se colocaron las trampas dentro de bolsas herméticas junto con la torunda por 2 a 3 minutos hasta que los animales fueran inducidos.

Los prociénidos y los gatos fueron identificados mediante un tatuaje permanente para evitar las recapturas durante el mismo periodo de muestreo.

#### **4.4 Obtención de muestras biológicas**

##### **4.4.1 Muestras de suero**

Se colectaron 5 mL de sangre de los prociénidos y gatos por individuo mediante punción de la vena yugular, en tubos para muestra sanguínea Vacutainer® (Becton Dickinson, Estado de México, México). En roedores se realizó punción cardiaca para obtener de 1 a 5 mL por individuo dependiendo el tamaño. Las muestras se almacenaron en refrigeración a 4°C y posteriormente se centrifugaron para obtener el suero, mismo que fue almacenado en congelación a -20°C hasta su uso.

#### 4.4.2 Músculos de roedores

Posterior a la punción cardíaca, los roedores fueron sacrificados con una sobredosis de anestesia utilizando Pentobarbital sódico (Anestesal® Pfizer, Distrito Federal, México) a una dosis de 200 mg/kg vía intraperitoneal. Posteriormente se realizó una incisión por línea media, se desplazaron las vísceras hacia caudal y se extrajo el diafragma haciendo cortes alrededor de éste. Se retiró la piel sobre los maceteros para extraer estos músculos mediante un corte longitudinal; por último, se extrajo la lengua cortando en la base de la misma (Gajadhar *et al*, 2009). Los músculos fueron almacenados en tubos de 1.5 mL para microcentrífuga (Eppendorf®) en refrigeración a 4°C.

#### 4.4.3 Excretas de prociénidos

Las muestras se obtuvieron directamente del recto de los prociénidos capturados de tal forma que se pudiera identificar de qué individuo provenía la muestra, se conservaron en tubos de plástico de 15 mL con formol al 4%, debido a su utilización en un estudio paralelo de evaluación de endoparásitos (Muñoz-García, 2009).

### 4.5 Ensayo Inmunoenzimático para *Trichinella sp*

#### 4.5.1 Antígeno de excreción-secreción de *Trichinella spiralis*

El antígeno de *Trichinella* se produjo en el laboratorio de Inmunoparasitología del InDRE a partir de los productos de excreción-secreción (PES) de larvas musculares de *T. spiralis* de la cepa MSUS/ME/92/CM-92 obtenidas mediante digestión artificial del tejido muscular de ratas de laboratorio de la cepa Wistar previamente infectadas como se describe anteriormente (de la Rosa-Arana, 2012).

#### 4.5.2 ELISA en microplaca para prociénidos

Estandarización del ELISA.

Las placas para ELISA (Costar® 3590, Corning Incorporated, NY, EEUU) fueron sensibilizadas con 50 µL del antígeno de excreción-secreción producido como se describe anteriormente (de la Rosa-Arana, 2012) a una concentración de 5 µg/mL diluido en amortiguador de carbonatos pH 9.6 durante toda la noche a 4°C. Posteriormente, la placa fue lavada 5 veces con amortiguador de fosfatos salino (PBS) con Tween 20 al 0.05% (PBS-T) pH 7.2, repitiendo este proceso después de cada paso. Los pozos fueron bloqueados con 200 µL de albumina sérica bovina (ASB) al 1% en PBS-T y se incubaron

por una hora a 37.7°C. Para estandarizar la técnica en estas especies, se llevaron a cabo diluciones dobles seriadas de los sueros 1:125 1:250 y 1:500, utilizando 100 µL/pozo y se incubaron una hora a 37.7°C. De igual forma, las muestras fueron desafiadas a diferentes diluciones dobles del conjugado Proteína A peroxidasa (SIGMA-Aldrich Chemie, St. Louis Mo, EEUU) desde 1:1000 hasta 1:32000 (cuadro 1) con 100 µL/pozo y se incubaron por una hora a 37.7°C. La reacción se puso en evidencia con 100 µL por pozo de una solución de cromógeno preparada con 10 mL de solución de citratos, 5 mg de Orto-fenilendiamina (OPD) y 7 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%, se incubó en obscuridad a temperatura ambiente por 10 minutos y la reacción fue detenida agregando a cada pozo 50 µL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N. Se utilizó un lector de placas para ELISA (Thermo Scientific Multiskan FC, Shanghai, China) a una longitud de onda de 492 nm.

**Cuadro 1** Diseño de la titulación del conjugado Proteína A peroxidasa y del suero de prociönidos.

Dilución del conjugado	Dilución del suero		
1:1000	1:125	1:250	1:500
1:2000	1:125	1:250	1:500
1:4000	1:125	1:250	1:500
1:8000	1:125	1:250	1:500
1:16000	1:125	1:250	1:500
1:32000	1:125	1:250	1:500

A partir de las absorbancias obtenidas, se calculó la diferencia máxima entre un testigo negativo con el testigo positivo y se eligió la dilución del suero 1:250 con dilución del conjugado de 1:2000 para los coatíes y mapaches (anexos 4 y 5). El objetivo de realizar la estandarización en prociönidos fue comprobar las condiciones y resultados anteriormente descritos para estas especies (Godínez-García, 2012). Una vez estandarizadas las diluciones de suero y conjugado, se analizaron todas las muestras de los prociönidos.

#### **4.5.3 ELISA en microplaca para gatos**

##### Estandarización del ELISA

Para estandarizar la técnica se llevaron a cabo diluciones dobles seriadas de los sueros de los gatos desde 1:100 hasta 1:1600, utilizando 100 µL/pozo y se incubaron una hora a 37.7°C. El conjugado que se utilizó fue específico de especie anti-IgG de gato (Abcam, Massachusetts, EEUU) a una dilución de 1:1000 con 100 µL/pozo y se incubó por una hora a 37.7°C. La dilución que se eligió para el suero fue de 1:400 y para el conjugado 1:1000 (anexo 6). El resto de la metodología del ELISA fue idéntico al ELISA para los prociñidos. Una vez estandarizadas las diluciones de suero, se analizaron todas las muestras de los gatos.

#### **4.5.4 ELISA en microplaca para ratas y ratones.**

Las muestras fueron diluidas 1:1000 para ratas y 1:500 para ratones en PBS-T y se incubaron a 37°C por 1 hora. La reacción antígeno-anticuerpo fue revelada con un conjugado específico de especie anti-IgG de rata (SIGMA-Aldrich Chemie, St. Louis Mo, EEUU) y anti-IgG de ratón (Invitrogen, CA, EEUU) 1:2000 para ambos colocando 100 µL por pozo e incubando a 37°C por 1 hora (de la Rosa-Arana, 2012). El resto de la metodología del ELISA fue idéntico a los ensayos de los prociñidos y los gatos.

### **4.6 Ensayo Inmunoenzimático para *Toxoplasma gondii***

#### **4.6.1 Antígeno de extracto crudo de *Toxoplasma gondii***

El antígeno de *T. gondii* es producido en el Laboratorio de Inmunología Experimental del INP con taquizoítos de la cepa RH obtenidos de ratones Balb/c previamente infectados; los taquizoítos son lavados y sonicados para obtener sus proteínas membranales e intracelulares como fue descrito por Xicoténcatl-García (2014).

#### **4.6.2 ELISA en microplaca para prociñidos**

##### Estandarización del ELISA.

Se realizó un ELISA directo para desafiar tres conjugados comerciales: anti-IgG de perro, Proteína A (de *Staphylococcus aureus*) y Proteína G (de *Streptococcus pyogenes*), y poder comparar cual de los tres tenía mayor afinidad a los anticuerpos totales de los prociñidos. Las placas para ELISA (Maxisorb, Nunc Thermo Scientific, Roskilde, Denmark) fueron sensibilizadas con 100 µL/pozo de suero diluido a partir de 1:25 y

diluciones seriadas hasta 1:200 en amortiguador de carbonatos pH 9.6 y se incubaron toda la noche a 4°C. La placa fue lavada con PBS-T repitiendo este proceso después de cada paso. Posteriormente, la placa fue bloqueada con 200 µL/pozo de ASB al 1% en PBS-T y se incubó por 30 minutos a 37.7°C. Se llevaron a cabo las diluciones de los conjugados Proteína A y G a partir de 1:2500, 1:5000 y 1:10000. El conjugado anti-Dog IgG fue diluido 1:2500 y 1:5000. Cada dilución de suero fue enfrentada a las diferentes diluciones de los conjugados (cuadro 2).

**Cuadro 2 Diseño de a placa para ELISA para enfrentar los sueros a diferentes diluciones con las diluciones de los conjugados. M1-M3 representan Muestras diferentes.**

Dilución suero	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
1:25	Proteína A			Proteína A			Proteína A			Anti Dog IgG		
1:50	1:2500			1:5000			1:10000			1:2500		
1:100												
1:200												
1:25	Proteína G			Proteína G			Proteína G			Anti Dog IgG		
1:50	1:2500			1:5000			1:10000			1:5000		
1:100												
1:200												

La reacción se evidenció con 100 µL/pozo de una solución sustrato cromógeno incubada a temperatura ambiente por 10 minutos. La reacción se detuvo con 50 µL/pozo de ácido sulfúrico 1N. Se utilizó un lector de ELISA (Tuner Biosystems 9300-010, CA, EEUU) con una longitud de onda de 490 nm y se obtuvieron los resultados con el programa Modulus™ Microplate Reader. Se comparó la Proteína A peroxidasa, Proteína G peroxidasa y anti-IgG de perro. La proteína G no reaccionó con los sueros de mapaches ni de coatíes; el anti-IgG de perro aunque si reaccionó, las absorbancias fueron bajas comparadas con las de la Proteína A peroxidasa (anexos 7 y 8). Una vez elegido como conjugado único a la Proteína A peroxidasa, se realizaron dos ensayos directo utilizando diluciones dobles seriadas del suero de 1:200 hasta 1:25600. Para uno de los ensayos se utilizo la dilución del conjugado 1:5000 y para el segundo 1:10000 con la finalidad de

elegir la dilución idónea del conjugado para los siguientes ensayos (anexo 9). Se eligió la dilución 1:10000 de la Proteína A peroxidasa.

Posteriormente se realizó un ELISA indirecto para estandarizar la dilución del suero. Las placas para ELISA fueron sensibilizadas con 100 µL por pozo de antígeno de extracto crudo de la cepa RH de *Toxoplasma gondii* a una concentración de 2 µg/mL diluido en amortiguador de carbonatos pH 9.6, toda la noche a 4°C (Caballero-Ortega *et al*, 2014). Posteriormente, la placa fue lavada 5 veces con PBS-T repitiendo este proceso después de cada paso. Los pozos fueron bloqueados con 200 µL de ASB al 1% en PBS-T e incubados por 30 minutos a 37°C. Para estandarizar la técnica en estas especies, se llevaron a cabo diluciones dobles seriadas de los sueros desde 1:200 hasta 1:3200 y se incubaron toda la noche a 4°C. Se empleó como conjugado la Proteína A peroxidasa (SIGMA-Aldrich Chemie, St. Louis Mo, EEUU) 100 µL/pozo a 1:10000 e incubando a 37°C por 2 horas. La reacción se evidenció con una solución de cromógeno preparada con 10 ml de solución de citratos, 5 mg de Orto-fenilendiamina (OPD) y 4.5 µL de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 30%, se incubó en obscuridad y a temperatura ambiente por 10 minutos. La reacción se detuvo agregando a cada pozo 50 µL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N. Se utilizó un lector de placas para ELISA (Turner Biosystems 9300-010 Modulus Microplate Multimode Reader, CA, EEUU) a una longitud de onda de 490 nm. Se optó por usar la dilución de suero 1:400 tanto para mapaches como para coatíes (anexo 10). Una vez que se estandarizó la dilución del suero, se analizaron por duplicado todas las muestras como se describió previamente y repitiendo el ensayo para comparar diferencias entre ensayos.

#### **4.6.3 ELISA en microplaca para ratas**

Estandarización del ELISA.

Se realizó un ELISA indirecto para estandarizar la dilución de los sueros. Se llevaron a cabo diluciones dobles seriadas de los sueros desde 1:100 hasta 1:800 y se incubarán toda la noche a 4°C. Se empleó un conjugado específico de especie anti-IgG de rata (SIGMA-Aldrich Chemie, St. Louis Mo, EEUU) 100 µL/pozo en una dilución 1:1000 y se incubó a 37°C por 2 horas (anexo 11). El resto de la metodología del ELISA fue idéntico al ELISA para los prociñidos. El ensayo se repitió dos veces para comparar la diferencias entre ensayos.

#### 4.6.4 ELISA en microplaca para gatos y ratones.

Las muestras se colocaron por duplicado utilizando las diluciones 1:100 y 1:200 para ratones y gatos respectivamente. Las placas se incubarán toda la noche a 4°C. Se empleó un conjugado específico de especie anti-IgG de ratón (SIGMA-Aldrich Chemie, St. Louis Mo, EEUU) y anti-IgG de gato (Abcam, Massachusetts, EEUU) respectivamente, con 100 µl/pozo en una dilución 1:1000 y se incubó a 37°C por 2 horas (Ramírez-Pérez L, 2014; Xicoténcatl-García L, 2014). El resto de la metodología del ELISA fue idéntico a los ensayos para los prociñidos y los gatos. Los ensayos se repitieron dos veces para comparar la diferencias entre ensayos.

#### 4.7 Cálculo del Punto de Corte

El punto de corte fue calculado para cada especie mediante el uso de gráficos de distribución de frecuencias de las absorbancias, determinado dos posibles poblaciones por especie: absorbancias bajas y absorbancias altas como se describió previamente (Wouda *et al*, 1999; Rendón-Franco *et al*, 2014a). Con ello, se decidió elegir un punto de inflexión en las gráficas para separar estas posibles poblaciones y de esta manera se calculó el punto de corte con la siguiente formula:

$$PC = \mu + 3\sigma$$

Donde PC es el punto de corte,  $\mu$  es la media de los sueros de baja absorbancia y  $\sigma$  es la desviación estándar de los mismos. Todos las muestras por arriba del punto de corte, se consideraron como serológicamente positivas. Se graficaron las absorbancias de las muestra de los prociñidos y de los gatos como se menciona anteriormente. Para los ELISAs de *Toxoplasma* se realizaron dos ensayos por especie (anexos 12-14).

A los ensayos que se hicieron por duplicado, se realizaron gráficas de regresión lineal para correlacionarlos señalando el punto de corte para cada uno de ellos; de esta forma se comparó el número de muestras serológicamente positivas a cada parásito (anexos 15-18). Así mismo, para los ensayos que se realizaron por duplicado, se calculó el índice de reactividad (IR) de la prueba, dividiendo el valor de la absorbancia obtenida en cada muestra entre el punto de corte calculado para cada especie; si el valor obtenido era mayor a 1.1 se consideró como positivo. De esta forma se compararon los resultados

entre ensayos y en el caso de las muestras que tuvieron resultados discordantes, se realizó un tercer ensayo para definir el resultado.

Para los ELISAs de *Trichinella* en roedores se utilizaron controles negativos y positivos infectados en el laboratorio. De igual forma se graficaron las frecuencias de las absorbancias y en el caso de las ratas, se graficó la correlación entre ensayos (anexo 19). Para los ELISAs de *Toxoplasma* en ratones se utilizaron controles negativos y positivos de esta especie obtenidos de ensayos previos de infección; los resultados de las muestras de las ratas fueron comparados con una gráfica de correlación entre ensayos (anexo 20).

#### **4.8 Triquinoscopia**

Los músculos colectados fueron cortados en fragmentos de 1mm de grosor, se colocaron en láminas porta-objetos y posteriormente se comprimieron entre las dos láminas. Se observaron en un microscopio compuesto en aumento de 10x buscando en “zig-zag” (Ramírez-Valenzuela, 1981; Gajadhar *et al*, 2009).

#### **4.9 Análisis de hábitos alimenticios**

Una vez en el laboratorio, las excretas se colocaron en bolsas de papel para secarlas a temperatura ambiente, posteriormente se disgregaron de forma manual y los restos no digeridos se separaron con ayuda de un microscopio estereoscópico. Los restos fueron clasificados en los grupos: insecto, materia vegetal, mamífero, pescado, caracol, cascarón de huevo, basura; enseguida se calculó la frecuencia de ocurrencia de cada ingrediente. Los restos de mamíferos fueron identificados comparando con catálogos fotográficos de pelo y dientes de colecciones ya existentes y de animales del mismo parque (Muñoz-García, 2009; Juárez y Varas, 2013).

#### **4.10 Análisis de datos**

A partir del punto de corte, se obtuvieron las frecuencias de animales serológicamente positivos para ambos parásitos mediante la fórmula:

$$F = \frac{n^{\circ} \text{Positivos}}{n^{\circ} \text{Total}} \times 100$$

Donde F es la frecuencia, **nºPositivos** son los animales serológicamente positivos de una especie animal y **nºTotal** es el total de la población de muestras de esa especie.

Se realizó una tabla de contingencia con ayuda del programa SPSS 21.0 y se utilizó la prueba de Chi cuadrada ( $X^2$ ) para determinar homogeneidad o heterogeneidad entre las diferentes poblaciones de animales. Se comparó entre especie, sexo, edad y temporada de captura para cada una de las parasitosis, para buscar diferencias entre estas.

Para los resultados obtenidos de la identificación de los componentes en la dieta a partir de excretas, se obtuvieron frecuencias de ocurrencia (FO) de los ingredientes consumidos. La FO es expresada como el número de veces que se está presente un componente de la dieta en el total de excretas recolectadas mediante la fórmula:

$$FO = (ni / N)100$$

Donde “ni” es el número de excretas donde se encontró el ingrediente y “N” es el total de excretas recolectadas (Álvarez y González, 2005; Muñoz-García, 2009; Juárez y Varas, 2013). Se utilizó la prueba de  $X^2$  para determinar diferencias entre las poblaciones de prociénidos con las frecuencias de ocurrencia de los ingredientes.

## 5 Resultados

### 5.1 Muestras Biológicas

Durante el periodo de estudio fueron capturados un total de 189 prociénidos, 25 roedores y un gato, de los cuales se obtuvieron muestras sanguíneas y sueros para su posterior análisis. El número de muestras de suero analizadas se detalla en el cuadro 5. Fueron agregadas 16 muestras de gatos que pertenecían a un banco de sueros de animales capturados en el parque previamente analizados.

Cuadro 3 Número de especies capturadas y número de muestras de suero analizadas.

Especie	Nº de individuos capturados	Nº de muestras de suero
Coatí	123	123
Mapache	66	66
Rata	19	18
Ratón	6	6
Gato	1	17

## 5.2 Punto de corte

Los cuadros 6 y 7 muestran los valores del promedio de las absorbancias de las muestras consideradas como bajas, la desviación estándar y el punto de corte para cada ensayo.

Cuadro 4 Promedio de las muestras de absorbancia baja en ELISA de *Trichinella*, su desviación estándar (DS) y el punto de corte calculado (PC).

<i>Trichinella</i>	Promedio	DS	PC
Coatí	0.078	0.061	0.259
Mapache	0.241	0.080	0.481
Gato <0.15	0.037	0.034	0.140
Gato <0.2	0.069	0.033	0.169

Cuadro 5 Promedio de las muestras de absorbancia baja en ELISA de *Toxoplasma*, su desviación estándar (DS) y el punto de corte calculado (PC).

<i>Toxoplasma</i>	Promedio	DS	PC
Coatí <0.21	0.132	0.048	0.275
Coatí <0.18	0.117	0.040	0.238
Mapache <0.3	0.188	0.057	0.359
Mapache <0.3	0.241	0.080	0.481
Gato <0.12	0.033	0.025	0.108
Gato <0.09	0.024	0.019	0.081

## 5.3 Frecuencias de Seropositivos

Con base en las gráficas de las absorbancias, el punto de corte y el IR calculado, se agruparon los individuos seronegativos, seropositivos y se calcularon las frecuencias para cada parásito en las diferentes poblaciones; la frecuencia total de seropositivos para *Trichinella* fue de 23.81% (55/231) de la cual los mapaches tuvieron 36.36%, los coatíes 24.39%, los gatos 5.88% y las ratas y ratones 0%. La frecuencia total de seropositivos a *Toxoplasma gondii* fue de 10.39% (24/231) de la cual los coatíes tuvieron 13.01%, los mapaches 7.68%, los ratones 16.67%, los gatos 11.76 y las ratas 0% (cuadro 8). Se encontró diferencia significativa en la frecuencia de seropositivos a *Trichinella* sp. entre las diferentes especies analizadas ( $X^2=16.581$ ,  $gl=4$ ,  $p=0.002$ ), los prociñidos presentan

mayor frecuencias que los gatos y roedores, sin embargo no se encontró evidencia para decir que hay diferencias en las frecuencias de seropositivos a *T. gondii* ( $X^2=3.958$ ,  $gl=4$ ,  $p=0.412$ ).

**Cuadro 6 Relación de muestras positivas y negativas, y la frecuencia de animales seropositivos a *Trichinella* y *Toxoplasma*, (\*) las frecuencias de *Trichinella* en los prociónidos fueron diferentes estadísticamente con el resto de los animales.**

Especie	<i>Trichinella</i>			<i>Toxoplasma</i>		
	Positivos	Total	Frecuencia (%)	Positivos	Total	Frecuencia (%)
<b>Coatí</b>	30	123	*24.39	16	123	13.01
<b>Mapache</b>	24	66	*36.36	5	66	7.58
<b>Gato</b>	1	17	5.88	2	17	11.76
<b>Rata</b>	0	19	0	0	19	0
<b>Ratón</b>	0	6	0	1	6	16.67
<b>Total</b>	55	231	23.81	24	231	10.39

### 5.3.1 Frecuencia de seropositivos a *Trichinella sp* de prociónidos.

Se comparó la frecuencia de seropositividad de las poblaciones de coatíes y de mapaches entre la temporada de captura (verano y primavera); sin embargo no se encontró evidencia para decir que la estación del año influye sobre la frecuencia de presentación del parásito con 21.66% (13/60) en verano, 26.98% (17/63) en invierno ( $X^2=0.471$ ,  $gl=1$ ,  $p=0.492$ ) para coatíes, mientras que en mapaches las frecuencias fueron de 48.28% (14/29) en verano y 27.03% (10/37) en invierno ( $X^2=3.172$ ,  $gl=1$ ,  $p=0.075$ ) para mapaches. No se encontró diferencia significativa en la frecuencia con el sexo en ninguna de las dos poblaciones: 22.73% (15/66), 26.32% (15/57) hembras y machos de coatíes respectivamente ( $X^2=0.214$ ,  $gl=1$ ,  $p=0.644$ ); 41.46% (17/41), 28% (7/25) hembras y machos de mapache respectivamente ( $X^2=1.217$ ,  $gl=1$ ,  $p=0.270$ ). De igual forma, no se encontró evidencia para decir que la edad influye sobre la frecuencia: 22.02% (24/109), 42.86% (6/14) adultos y juveniles de coatíes respectivamente ( $X^2=2.921$ ,  $gl=1$ ,  $p=0.087$ ); 39.22% (20/51), 26.67% (4/15) adultos y juveniles de mapaches respectivamente ( $X^2=0.789$ ,  $gl=1$ ,  $p=0.374$ ; cuadro 9).

**Cuadro 7 Comparación de los resultados de coatíes y mapaches seropositivos a *Trichinella sp.* por estación del año de captura, sexo y edad de las especies.**

Variable	Coatíes			Mapaches		
	Positivo	Total	Frecuencia positivos (%)	Positivo	Total	Frecuencia positivos (%)
<b>Estación del año</b>						
<b>Verano</b>	13	60	21.66	14	29	48.28
<b>Invierno</b>	17	63	26.98	10	37	27.03
<b>Sexo</b>						
<b>Hembra</b>	15	66	22.73	17	41	41.46
<b>Macho</b>	15	57	26.32	7	25	28
<b>Edad</b>						
<b>Adulto</b>	24	109	22.02	20	51	39.22
<b>Juvenil</b>	6	14	42.86	4	15	26.67

### 5.3.2 Frecuencia de seropositivos a *Toxoplasma gondii* en Prociónidos.

Se compararon las frecuencias de seropositividad a *T. gondii* en las poblaciones de coatíes y mapaches por estación del año, sexo y edad. No se encontró evidencia para decir que hay diferencia entre estación del año: 16.67% (10/60), 9.52% (6/63) verano e invierno ( $X^2=1.386$ ,  $gl=1$ ,  $p=0.239$ ) para coatíes respectivamente; 10.34% (3/29) y 5.41% (2/37) verano e invierno ( $X^2=0.566$ ,  $gl=1$ ,  $p=0.452$ ) para mapaches respectivamente. No se encontró diferencia significativa en la frecuencia con el sexo: 10.61% (7/66), 15.79% (9/57) hembras y machos ( $X^2=0.726$ ,  $gl=1$ ,  $p=0.394$ ) de coatíes respectivamente; 9.76% (4/41) y 4% (1/25) hembras y machos ( $X^2=0.735$ ,  $gl=1$ ,  $p=0.391$ ) de mapaches respectivamente. No se encontró evidencia para decir que hay diferencia entre la edad: 12.84% (14/109), 14.29% (2/14) adultos y juveniles ( $X^2=0.023$ ,  $gl=1$ ,  $p=0.880$ ) de coatíes respectivamente; 7.84% (4/51) y 6.67%(1/15) adultos y juveniles ( $X^2=0.023$ ,  $gl=1$ ,  $p=0.880$ ) de mapaches respectivamente (Cuadro 10).

Cuadro 8 Comparación de los resultados de coatíes y mapaches seropositivos a *Toxoplasma gondii* por estación del año de captura, sexo y edad de las especies.

Variable	Coatíes			Mapaches		
	Positivo N=16	Total N=123	Frecuencia positivos (%)	Positivo N=5	Total N=66	Frecuencia positivos (%)
<b>Estación del año</b>						
Verano	10	60	16.67	3	29	10.34
Invierno	6	63	9.52	2	37	5.41
<b>Sexo</b>						
Hembra	7	66	10.61	4	41	9.76
Macho	9	57	15.79	1	25	4
<b>Edad</b>						
Adulto	14	109	12.84	4	51	7.84
Juvenil	2	14	14.29	1	15	6.67

#### 5.4 Triquinoscopias

Los tejidos de diafragma, músculos maceteros y lenguas de los 25 roedores fueron negativas a la presencia de larvas musculare de *Trichinella*.

#### 5.5 Hábitos alimenticios

Se obtuvieron un total de 134 excretas de coatí y 33 de mapache. Los ingredientes identificados fueron insectos, materia vegetal, pelo de mamífero, escamas de pescado, cascarón de huevo, caracol, basura. Los últimos 3 ingredientes se manejaron como “Otro” ya que su frecuencia es muy baja (cuadro 11).

Cuadro 9 Frecuencia de ocurrencia de los ingredientes en las excretas, la FO del ingrediente mamífero tuvo diferencia significativa en mapaches (\*).

Ingrediente	Coatí n=134	FO	Mapache n=33	FO
Insecto	96	71.64	21	63.63
Materia Vegetal	80	59.70	24	72.72
Mamífero	64	47.76	29	87.87*
Pescado	12	8.95	4	12.12
Otro	29	21.64	9	27.27

Los ingredientes con mayor frecuencias fueron los insectos, la materia vegetal y los mamíferos, en este último se encontró pelo perteneciente a las mismas especies capturadas. La presencia de este último ingrediente fue significativo entre los prociónidos con mayor frecuencia en los mapaches ( $X^2=16.682$ ,  $gl=1$ ,  $p=0.000$ ). No se encontró evidencia significativa para los demás ingredientes ( $p>0.05$ ).

## 6 Discusión

El inmunoensayo empleado en este estudio fue el ELISA, una técnica altamente sensible que permite tamizar varios individuos y especies al mismo tiempo. Esta técnica permite el uso de la Proteína A peroxidasa como conjugado, siendo especialmente útil cuando no se cuenta con un conjugado específico de especie, como es el caso de los coatíes y los mapaches. Este trabajo es la continuación de un estudio previo en el Parque-Museo La Venta, donde se encontró la presencia de anticuerpos contra *Trichinella* en coatíes y mapaches (Godínez-García, 2012), pero es el primer ensayo que se realiza para estos animales en el estado de Tabasco para *Toxoplasma gondii*.

### 6.1 *Trichinella* sp en prociónidos

Los estudios de *Trichinella* en Europa reportan prevalencias del 0.2% hasta el 45.5% en una gran variedad de familias de carnívoros incluyendo la Canidae, Ursidae, Mustelidae y Felidae (Hurníková *et al*, 2007; Blaga *et al*, 2009; Frey *et al*, 2009; Zimmer *et al*, 2009; Airas *et al*, 2010). Mientras que los estudios en América han reportado las mismas familias de carnívoros con prevalencias que van del 1.2% hasta 76% (Pozio *et al* 2001; Hill *et al*, 2003; Reichard *et al*, 2008; Gajadhar y Forbes, 2010; Larter *et al*, 2011, Reichard *et al*, 2015) Las prevalencias tan variables entre familias de carnívoros están asociadas principalmente a la dieta ya que la alimentación de algunas especies del orden Carnívora es más estricta al consumo de carne que en otras especies, a la distribución geográfica de los animales y a la disponibilidad de alimentos (Gajadhar y Forbes, 2010; Larter *et al*, 2011; Bateman y Fleming, 2012). Las frecuencias reportadas en el presente estudio se encuentran dentro de los rangos que se han reportado en los animales de la familia Carnívora, 24.39% y 36.36% en coatíes y mapaches respectivamente.

El prociónido del que existen más reportes de la presencia de *Trichinella* es el mapache. En Tennessee y Kentucky, EEUU se realizó un estudio buscando helmintos en mapaches

entre 1980 y 1981, mediante la digestión artificial de tejido muscular se encontró que el 33.3% de los animales analizados fueron positivos a la presencia del parásito (Smith *et al*, 1985). Entre 1989 y 1990 se hizo un estudio similar en Arkansas, reportando una prevalencia del 7% (Richardson *et al*, 1992). Entre los años 2005 y 2006 en Wisconsin, se encontró una frecuencia del 17% detectada mediante una prueba comercial de ELISA y por digestión artificial del tejido muscular se encontró que el 19% de los mapaches atrapados estaban infectados con la larva del parásito identificándolo posteriormente como *Trichinella murrelli* (Hill *et al*, 2008). Durante el 2003 y 2006 se capturaron mapaches invasores en diferentes provincias de Japón reportando 6% de prevalencia del parásito (Kobayashi *et al*, 2007).

Por otra parte, el único reporte de *Trichinella* en coatíes es el estudio de Godínez-García (2012) del 2009 al 2011 en el Parque-Museo La Venta en Tabasco, México, encontrando frecuencias de 4.16% en coatíes y 3.38% en mapaches; cabe mencionar que los hallazgos fueron encontrados únicamente en el tercer año del estudio y no se buscó la presencia del nematodo. En el presente estudio se encontraron frecuencias de seropositivos del 24.39% y 36.36% en coatíes y mapaches respectivamente, siendo estas frecuencias altas comparándolas con los estudios anteriormente mencionados, con excepción del estudio de Smith *et al* (1985), donde encontraron una prevalencia del 33.3% en los mapaches analizados.

Los resultados pueden estar asociadas al impacto humano en el ambiente lo que contribuye a la fragmentación del hábitat impidiendo la migración de las especies a otras áreas y el cambio de alimentación en las mismas. Hurníková y Dubinský (2009) encontraron un incremento en la prevalencia de *Trichinella* en zorros rojos (*Vulpes vulpes*) de 4.9% en el año 2000 hasta un 20.5% en el 2007 en el centro y este de Eslovaquia, asociando este incremento al impacto humano en el hábitat de los zorros resultando en la competición por el alimento, el canibalismo y el consumo de basura humana y animales domésticos. Los prociénidos dentro del Parque-Museo La Venta del presente estudio no han mostrado cambios en su densidad poblacional o migraciones, lo que puede estar influyendo en los resultados permitiendo que el parásito se vuelva endémico del parque a partir del 2011, año en el que se encontraron anticuerpos contra *Trichinella* por primera vez (Godínez-García, 2012).

El presente estudio no detectó diferencia entre edad ni en sexo de los prociónidos, a diferencia de lo reportado en Tennessee y Kentucky donde encontraron que tanto los machos (29%) como los adultos (11%) tenían mayor prevalencia al parásito (Smith *et al* 1985), esta última diferencia está asociada a que los individuos más viejos tienen mayor oportunidad de re-infectarse que los individuos jóvenes. Los resultados sin diferencia del presente estudio pueden estar asociados a que los hábitos alimenticios de hembras y machos de ambas especies son los mismo y además comparten el mismo nicho biológico con la misma disponibilidad de alimento. Frey *et al* (2009) reportó que los lince (*Lynx lynx*) machos presentaron mayor prevalencia que las hembras, sin embargo desconoce la razón ya que los hábitos alimenticios de los lince son los mismos sin importar el sexo; además, no encontró diferencias entre edad de los lince, ni diferencia entre sexo y edad de zorros rojos (*Vulpes vulpes*). De igual forma Reichard *et al* (2011) buscaron identificar diferencias entre el sexo de los animales y la prevalencia del parásito, reportando el 7.8% de prevalencia a *Trichinella* en tejido muscular en coyotes (*Canis latrans*), sin embargo no encontró diferencias estadísticas entre el sexo de los animales. Godínez-García (2012) reportó diferencias estacionales durante el 2011, encontrando que la frecuencia en coatíes durante el invierno (14.28%) fue mayor a la de verano (6.89%), en el presente estudio no se encontró diferencia estadística por estación del año.

## 6.2 *Toxoplasma gondii* en prociónidos

La seroprevalencia de *T. gondii* reportada en coatíes (*Nasua narica*) en el estado de Tamaulipas, México, fue del 42% (3/7) en coatíes por la técnica de aglutinación en látex (Rendón-Franco *et al*, 2014b). En el presente estudio, la frecuencia de coatíes seropositivos al parásito fue 13.01%; estos dos estudios son los únicos reportes actualmente de la frecuencias de *T. gondii* en coatíes de vida libre, aunque se han reportado en cautiverio (Jewell *et al*, 1972).

Hasta el momento no hay reportes de la frecuencia de *T. gondii* en mapaches en México. En EEUU la prevalencia en mapaches va desde el 15% hasta 84.4%, en todos estos estudios se realizó la técnica de Aglutinación Modificada (MAT) para detectar la presencia de anticuerpos contra el parásito (Hancock *et al*, 2005; Mitchell *et al*, 2006). Durante 2001 y 2005 en Canadá se atraparon mapaches reportando seroprevalencias desde 15.9% hasta el 43.2% (Hwang *et al*, 2007). En Japón se capturaron mapaches invasores durante

2000 y el 2009 y se detectaron anticuerpos contra *T. gondii* con una prueba comercial de aglutinación en látex reportando seroprevalencias por región desde 3.9% hasta 16.5%, y una seroprevalencia total de 9.9% (Sato *et al*, 2011). La frecuencia de mapaches seropositivos en el presente estudio fue del 7.58%. Los resultados de animales seropositivos son bajos con respecto a los estudios mencionados y también a lo esperado. La seroprevalencia reportada en humanos en el estado de Tabasco fue mayor al 70% asociada a las características ambientales del estado (Caballero-Ortega *et al*, 2012); la esporulación y supervivencia de los ooquistes de *T. gondii* se ven favorecidas por climas cálidos y de alta humedad, características que el estado de Tabasco cumple puesto que la humedad relativa oscila entre el 70 y el 80% (CONAGUA, 2013a) y el intervalo de temperatura media anual es de 22 a 28°C (INEGI, 2014). Una posibilidad por la cual los porcentajes de seropositivos a *T. gondii* son más bajos de los esperado, es la precipitación pluvial (pp) en el estado de Tabasco generando el arrastre de los ooquistes eliminados por los gatos hacia los ríos o grandes cuerpos de agua por lo que el contacto con los procionidos es limitado. Durante el 2012 la pp fue de 270 mm en junio (verano), 122.8 mm en diciembre (invierno) y la anual fue de 2069.8 mm (SMN, 2012); para el 2013 fue de 266.1 mm, 460.5 mm y 2812 mm para junio, diciembre y la anual respectivamente (SMN, 2013). El número bajo de gatos dentro del parque puede estar influyendo en los resultados, ya que se disminuye la probabilidad de que estos eliminen ooquistes del protozoario dentro del parque y por consecuencia disminuye la probabilidad de la exposición de los procionidos con los ooquistes.

No se encontró diferencia en el porcentaje de procionidos seropositivos y la estación del año, en contraste en Japón se encontró una seroprevalencia en mapaches mas alta en invierno (18.9%) con respecto a las demás estaciones: 8.5% primavera, 9.3% verano y 9.2% otoño (Soto *et al*, 2011); la razón por la que no se encontró diferencia entre las estaciones del año en el presente estudio, puede se debido a las condiciones de temperatura en el estado de Tabasco, ya que no hubo cambios extremos en la temperatura: la temperatura promedio anual para el estado de tabasco fue de 26.9°C con un rango desde 23.7 hasta 29.1°C para el 2013 (SMN, 2013). El presente estudio no encontró evidencia para decir que hubo diferencias entre la edad de los procionidos y el número de animales seropositivos. Comparando con un reporte en Canadá, donde se encontró mayor seroprevalencia en los mapaches adultos que en los jóvenes asociado al

que los adultos han estado expuestos a la infección por un periodo de tiempo más largo (Hwang *et al* 2007).

### **6.3 *Trichinella* y *Toxoplasma gondii* en animales sinantrópicos**

Los gatos eliminan los ooquistes por la materia fecal, permitiendo el contacto del parásito con otros hospedadores; la frecuencia de gatos seropositivos fue del 11.76%. Comparando con otros estudios de gatos en México, se ha reportado seroprevalencia del 70.8% en Jalisco (Galvan *et al*, 1999), 28.8% en Colima (García-Marquez *et al*, 2007), 21.9% en la Ciudad de México (Besné-Mérida *et al*, 2008) y 91.8% en Yucatán (Castillo-Morales *et al*, 2012). Para este estudio, se atraparon solo 17 gatos dentro del Parque, lo que pudo haber influido en la baja frecuencia de *T. gondii* encontrando en esta especie, comparada con otros estudios realizados en México; es recomendable realizar un estudio más amplio de los gatos en la ciudad de Villahermosa, Tabasco, para conocer la prevalencia de *Toxoplasma gondii* en estos individuos y saber si son un factor de riesgo que participe en el ciclo del parásito dentro del Parque.

Los roedores son animales sinantrópicos considerados transmisores de ambos parásitos mediante su depredación contribuyendo a la dispersión de estos parásitos entre animales domésticos y silvestre; sin embargo, el papel de los roedores en el ciclo del *Trichinella* aún es confuso. En el presente estudio, no se encontró ningún roedor positivo a *Trichinella*; las ratas pueden ser consideradas como hospedadores accidentales ya que se ha observado que las ratas adquieren la infección de acuerdo al ambiente en el que se encuentren. Durante el 2001 y el 2002, fueron capturadas ratas en dos poblaciones de Croacia en la que se había considerado endémica a la infección de *Trichinella* en cerdos, encontrando ratas infectadas del parásito solo en las granjas donde las condiciones sanitarias eran pobres (Stojcevic *et al*, 2004). También se ha observado que la prevalencia del parásito en ratas está relacionada con la densidad poblacional de estas, entre mayor densidad, mayor prevalencia (Mikkonene *et al*, 2005; Takumi *et al*, 2010). Esta puede ser otra razón que explique la frecuencia nula para el presente estudio, ya que el número de roedores capturados fue de 19 ratas y 6 ratones durante los dos años del estudio, probablemente la densidad poblacional en el parque es muy baja.

La frecuencia de seropositivos a *T. gondii* en el presente estudio fue del 16.67% en ratones (1/6) y 0% en ratas como se muestra en el cuadro 8. Al igual que en *Trichinella*, el papel que juegan los roedores en el ciclo de *T. gondii* sigue en discusión, sin embargo hay mas evidencia que indica que los roedores son reservorios del parásito, ya que en granjas de cerdos con campañas de control de roedores, la prevalencia de *T. gondii* en cerdos se vio reducida (Kijlstra *et al*, 2008), este mismo estudio encontró prevalencias en ratones del 6.5% y en ratas del 10.3% en tres diferentes granjas de cerdos en los Países Bajos. Meerburg *et al* (2012) reportaron la prevalencia del parásito en granjas orgánicas de cerdos y aves en los Países Bajos de 9% en ratones y 0% en ratas. En contraste, las prevalencias que se reportan en zonas urbanizadas como en la ciudad de Cheetham Hill, Reino Unido, donde se reportó una prevalencia del 59% en ratones (Murphy *et al*, 2008) y el este de China donde se reportó el 22.6% en ratones y 23.6% en ratas (Yan *et al*, 2014). El número de capturas de los roedores en el presente estudio pudo haber influido en las frecuencias de *T. gondii* en los roedores, se recomienda aumentar el numero de muestra y ampliar la zona de muestreo para tener mayor información de los roedores en el ciclo del parásito en Tabasco.

#### **6.4 Los animales sinantrópicos y la interacción mediante depredación con los prociénidos**

En el análisis de hábitos alimenticios no se encontró evidencia de pelo o molares de roedores, a diferencia de otros estudios de dieta en prociénidos donde reportan 17.4% de frecuencia de ocurrencia (FO) en coatíes (*Nasua nasua*) y 20% en mapaches (*Procyon cancrivorus*) en Brasil (Aguiar *et al*, 2011), 33% en coatíes en el Estado de México (Maldonado-Rosales, 2006) y 0.8% en mapaches (*Procyon cancrivorus*) del sureste Brasileño (Quintela *et al*, 2014). El papel que juegan los roedores en la dispersión de *Trichinella* en el ciclo sinantrópico-doméstico y silvestre no esta del todo claro; se ha identificado al parásito solo en roedores en asentamientos urbanos y granjas, donde la infección se da por las prácticas humanas en la alimentación de los cerdos y no por la entrada de los roedores a las granjas. Así mismo, se menciona que tanto los roedores como otros pequeños mamíferos son de vida corta y su ingesta de alimentos es baja, reduciendo el riesgo de ser infectados, o bien la sobrevivencia de la larva es menor en estos hospedadores a otros de mayor tamaño (Pozio, 2005). Para el presente estudio es probable que la participación de los roedores en el ciclo de ambos parásitos con los

prociónidos sea nula, ya que no se encontró presencia de molares o pelo de roedores en las excretas de los prociónidos y esto puede estar influenciado por la densidad poblacional de los roedores en el área de estudio y a la alta densidad poblacional de gatos ferales que habitan a los alrededores del parque. Se requiere de otros estudios aumentando el número de muestra en roedores tanto en el parque como en otros lugares para saber más del estado poblacional de los animales, como de los parásitos en estos hospedadores.

Los ingredientes en la dieta con mayor ocurrencia que se encontraron en el presente estudio, son los insectos y la materia vegetal (71.64% y 59.70% para coatíes respectivamente, 63.63% y 72.72% para mapaches). Maldonado-Rosales (2006) reportó FO similares en coatíes: 77.7% de insectos y 55% de materia vegetal. En la bahía Jamaica en Nueva York, EEUU, se reportó en mapaches FO de 55% de materia vegetal y 20% de insectos, encontrando mayor frecuencia de crustáceos 79% (Rulison *et al*, 2012). Quintela (2014) reportó en mapaches FO de 51.9-84.5% de materia vegetal y 13-41.9% de artrópodos. Si bien, la materia vegetal no es una fuente de infección para *Trichinella*, pueden existir ooquistes de *T. gondii* en el hábitat, forma altamente infectiva y por consiguiente, de transmisión de este protozooario. Los artrópodos no son considerados transmisores de ninguno de los dos parásitos, sin embargo en 1960 se postuló que los insectos necrófagos juegan un papel importante para la transmisión de *Trichinella* (Smith *et al*, 1985). El análisis de los artrópodos encontrados en las excretas, así como estudios de los artrópodos que habitan dentro del parque es recomendable para saber si existe la posibilidad de que estos participen en el ciclo de ambos parásitos. Se requiere de más estudios para el análisis de la dieta de los prociónidos, así como la identificación de los elementos encontrados.

El pelo de mamífero encontrado en la materia tuvo una FO del 87.87% en mapaches, siendo el componente de la dieta más común; la FO en coatíes fue del 47.76%, siendo el tercer componente de la dieta más común. Para todas las muestras, el pelo pertenecía a las mismas especies muestreadas lo que puede estar indicando que existe canibalismo entre las especies, considerando que las condiciones del parque es un hábitat fragmentado, con recursos limitados y alta actividad antropogénica alrededor de este impidiendo la migración de los prociónidos, lo que permite que el ciclo de *Trichinella* se

mantenga en las poblaciones. Hurníková y Dubinský (2009) asociaron el cambio de alimentación de los zorros en Eslovaquia al impacto humano, generando competencia entre los animales, canibalismo y comportamiento carroñero; de igual forma, Teodorovic *et al* (2014) asocian los mismos comportamientos alimenticios en lobos de los Balcanes , incrementando la exposición y la prevalencia del parásito en las poblaciones de los carnívoros de ambos estudios.

## **7 Conclusiones**

Para este estudio se logró estandarizar ELISA indirecto para la detección de anticuerpos contra *Trichinella* y para *Toxoplasma gondii* en prociénidos (coatíes y mapaches) usando como conjugado la Proteína A peroxidasa. Se logró evidenciar serológicamente la presencia de *Trichinella sp*, corroborando el estudio de Godínez-García (2012), en coatíes y mapaches; así mismo se encontró evidencia serológica de la infección por *Toxoplasma gondii* en coatíes y mapaches, siendo el primer reporte del parásito para estas especies en el estado de Tabasco.

## **8 Perspectivas**

Los resultados de esta tesis pueden ser analizados con técnica mas específicas, como es el Western Blot para confirmar las frecuencias reportadas. Así mismo es posible realizar el diagnóstico molecular de ambos parásitos para determinar la especie en el caso de *Trichinella* ya que hasta el momento, en México solo se ha reportado *Trichinella spiralis*. También es posible identificar el tipo de cepa en *Toxoplasma gondii* que podría estar infectando a los animales del estudio a través de la serotipificación.

## 9 Referencias.

- 1) Aguiar, LM; Moro-Rios, RF; Silvestre, T; Silva-Pereira, JE; Bilski, DR; Passos, FC; Sekiama, ML; Rocha, VJ. 2011. Diet of brown-nosed coatis and crab-eating raccoons from a mosaic landscape with exotic plantations in southern Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 46(3): 153-161.
- 2) Airas, N; Saari, S; Mikkonen, T; Virtala, AM; Pellikka, J; Kilpelä, SS; Lim, CW; Sukura, A. 2010. Sylvatic *Trichinella* spp. infection in Finland. *J. Parasitol*; 96(1): 67-76.
- 3) Alvarado-Esquivel, C; Estrada-Martínez, S; Pizarro-Villalobos, H; Arce-Quiñones, M; Liesenfeld, O; Dubey, JP. 2011. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in general population in a northern Mexican city. *Journal of Parasitology*, 97(1): 40-43.
- 4) Alvarado-Esquivel, C; Silva-Aguilar, D; Villena, I; Dubey, JP. 2013. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in dairy Goats in Michoacán State, México. *Journal of Parasitology*, 99(3): 540-542.
- 5) Alvarado-Esquivel, C; Romero-Salas, D; García-Vázquez, Z; Crivelli-Diaz, M; Barrientos-Morales, M; Lopez-de-Buen, L; Dubey, JP. 2014. Seroprevalence and correlates of *Toxoplasma gondii* infection in domestic pigs in Veracruz State. México. *Tropical Animal Health and Production*, 46: 705-709.
- 6) Álvarez-Castañeda, ST; Gomzález-Quintero, P. 2005. Winter-spring food habits of an island population of Coyote *Canis latrans* in Baja California, México. *Journal of Arid Environments*, 60: 397-404.
- 7) Bateman, PW; Fleming, PA. 2012. Big city life: carnivores in urban environments. *Journal of Zoology*, 287:1-23.
- 8) Bigler, WJ; Jenkins, JH; Cumbie, PM; Hoff, GL; Prather, EC. 1975. Wildlife and environmental health: raccoons as indicators of zoonoses and pollutants in southeastern United States. *J Am Vet Med Assoc*, 167(7): 592-7.
- 9) Blaga, R; Durand, B; Stoichici, A; Gherman, C; Stefan, N; Cozma, V; Boireau, P. 2009. Animal *Trichinella* infection in Romania: Geographical heterogeneity for the last 8 years. *Veterinary Parasitology*, 159: 290-294.
- 10) Blanco-Crivelli, X; Rumi, MV; Carfagnini, JC; Degregorio, O; Bentacor, AB. 2012. Synanthropic rodents as possible reservoirs of shigatoxigenic *Escherichia coli* strains. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2: 134.
- 11) Caballero-Ortega, H; Uribe-Salas, FJ; Conde-Glez, CJ; Cedillo-Pelaez, C; Vargas-Villavicencio, JA; Luna-Pastén, H; Cañedo-Solares, I; Ortiz-Alegria, LB; Correa, D. 2012.

- Seroprevalence and national distribution of human toxoplasmosis in México: analysis of the 2000 and 2006 National Health Surveys. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 106: 653-659.
- 12) Caballero-Ortega, H; Castillo-Cruz, R; Murrieta, S; Ortiz-Alegría, LB, Calderón-Segura, E; Conde-Glez, CJ; Cañedo-Solares, I; Correa, D. 2014. Diagnostic-test evaluation of immunoassays for anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies in a random simple of Mexican population. *J Infect Dev Ctries*, 8(5): 642-647.
  - 13) Carme, B; Demar; M; Ajzenberg, D; Dardé ML. 2009. Severe acquired toxoplasmosis caused by wild cycle of *Toxoplasma gondii*, French Guiana. *Emerging infectious diseases*, 15(4): 656.
  - 14) Castillo-Morales, VJ; Acosta-Viana, KY; Guzmán-Marín, ES; Jiménez-Coello, M; Segura-Correa, JC; Aguilar-Caballero, AJ; Ortega-Pacheco, A. 2012. Prevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection in domestic Cats from the tropics of México using serological and molecular tests. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2012: 1-6.
  - 15) Ceballos, G; Oliva, G. 2005. Los mamíferos silvestres de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad; Fondo de Cultura Económica pp 411-418.
  - 16) Centeno-Pérez, VA; Arriaga-Weiss, SL. 2010. Uso y aprovechamiento de fauna silvestre en comunidades del Parque Estatal de la Sierra, Tabasco, México. *Uso y Manejo de Fauna Silvestre en el norte de Mesoamérica*. Secretaría de Educación de Veracruz pp 79-114.
  - 17) Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2013. Estadísticas del agua en México. Pp: [www.conagua.gob.mx](http://www.conagua.gob.mx)
  - 18) Conrad, PA; Miller, MA; Kreuder, C; James, ER; Mazet, J; Dabritz, H; Jessup, DA; Gulland, F; Grigg, ME. 2005. Transission of *Toxoplasma*: Clues from the study of sea otters as sentinels of *Toxoplasma gondii* flow into the marine environment. *International Journal for Parasitology*, 35: 1155-1168.
  - 19) Contreras-Moreno, FM; De-la-Cruz-Félix, K; Bello-Gutiérrez, J. 2012. Uso patrones de cacería y preferencia de presas en dos sitios del parque estatal La Sierra, Tabasco, México. *Etnobiología*, 10(3).
  - 20) Dabritz, HA; Miller, MA; Gardner, IA; Packham, AE; Atwill, ER; Conrad, PA. 2008. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in wild rodents from central coastal California and a review of *T. gondii* prevalence in rodents. *Journal of Parasitology*, 94(3): 675-683.

- 21) Daszak, P; Cunningham, AA; Hyatt, AD. 2001. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta Tropica*, 78: 103-116.
- 22) De la Rosa, JL; Aranda, JG; Padilla, E; Correa, D. 1998. Prevalence and risk factors associated with serum antibodies against *Trichinella spiralis*. *International Journal for Parasitology*; 28: 317-321.
- 23) De la Rosa-Arana, JL. 2012. Inducción de inmunidad protectora tipo TH1 en la Triquinelosis experimental murina. Tesis de Doctorado. Instituto Politécnico Nacional.
- 24) Dubey; JP; Jones, JL. 2008. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *International Journal for Parasitology*, 38: 1257-1278.
- 25) Dubey, JP; Alvarado-Esquivel, C; Herrera-Valenzuela, VH; Otiz-Diaz, JJ; Oliveira, S; Verma, SK; Choudhary, S; Kwok, OCH; Su, C. 2013. A new atypical type mouse virulent strain of *Toxoplasma gondii* isolated from the heart of a wild caught Puma (*Felis concolor*) from Durango, México. *Veterinary Parasitology*, 197: 674-677.
- 26) Elmore, SA; Jones, JL; Conrad, PA; Patton, S; Lindsay, DS; Dubey, JP. 2010. *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. *Trends in Parasitology*, 26(4): 190-196.
- 27) Frey, CF; Schuppers, ME; Müller, N; Ryser-Degiorgis, MP; Gottstein, B. 2009. Assessment of the prevalence of *Trichinella* spp. in red foxes and Eurasian lynxes from Switzerland. *Veterinary Parasitology*, 159:295-299.
- 28) Fowler, ME; Miller, RE. 2003. Zoo and wild animal medicine. Saunder Elsevier pp 516-523.
- 29) Gajadhar, AA; Pozio, E; Gamble, HR; Nöckler, K; Maddox-Hyttel, C; Forbes, LB; Vallée, I; Rossi, P; Marinculic, A; Boireau, P. 2009. *Trichinella* diagnostics and control: Mandatory and best practices for ensuring food safety. *Veterinary Parasitology*, 159: 197-205.
- 30) Gajadhar, AA; Forbes, LB. 2010. A 10-year wildlife survey of 15 species of Canadian carnivores identifies new hosts or geographic locations for *Trichinella* genotypes T2, T4, T5 and T6. *Veterinary Parasitology*, 168: 78-83.
- 31) Godínez-García, VH. 2012. Búsqueda de anticuerpos contra helmintos tisulares y bacterias en suero de coatíes (*Nasua narica*) y mapaches (*Procyon lotor*) de una población semi cautiva perteneciente al parque de la Venta del Estado de Tabasco. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- 32) Gottstein, B; Pozio, E; Nöckler, K. 2009. Epidemiology, diagnosis, treatment, and control of Trichinellosis. *Clinical microbiology Reviews*, 22(1): 127-145.

- 33) Guerra-Roa, MM. 2000. Cacería de subsistencia en dos localidades de la selva Lacandona, Chiapas, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- 34) Gutiérrez-Quiroz, M; Martínez-Barbosa, I; Alonso-Guerrero, T; Fernández-Presas, AM; Ruiz-González, LA; García-Yáñez; Y. 2000. Reactividad serológica a cinco antígenos de parásitos en adolescentes escolares. *Rev Mex Patol Clin*; 47(1): 32-37.
- 35) Hancock, K; Thiele, LA; Zajac, AM; Elvinger, F; Lindsay, DS. 2005. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in Raccoons (*Procyon lotor*) from an urban área of nothern Virginia. *Journal of Parasitology*, 91(3): 694-695.
- 36) Helhazar, M; Leitão, J; Duarte, A; Tavares, L; Pereira-da-Fonseca, I. 2013. Natural infection of synanthropic rodents species *Mus musculus* and *Rattus norvegicus* by *Leishmania infantum* in Sesimba and Sintra-Protugal. *Parasites & Vectors*, 6: 88.
- 37) Hernández-López, A; López-Alamilla, E; Rodríguez-Ramírez, A; Aquino-Bravata, V. 2013. Diagnóstico del uso de la fauna y flora silvestre, en el área de protección de flora y fauna "Cañón Usumacinta", Tenosique Tabasco. *Ra Ximhai*, 9(1): 1-13.
- 38) Hill, DE; Chirukandoth, S; Dubey, JP. 2005. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. *Animal Health Research Reviews*, 6(1): 41-61.
- 39) Hill, DE; Samuel, MD; Nolden, CA; Sundar, N; Zaraniega, DS; Dubey, JP. 2008. *Trichinella murrelli* in scavenging mammals from south-central Wisconsin, USA. *Journal of Wildlife Disease*, 44(3): 629-635.
- 40) Hurníková, Z; Chovancová, B; Bartková, D; Dubinsky, P: 2007. The role of wild carnivores in the maintenance of trichinellosis in Tatras National Park, Slovakia. *Helminthologia*, 44(1): 18-20.
- 41) Hurníková, Z; Dubinsky, P. 2009. Long-term survey on *Trichinella* prevalence in wildlife of Slovakia. *Veterinary Parasitology*; 159: 276-280.
- 42) Hwang, YT; Pitt, JA; Quirk, TW; Dubey, JP. 2007. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in mesocarnivores of Canadian prairies. *Jornal of Parasitology*, 93(6): 1370-1373.
- 43) Jewell, ML; Frenkel, JK; Johnson, KM; Reed, V; Ruiz, A. 1972. Development of *Toxoplasma* oocysts in neotropical felidae. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 21(5): 512-517.
- 44) Juárez-Casillas, LA; Varas, C. 2013. Evaluation of black bear (*Ursus americanus*) diet and consequences in its conservation in Sierra de Picachos, Nuevo león, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84: 970-976.

- 45) Keesing, F. Belden, LK; Dazak, P; Dobson, A; Drew-Harvell, C; Holt, RD; Hudson, P; Jolles, A; Jones, KE; Mitchell, CE; Myers, SS; Bogich, T; Ostfeld, RS. 2010. Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. *Nature*, 648: 647-652.
- 46) Keynes-de-la-Cruz-Félix H. 2008. Cacería de subsistencia de mamíferos silvestres en dos sierras del parque estatal de la Sierra, Tabasco. Tesis de Maestría, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- 47) Kijlstra, A; Meerburg, B; Cornelissen, J; De-Craeye, S; Vereijken, P; Jongert, E. 2008. The role of rodents and shrews in the transmission of *Toxoplasma gondii* to pigs. *Veterinary Parasitology*, 156:183-190.
- 48) Kobayashi, T; Kanai, Y; Ono, Yoko; Matoba, Y; Suzuki, K; Okamoto, M; Taniyama, H; Yagi, K; Oku, Y; Katakura, K; Asakawa, M. 2007. Epidemiology, histopathology, and muscle distribution of *Trichinella* T9 in feral raccoons (*Procyon lotor*) and wildlife of Japan. *Parasitol Res*; 100: 1287-1291.
- 49) Larter, NC; Forbes, LB; Elkin, BT; Allaire, DG. 2011. Prevalence of *Trichinella* spp. in black bears, grizzly bears, and wolves in the Dehcho región, Northwest Territories, Canada, including the first report of *T. nativa* in grizzly bear from Canada. *Journal of Wildlife Diseases*, 47(3): 745-749.
- 50) La-Rosa, G; Marucci, G; Zarlenga, DS; Casulli, A; Zarnke, RL; Pozio, E. 2003. Molecular identification of natural hybrids between *Trichinella nativa* and *Trichinella* T6 provides evidence of gene flow and ongoing genetic divergence. *International Journal for Parasitology*, 33: 209-216.
- 51) LoGiudice, K; Ostfeld, RS; Schmidt, KA; Keesing, F. 2003. The ecology of infectious disease: Effects of host diversity and community composition on Lyme disease risk. *PNAS*, 100(2): 567-571.
- 52) Maldonado-Rosales, ML. 2006. Contribución al conocimiento sobre la dieta del coatí (*Nasua nasua*), a través de rastros en el municipio de Chapa de Mota Estado de México. Tesis de Licenciatura, Universidad nacional Autónoma de México.
- 53) Martínez-Barbosa, I; Gutiérrez-Quiroz, M; Romero-Caballero, R; Fernández-Presas, AM; Vázquez-Tsuji, O; Pérez-León, MJ; Gutiérrez-Cárdenas, EM. 2000. Inmunoepidemiología de la Triquinelosis en niños de la Ciudad de México. *Rev Mex Patol Clin*; 47(3): 156-161.
- 54) Martínez-Márquez, CA. 2011. Etnozoología del ejido Sinaloa 1ª sección Cárdenas, Tabasco, México. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados.

- 55) Meerburg, BG; De-Craeye, S; Dierick, K; Kijlstra, A. 2012. *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in brain tissue of feral rodents and insectivores caught on farms in the Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 184: 317-320.
- 56) Méndez-Cabrera, F; Montiel, S. 2007. Diagnóstico preliminar de la fauna y flora silvestre utilizada por la población maya de dos comunidades costeras de Campeche, México. *Universidad y Ciencia*, 23(2): 127-139.
- 57) Mikkonen, T; Valkama, J; Wihlman, H; Sukura, A. 2005. Spatial Variation of *Trichinella* prevalence in rats in Finnish waste disposal sites. *J. Parasitol*; 91(1):210-213.
- 58) Mitchell, SM; Richardson, DJ; Lindsay, DS. 2006. Prevalence of agglutinating antibodies to *Toxoplasma gondii* in Striped Skunks (*Mephitis mephitis*), Opossums (*Didelphis virginiana*) and Raccoons (*Procyon lotor*) from Connecticut. *Journal of Parasitology*, 92(3): 664-665.
- 59) Muñoz-García, CI. 2009. Efecto de la dieta sobre los endoparásitos presentes en heces de coyotes (*Canis latrans*) según el tipo de hábitat en México. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México.
- 60) Murphy, RG; Williams, RH; Hughes, JM; Hide, G; Ford, NJ; Oldbury, DJ. 2008. The urban house mouse (*Mus domesticus*) as a reservoir of infection for the human parasite *Toxoplasma gondii*: an unrecognised public health issue? *International Journal of Environmental Health Research*; 18 (3):177-185.
- 61) Murrell, KD; Pozio, E. 2000. Trichinellosis: the zoonosis that won't go quietly. *International Journal for Parasitology*, 30: 1339-1349.
- 62) Olamendi-Portugal, M; Caballero-Ortega, H; Correa, D; Sánchez-Alemán, MA; Cruz-Vázquez, C; Medina-Esparza, L; Ortega-S, JA; Cantu, Antonio; García-Vázquez, Z. 2012. Serosurvey of antibodies against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in White-tailed Deer from northern México. *Veterinary Parasitology*, 189: 369-373.
- 63) Ortega-Pierres, MG; Arriaga, C; Yépez-Mulia, L. 2000. Epidemiology of trichinellosis in México, Central and South America. *Veterinary Parasitology*, 93: 201-225.
- 64) Pozio, E; Pence, DB; La-Rosa, G; Casulll, A; Henke, SE. 2001. *The Journal of Parasitology*. 87(5): 1208-1210.
- 65) Pozio, E. 2005. The broad spectrum of *Trichinella* hosts: from cold- to warm-blooded animals. *Veterinary Parasitology*, 132: 3-11.
- 66) Pozio, E; Murrell, KD. 2006. Systematics and epidemiology of *Trichinella*. *Advances in Parasitology*, 63: 367-439.

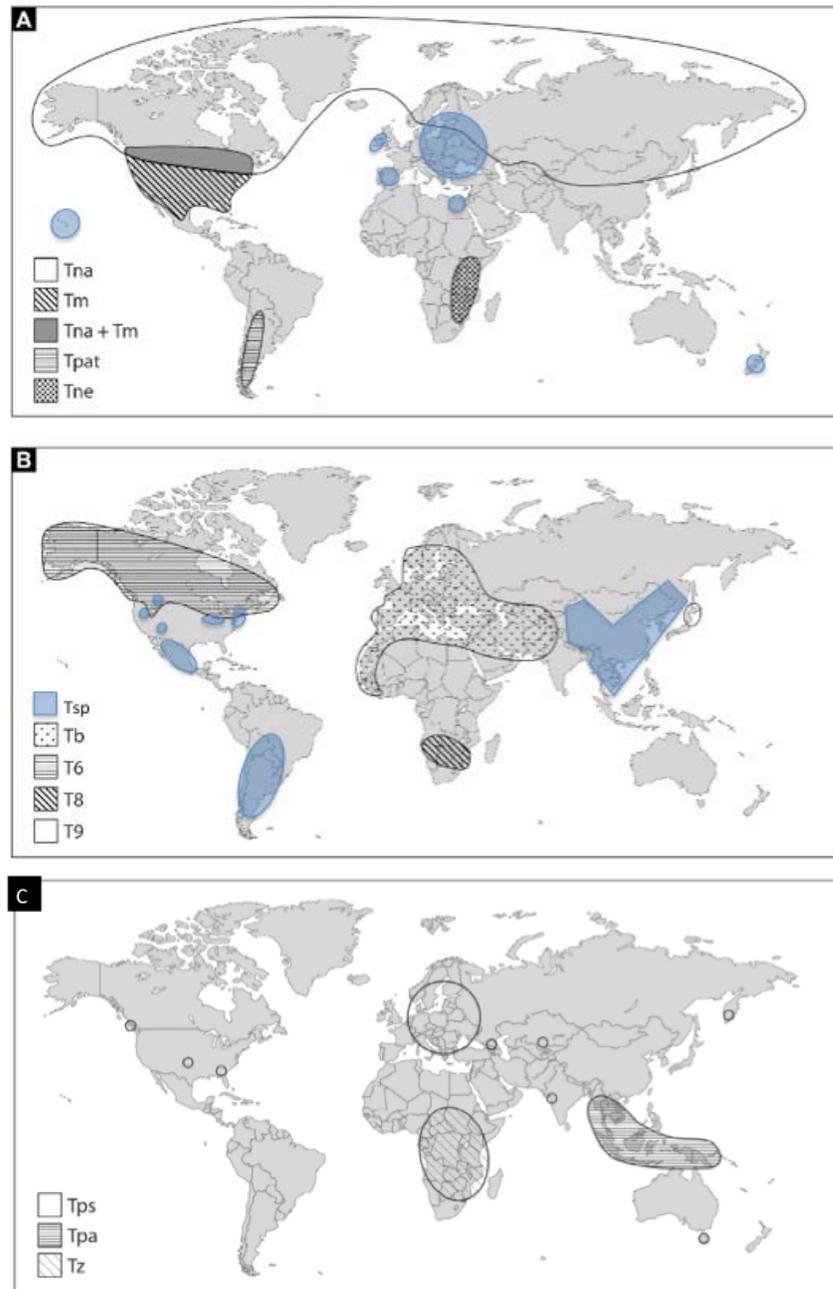
- 67) Pozio, E. 2007. World distribution of *Trichinella* spp. Infections in animals and humans. *Veterinary Parasitology*, 149: 3-21.
- 68) Pozio, E; Hoberg, E; La Rosa, G; Zarlenga, DS. 2009. Molecular taxonomy, phylogeny and biogeography of nematodes belonging to the *Trichinella* genus. *Infection, Genetics and Evolution*, 9: 606-616.
- 69) Pozio, E; Zarlenga, DS. 2013. New pieces of the *Trichinella* puzzle. *International Journal for Parasitology*, 43: 983-997.
- 70) Pozio, E. 2013. The opportunistic nature of *Trichinella*-Exploitation of new geographies and habitats. *Veterinary Parasitology*, 194: 128-132.
- 71) Quintela, FM; Iob, G; Artioli, LGZ. 2014. Diet of *Procyon cancrivorus* (Carnivora, Procyonidae) in restinga and estuarine environments of southern Brazil. *Iheringa, Série Zoologia*, 104(2): 143-149.
- 72) Ramírez-Pérez, L. Caracterización epidemiológica de la toxoplasmosis felina en el complejo agropecuario e industrial de Tizayuca, Hidalgo. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 2014.
- 73) Ramírez-Valenzuela, M. 1981. Epidemiología de la Triquinelosis. *Ciencia Veterinaria*, 3: 278-334.
- 74) Reichard, MV; Torretti, L; Snider, TA; Sinder, A; Garvon, JM; Marucci, G; Pozio, E. 2008. *Trichinella* T6 and *Trichinella nativa* in wolverines (*Gulo gulo*) from Nunavut, Canada. *Parasitol Res*, 103: 657-661.
- 75) Reichard, MV; Tiernan, KE; Paras, KL; Interisano, M; Reiskind, MH; Panciera, RJ; Pozio, E. 2011. Detection of *Trichinella murrelli* in coyotes (*Canis latrans*) from Oklahoma and North Texas. *Veterinary Parasitology*, 182: 368-371.
- 76) Rendón-Franco, E; Caso-Aguilar, A; Jiménez-Sánchez, NG, Brousset-Hernández-Jauregui, DM; Sandoval-Sánchez, AL; Zepeda-López, HM. 2012. Prevalence of Anti-*Toxoplasma gondii* antibody in free-ranging Ocelots (*Leopardus pardalis*) from Tamaulipas, México. *Journal of Wildlife Diseases*, 48(3): 829-831.
- 77) Rendón-Franco, E; Xicoténcatl-García L; Rico-Torres, CP; Muñoz-García, CI; Caso-Aguilar, A; Suzán, G; Correa, D; Caballero-Ortega, H. 2014a. Toxoplasmosis seroprevalence in wild small rodents, potentially preys of ocelots in north-eastern Mexico. *Parasite*, 21(57).

- 78) Renón-Franco, E; Caso, A; Jiménez-Sánchez, NG; Carvajal-Villarreal, S; Zepeda-López, H. 2014b. Frequency of antibodies against *Toxoplasma gondii* in wild carnivores and marsupials in northeast Mexico. *Neotrop. Helminthol*, 8(2): 473-478.
- 79) Richardson, DJ; Owen, WB; Synder, DE. 1992. Helminth parasites of the raccoon (*Procyon lotor*) from North-central Arkansas. *J Parasitol*, 78(1): 163-166.
- 80) Rulison, EL; Luiselli, L; Burke, RL. 2012. Relative impacts of habitat and geography on raccoon diets. *The American Midland Naturalist*, 168(2): 231-246.
- 81) Sato, S; Kabeya, H; Makino, T; Suzuki, K; Asano, M; Inoue, S; Sentsui, H; Nogami, S; Maruyama, S. 2011. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in feral Raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. 97(5): 956-957.
- 82) Slifko, TR; Smith, HV; Rose, JB. 2000. Emerging parasite zoonoses associated with water and food. *International Journal for Parasitology*, 30: 1379-1393.
- 83) Smith, RA; Kennedy, ML; Wilhelm, WE. 1985. Helminth parasites of the raccoon (*procyon lotor*) from Tennessee and Kentucky. *J. Parasitol*, 71(5): 599-603.
- 84) Servicio Meteorológico nacional (SMN). 2012. Reporte del clima en México. Servicio Meteorológico Nacional. Pp: 6-10
- 85) Servicio Meteorológico nacional (SMN). 2013. Reporte del clima en México. Pp: 19-22.
- 86) Stojcevic, D; Zivcnjak, T; Marinculic, A; Marucci, G; Andelko, G; Brstilo, M; Pavo, L; Pozio, E. 2004. The epidemiological investigation of *Trichinella* infection in brown rats (*Rattus norvegicus*) and domestic pigs in Croatia suggests that rats are not reservoir at the farm level. *American Society of Parasitologists*; 90(3): 666-670.
- 87) Takumi, K; Franssen, F; Fonville, M; Grasset, A; Vallée, I; Boireau, P; Teunis, P; van-der-Giessen, J. Within-host dynamics of *Trichinella spiralis* predict persistent parasite transmission in rat populations. *International Journal fro Parasitology*, 40:1317-1324.
- 88) Teneter, AM; Heckerth, AR; Weiss, LM. 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Jorunarl for parasitology*, 30: 1217-1258.
- 89) Teodorovic, V; Vasilev, D; Cirovic, D; Markovic, M; Cosié, N; Djurié, S; Djurkovic-Djakovic, O. 2014. The wolf (*Canis lupus*) as an indicator species for the sylvatic *Trichinella* cycle in the Central Balkans. *Journal of Wildlife Diseases*; 50(4): 911-915.
- 90) Thompson, RCA; Kutz, SJ; Smith, A. 2009. Parasite zoonoses and wildlife: emerging issues. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 6: 678-693.
- 91) Thompson, RCA. 2013. Parasites zoonoses and wildlife: One health, spillover and human activity. *International Journal for Parasitology*, 43: 1079-1088.

- 92) Wilson, DE; Ruff, S. 1999. The Smithsonian book of North American mammals. Smithsonian institution Press pp 219-225.
- 93) Wouda, W; Diikstra, T; Krammer, AM; van Maanen, C; Brinkhof, JM. 1999. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. *International Journal for Parasitology*, 29:1677-1682.
- 94) Yan, C; Liang LJ; Zhang, BB; Lou, ZL; Zhang, HF; Shen, X; Wu YQ; Wang, ZM; Tang, RX; Fu, LL; Zheng, KY. 2014. Prevalence and genotyping of *Toxoplasma gondii* in naturally-infected synanthropic rats (*Rattus norvegicus*) and mice (*Mus musculus*) in Eastern China. *Parasite & Vectors*; 7:591.
- 95) Zimmer, IA; Fee, SA; Spratt-Davison, S; Hunter, SJ; Boughtflower, VD; Morgan, CP; Hunt, KR; Smith, GC; Abernethy, D; Howell, M; Taylor, MA. 2009. Report of *Trichinella spiralis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Northern Ireland. *Veterinary Parasitology*, 159: 300-303.

## 10 Anexos

### Anexo 1. Mapas de distribución geográfica de *Trichinella*.



Distribución de las especies y genotipos del género *Trichinella*. En **(A)** *Trichinella spiralis*: Tsp (azul); *Trichinella nativa*: Tna; *Trichinella murrelli*: Tm; *Trichinella nelsoni*: Tne; *Trichinella patagoniensis*: Tpa. **(B)** *Trichinella spiralis*: Tsp (azul); *Trichinella britovi*: Tb; *Trichinella T6*, T8 y T9. **(C)** *Trichinella pseudospiralis*: Tps; *Trichinella papuae*: Tpa; *Trichinella zimbabwensis*: Tz (Modificado de Pozio, 2013).

**Anexo 2. Cuadro de las especies y genotipos del género *Trichinella*.**

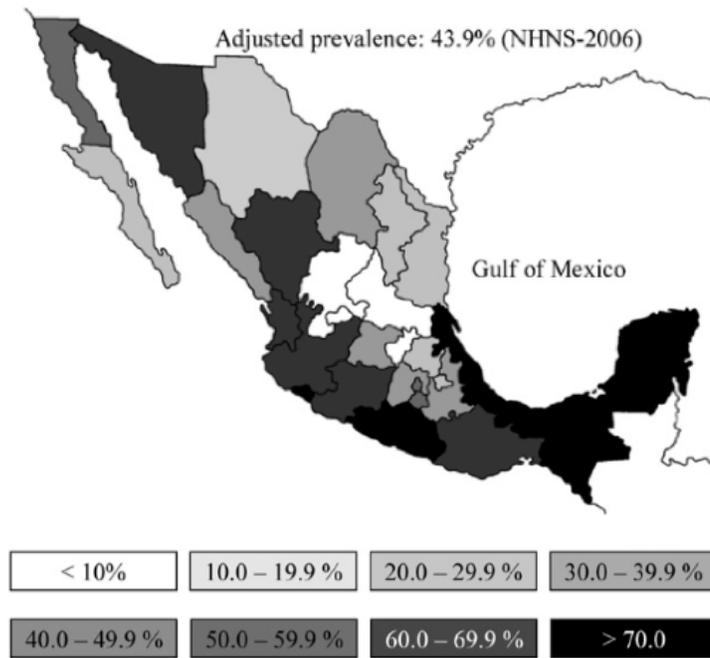
Especies y genotipos de *Trichinella sp* que generan cápsula, distribución geográfica, tipo de ciclo y hospedadores.

<b>Especie y genotipos de <i>Trichinella</i></b>	<b>Distribución</b>	<b>Ciclo</b>	<b>Hospederos naturales</b>
<b><i>T. spiralis</i></b>	Cosmopolita	Doméstico y silvestre	Cerdos, ratas, carnívoros
<b><i>T. nativa</i></b>	Área ártica y subártica de la región holoártica	Silvestre	Carnívoros terrestres y marinos
<b>Genotipo T6</b>	Canadá, EEUU	Silvestre	Carnívoros
<b><i>T. britovi</i></b>	Región paleártica	Silvestre y doméstico	Carnívoros, cerdos
<b>Genotipo T8</b>	Sudáfrica y Namibia	Silvestre	Carnívoros
<b><i>T. murrelli</i></b>	Región neártica	Silvestre	Carnívoros
<b>Genotipo T9</b>	Japón	Silvestre	Carnívoros
<b><i>T. nelsoni</i></b>	Región etíope	Silvestre	Carnívoros, cerdos
<b><i>T. patagoniensis</i></b>	Argentina	Silvestre	Carnívoros

Especies de *Trichinella sp* que no generan cápsula, distribución geográfica, tipo de ciclo y hospedadores

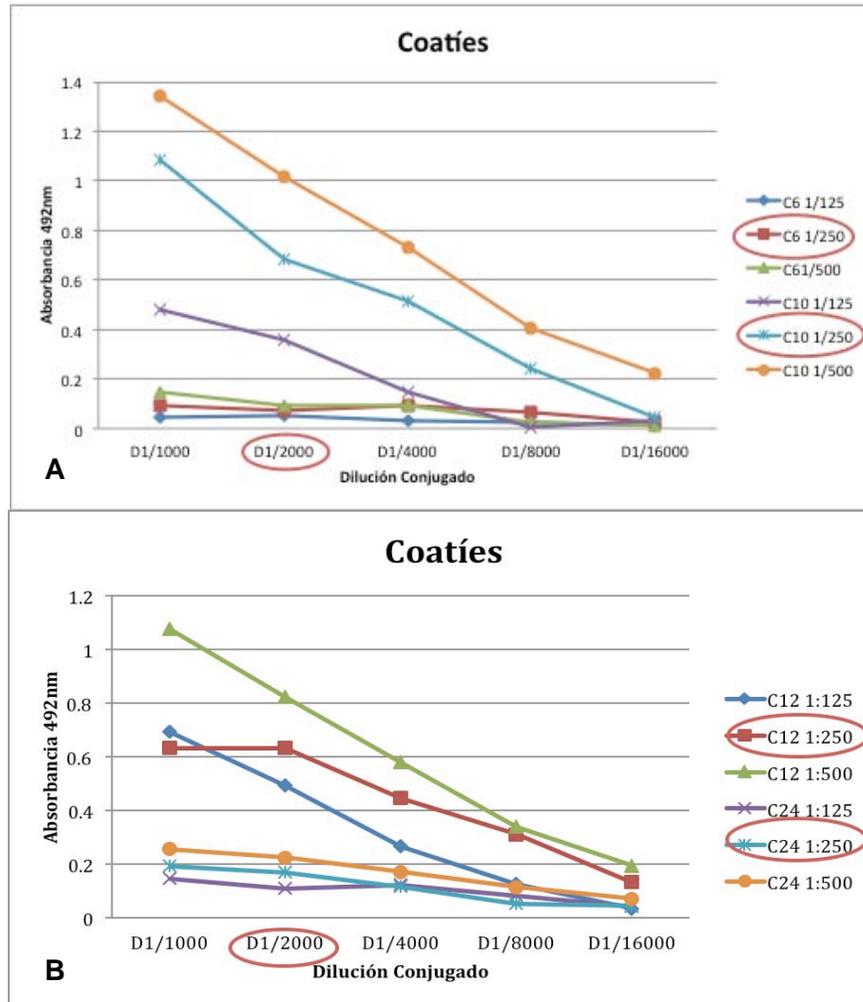
<b>Especies de <i>Trichinella</i></b>	<b>Distribución</b>	<b>Ciclo</b>	<b>Hospedadores naturales</b>
<b><i>T. pseudospiralis</i></b>	Cosmopolita	Silvestre, doméstica	Mamíferos y aves
<b><i>T. papuae</i></b>	Papua, Nueva Guinea, Tailandia	Silvestre, doméstica	Cerdos, cocodrilos de agua salada
<b><i>T. zimbabwensis</i></b>	Etiopia, Mozambique, Sudáfrica, Zimbabue	Silvestre y doméstico	Cocodrilo del Nilo, leones

**Anexo 3. Mapa de la prevalencia de *Toxoplasma gondii* en población humana de la República Mexicana.**



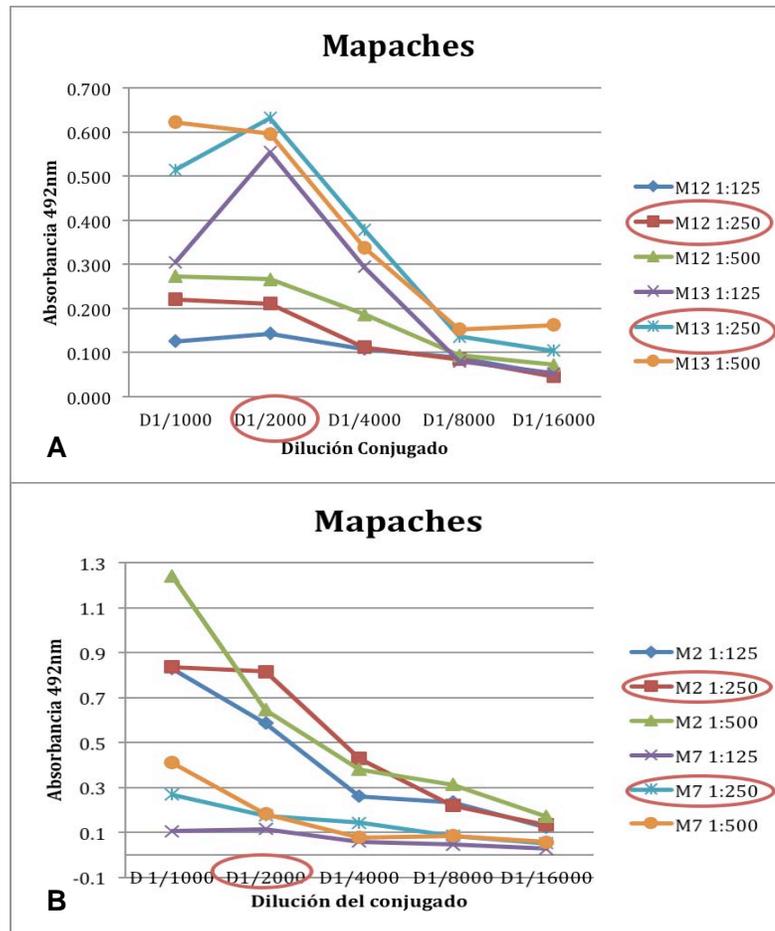
Cada color representa el porcentaje de prevalencia de *Toxoplasma gondii* encontrado en los diferentes estados de la República Mexicana en el año 2006 (Caballero-Ortega *et al*, 2012).

**Anexo 4. Estandarización del ELISA indirecto para *Trichinella* con muestras de coatíes.**



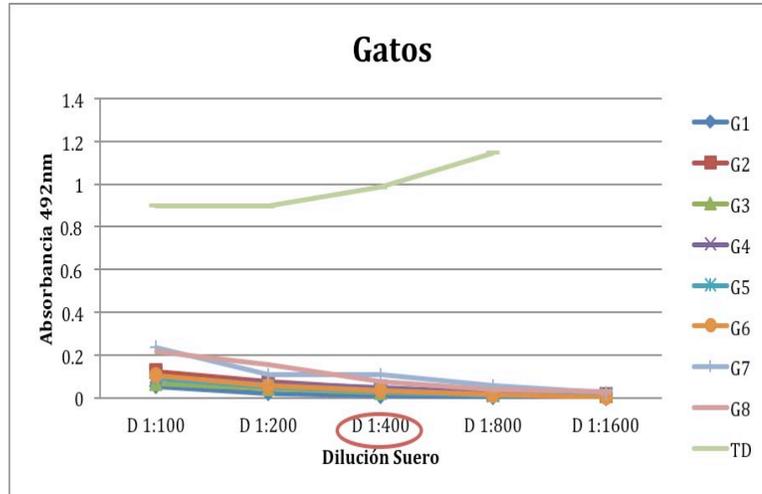
Gráficas de titulación de los sueros de 4 diferentes coatíes y conjugado Proteína A peroxidasa. **A**, Primer ensayo con muestras de 2 coatíes (C6 y C10) a diluciones de suero de 1:25, 1:50 y 1:250; las diluciones doble seriadas del conjugado se utilizaron desde 1:1000 hasta 1:16000. **B**, Segundo ensayo con muestras de 2 coatíes (C12 y C24) con las mismas condiciones del primer ensayo; los círculos en rojo señalan la dilución elegida para estandarizar la prueba: 1:250 para el suero y 1:2000 para el conjugado.

**Anexo 5. Estandarización del ELISA indirecto para *Trichinella* con muestras de mapaches.**



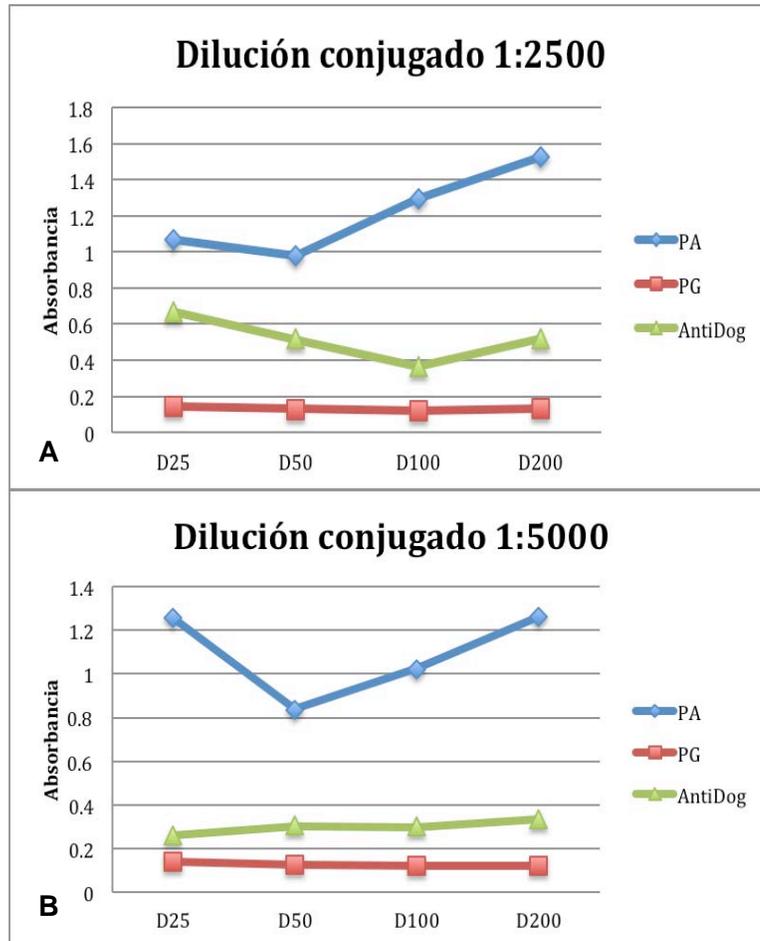
Gráficas de titulación de los sueros de 4 diferentes mapaches y del conjugado Proteína A peroxidasa. **A**, Primer ensayo con muestras de 2 mapaches (M12 y M13) a diluciones de suero de 1:25, 1:50 y 1:250; las diluciones doble seriadas del conjugado se utilizaron desde 1:1000 hasta 1:16000. **B**, Segundo ensayo con muestras de mapaches (M2 y M7) con las mismas condiciones del primer ensayo; los círculos en rojo señalan la dilución elegida para estandarizar la prueba: 1:250 para el suero y 1:2000 para el conjugado.

**Anexo 6. Estandarización del ELISA indirecto para *Trichinella* con muestras de gatos.**



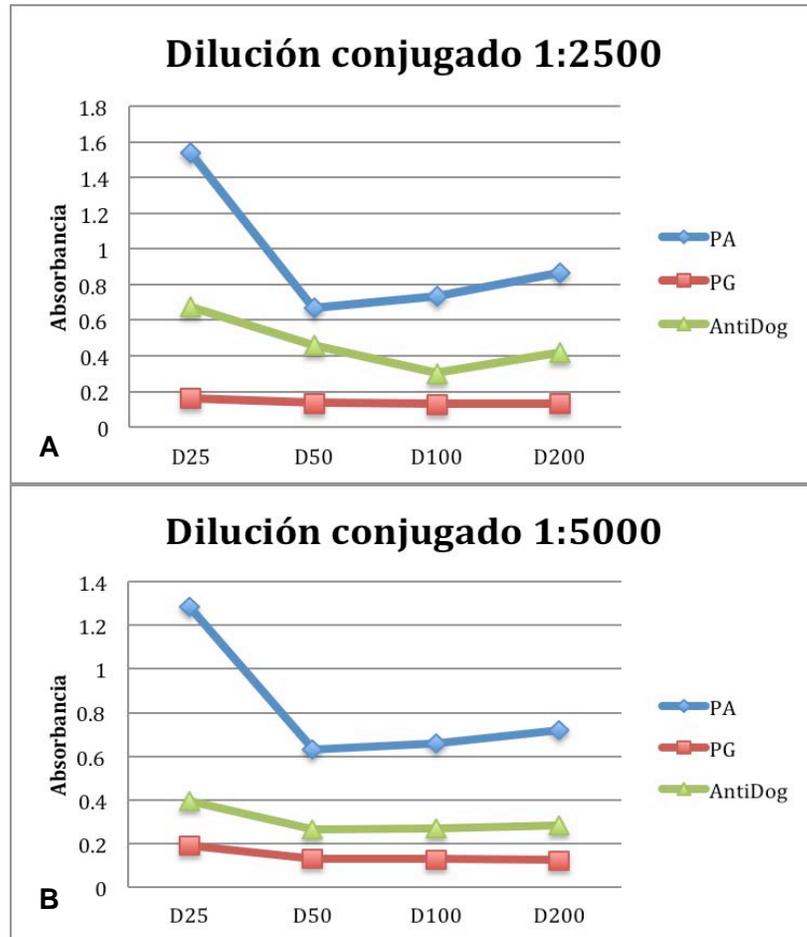
Gráficas de titulación de los sueros de gatos usando la dilución del conjugado anti-IgG de Gato a 1:1000. G1-G8 son diferentes muestras de gatos, TD es el testigo directo de un suero de gato con el conjugado; el círculo en rojo señala la dilución elegida para estandarizar la prueba: 1:400.

**Anexo 7. Comparación de tres conjugados diferentes con muestras de coatíes.**



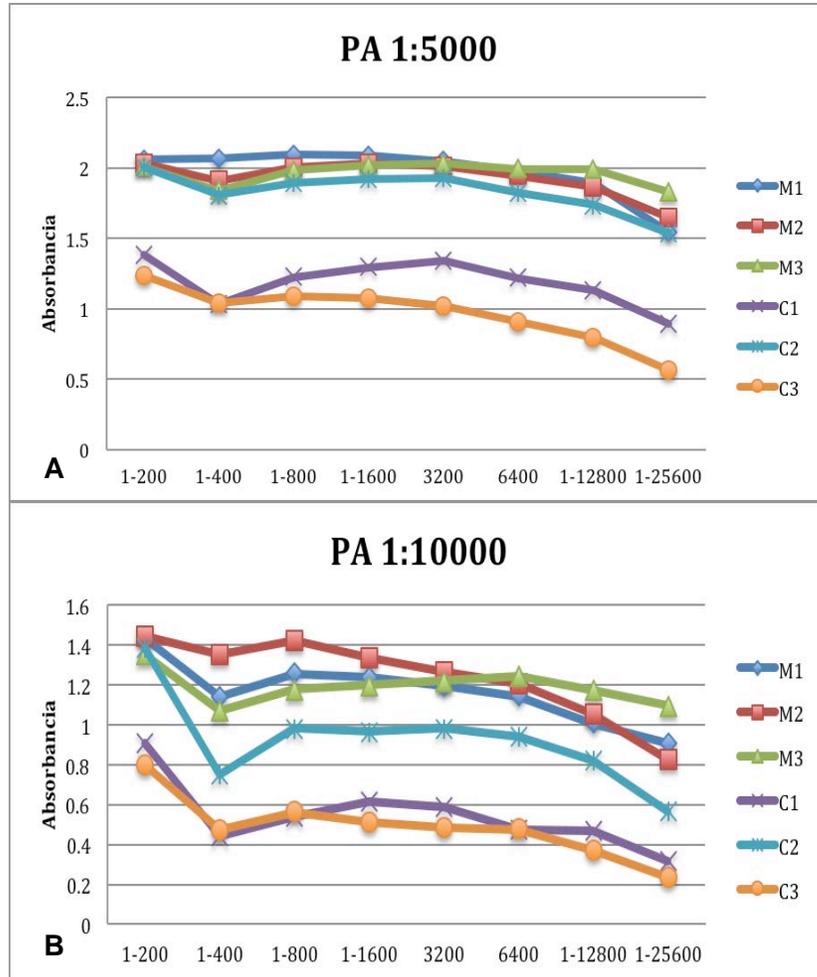
Gráficas de titulación del suero de coatíes desde 1:25 hasta 1:200 (D25-D200) comparando la reacción con 3 conjugados diferentes (PA, proteína A; PG, proteína G y anti IgG de perro) a diluciones de 1:2500 (A) y 1:5000 (B).

**Anexo 8. Comparación de tres conjugados diferentes con muestras de mapaches.**



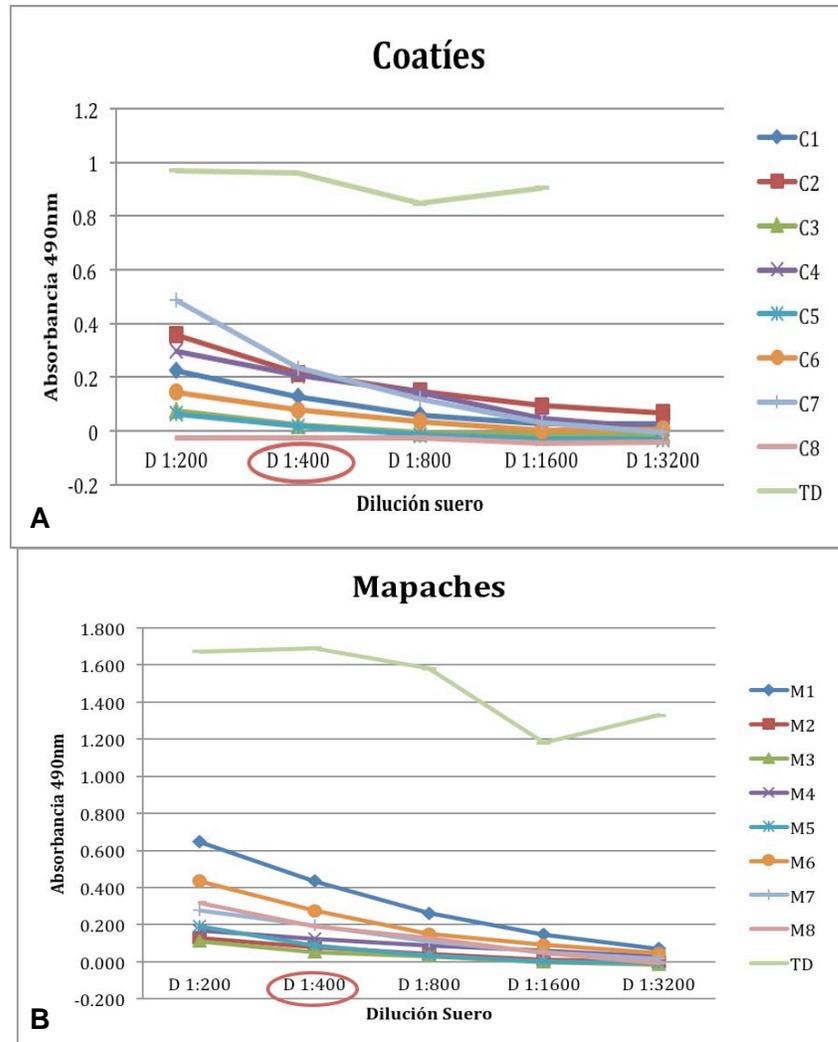
Gráficas de titulación del suero de mapaches desde 1:25 hasta 1:200 (D25-D200) comparando la reacción con 3 conjugados diferentes (PA, proteína A; PG, proteína G y anti IgG de perro) a diluciones de 1:2500 (A) y 1:5000 (B).

**Anexo 9. Estandarización de la dilución del conjugado Proteína A peroxidasa en muestras de prociñidos.**



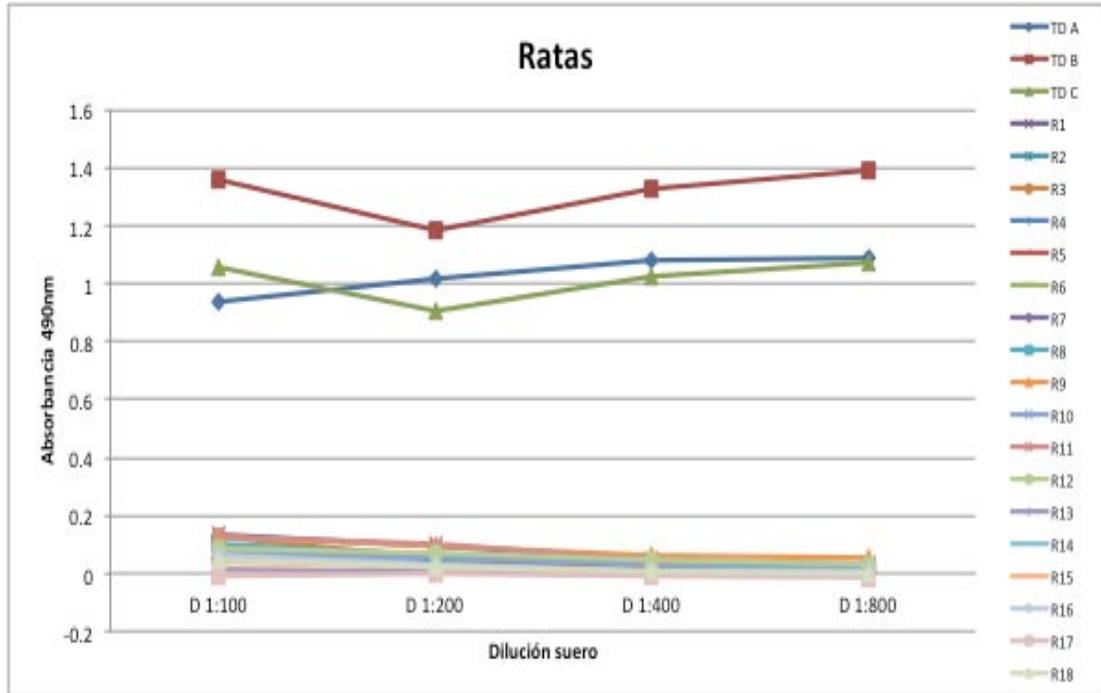
Gráficas de titulación del suero de 3 mapaches y 3 coatíes diferentes (M1-M3, sueros de mapache; C1-C3, sueros de coatíes) diluidos desde 1:200 hasta 1:25600 comparando la reacción con dos diluciones de la Proteína A, 1:5000 (A) y 1:10000 (B).

**Anexo 10. Estandarización del ELISA indirecto para *Toxoplasma gondii* con muestras de prociónidos.**



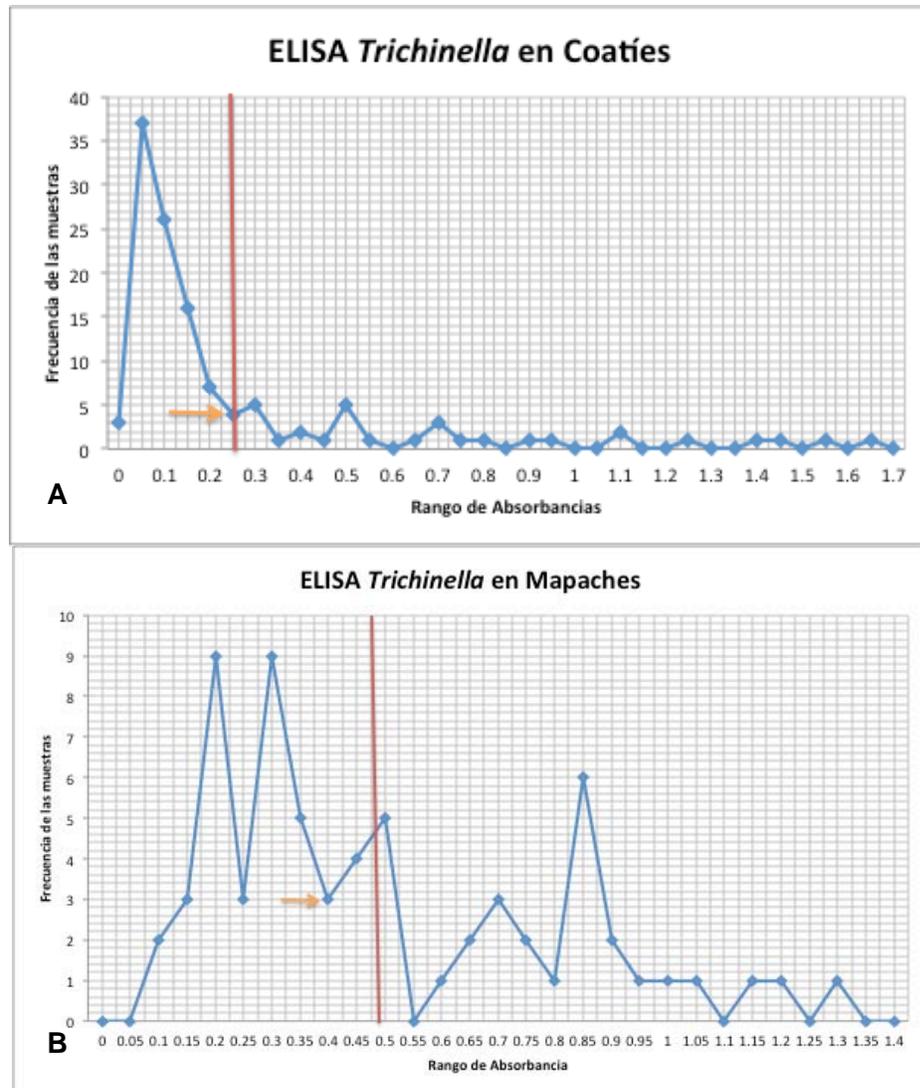
Gráficas de titulación del suero de 8 coatíes diferentes (A) y 8 mapaches diferentes (B) con diluciones desde 1:200 hasta 1:3200 en un ELISA indirecto. El círculo rojo indica la dilución elegida para estandarizar el ensayo: 1:400. (C1-C8, Muestras de coatí; M1-M8, muestras de mapache; TD, testigo directo).

**Anexo 11. Estandarización del ELISA indirecto para *Toxoplasma gondii* con muestras de ratas.**



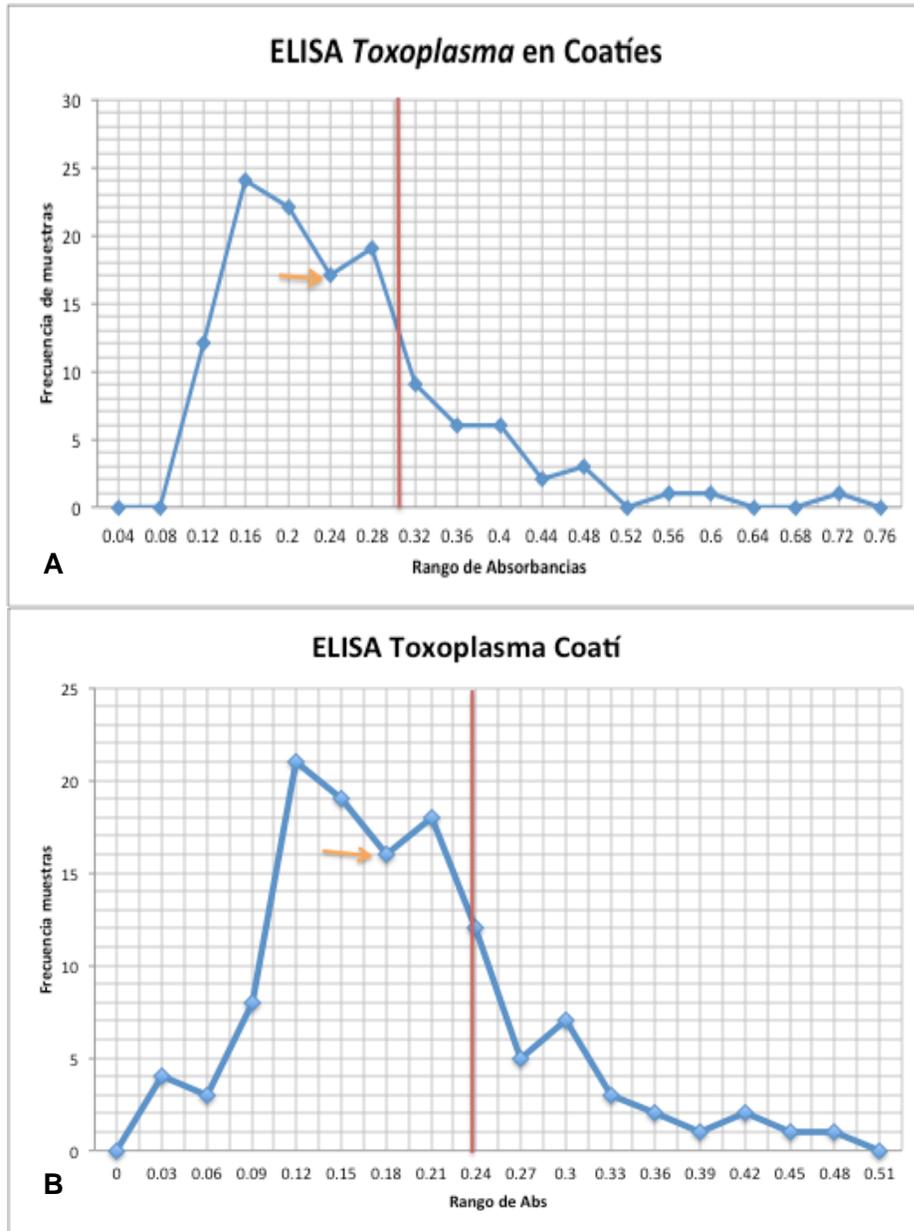
Gráfica de titulación de sueros de ratas desde 1:100 hasta 1:800 en un ELISA indirecto. Se analizaron las 18 muestras de suero (TD A-C, testigo directo de sueros con el conjugado; R1-18, muestras de suero).

Anexo 12. Cálculo del Punto de Corte mediante gráficas de distribución de frecuencias en los ELISAs para *Trichinella* con muestras de prociónidos.



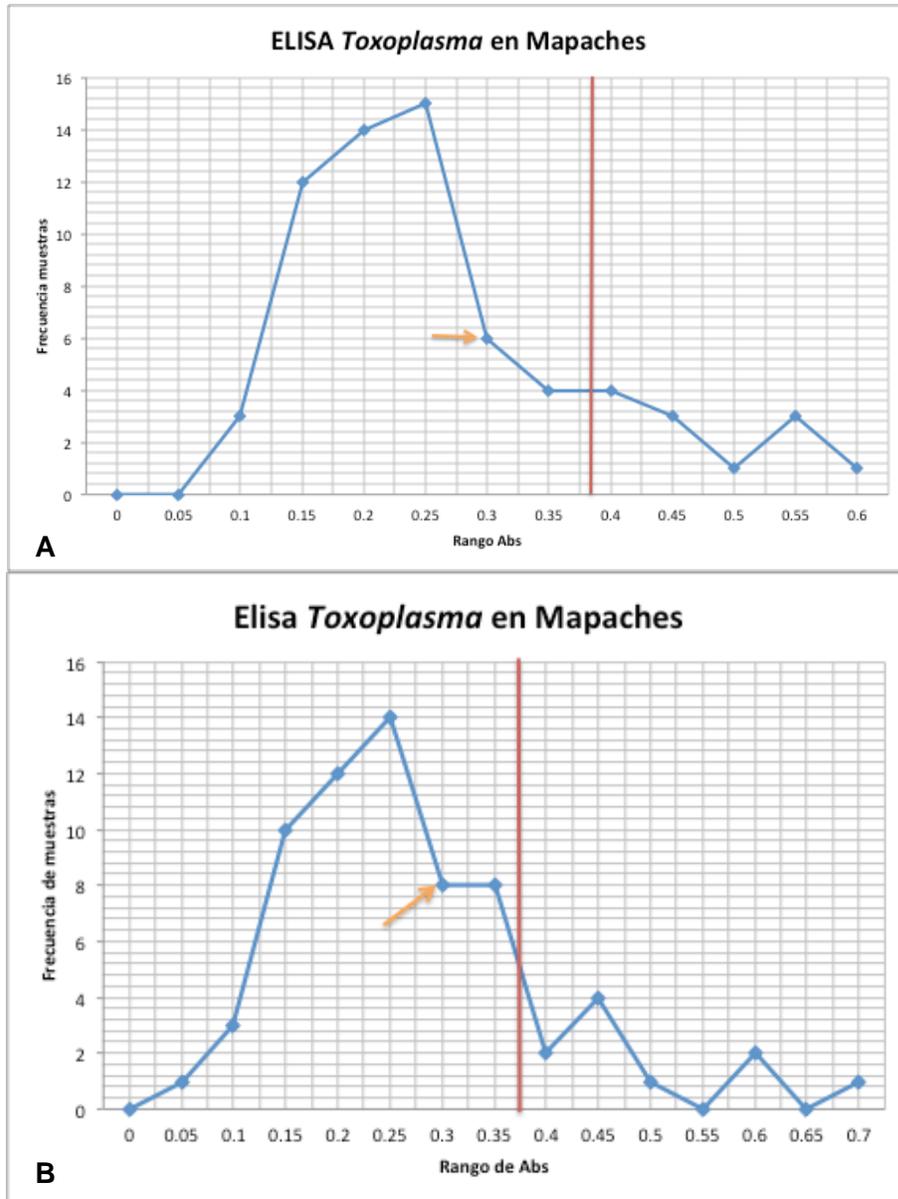
Gráficas de distribución de frecuencias de las absorbancias (Abs) obtenidas en el ELISA para *Trichinella* en coatiés (A) y mapaches (B). La flecha indica el valor elegido a partir del cual se consideró la población de absorbancias bajas. La línea roja indica el PC calculado.

**Anexo 13. Cálculo del Punto de Corte mediante gráficas de distribución de frecuencias en los ELISAs para *Toxoplasma gondii* con muestras de coatíes.**



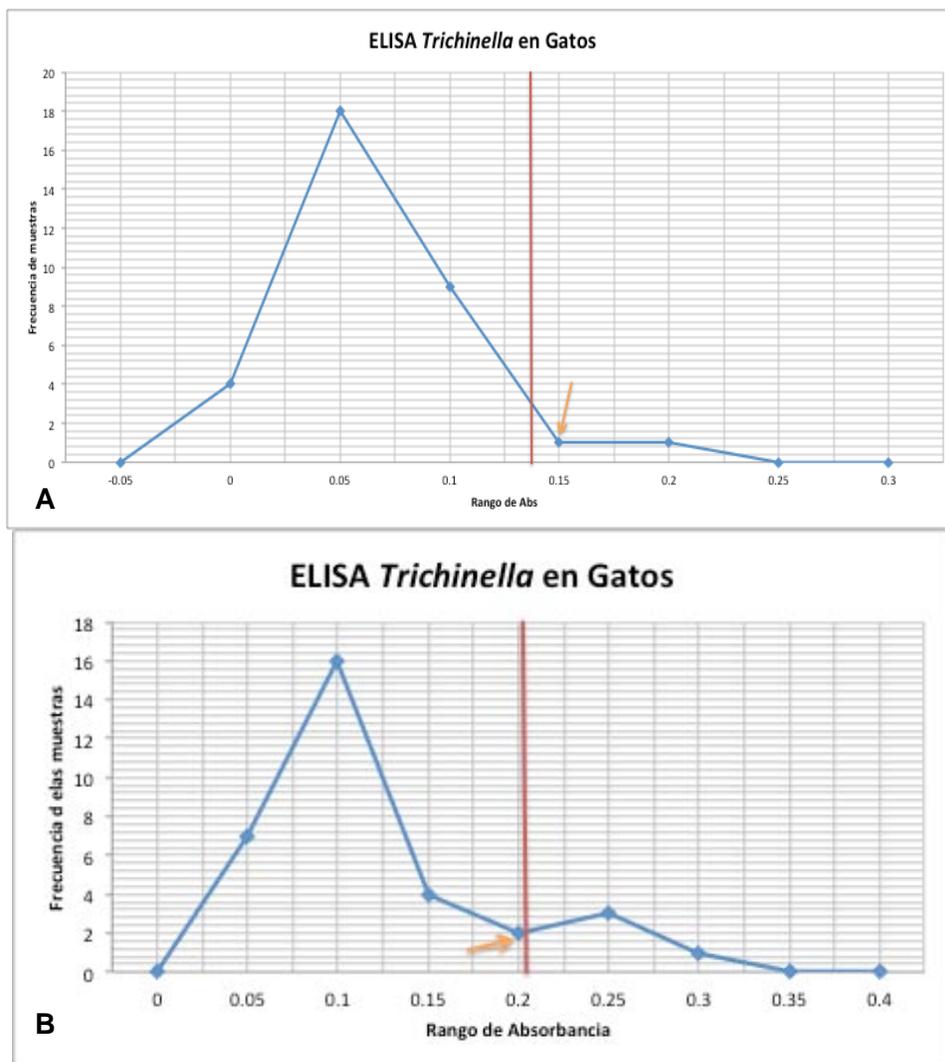
Gráficas de distribución de frecuencias de las absorbancias obtenidas en el ELISA para *Toxoplasma* en coatíes de dos diferentes ensayos (**A** y **B**). La flecha indica el valor elegido a partir del cual se consideró la población de absorbancias bajas. La línea roja indica el PC calculado.

**Anexo 14. Cálculo del Punto de Corte mediante gráficas de distribución de frecuencias en los ELISAs para *Toxoplasma gondii* con muestras de mapaches.**



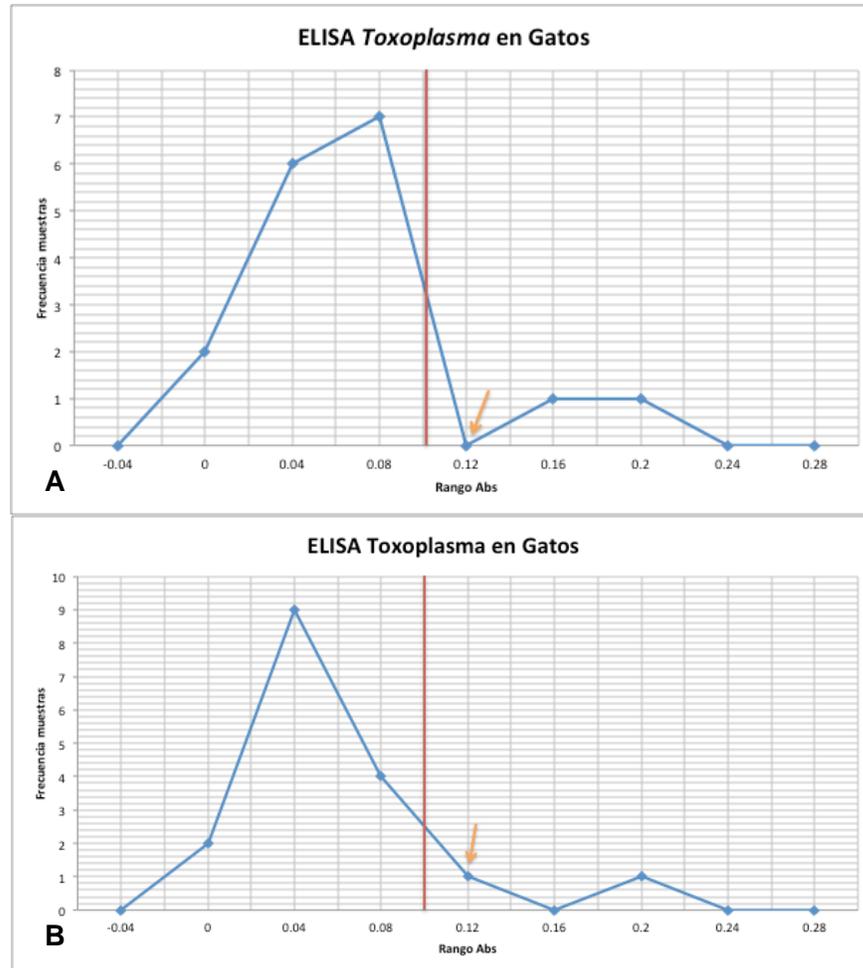
Graficas de distribución de frecuencias de las absorbancias obtenidas en el ELISA para *Toxoplasma* en mapaches de dos diferentes ensayos (**A** y **B**). La flecha indica el valor elegido a partir del cual se consideró la población de absorbancias bajas. La línea roja indica el PC calculado.

**Anexo 15. Cálculo del Punto de Corte mediante gráficas de distribución de frecuencias en los ELISAs para *Trichinella* con muestras de gatos.**



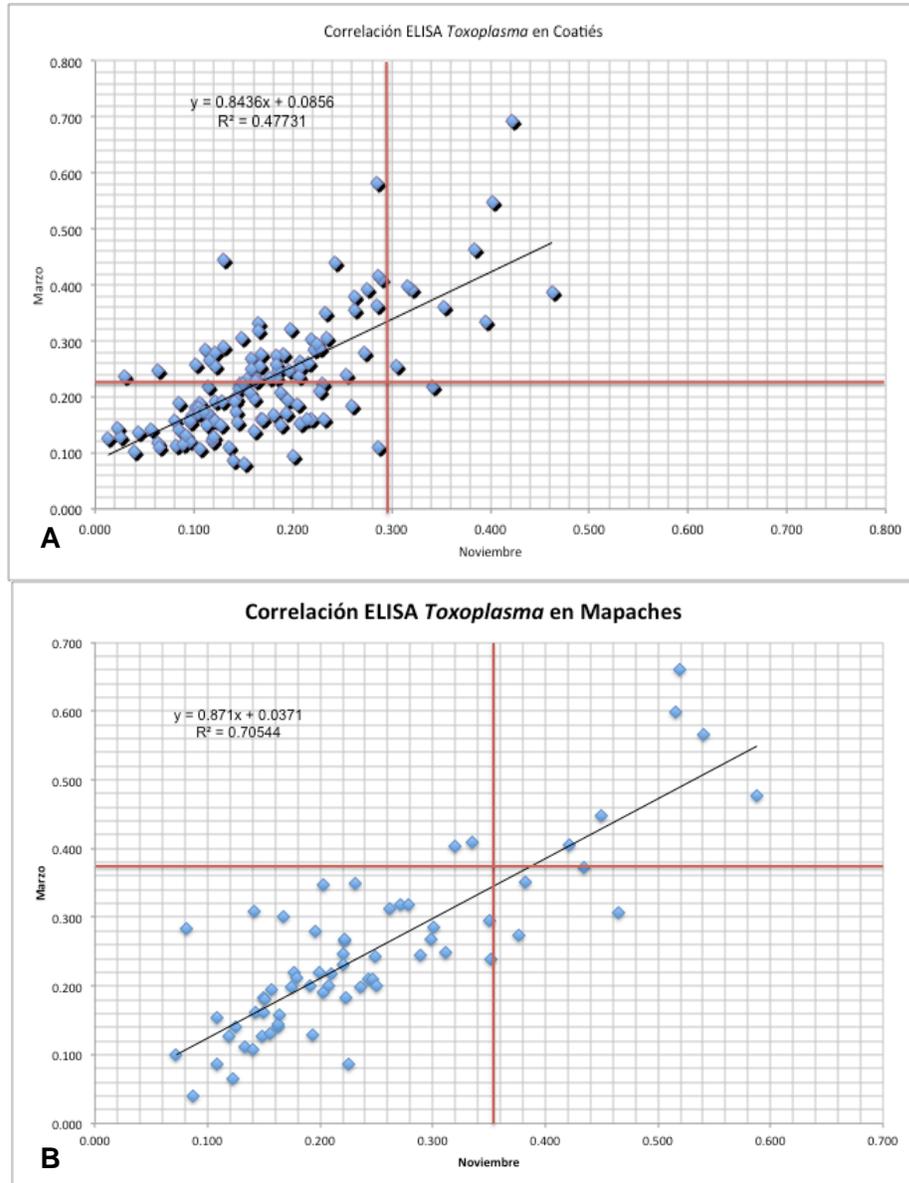
Gráfica de distribución de frecuencias de las absorbancias obtenidas en el ELISA para *Trichinella* en gatos de dos diferentes ensayos (**A** y **B**). La flecha indica el valor elegido a partir del cual se consideró la población de absorbancias bajas. La línea roja indica el PC calculado.

**Anexo 16. Cálculo del Punto de Corte mediante gráficas de distribución de frecuencias en los ELISAs para *Toxoplasma gondii* con muestras de gatos.**



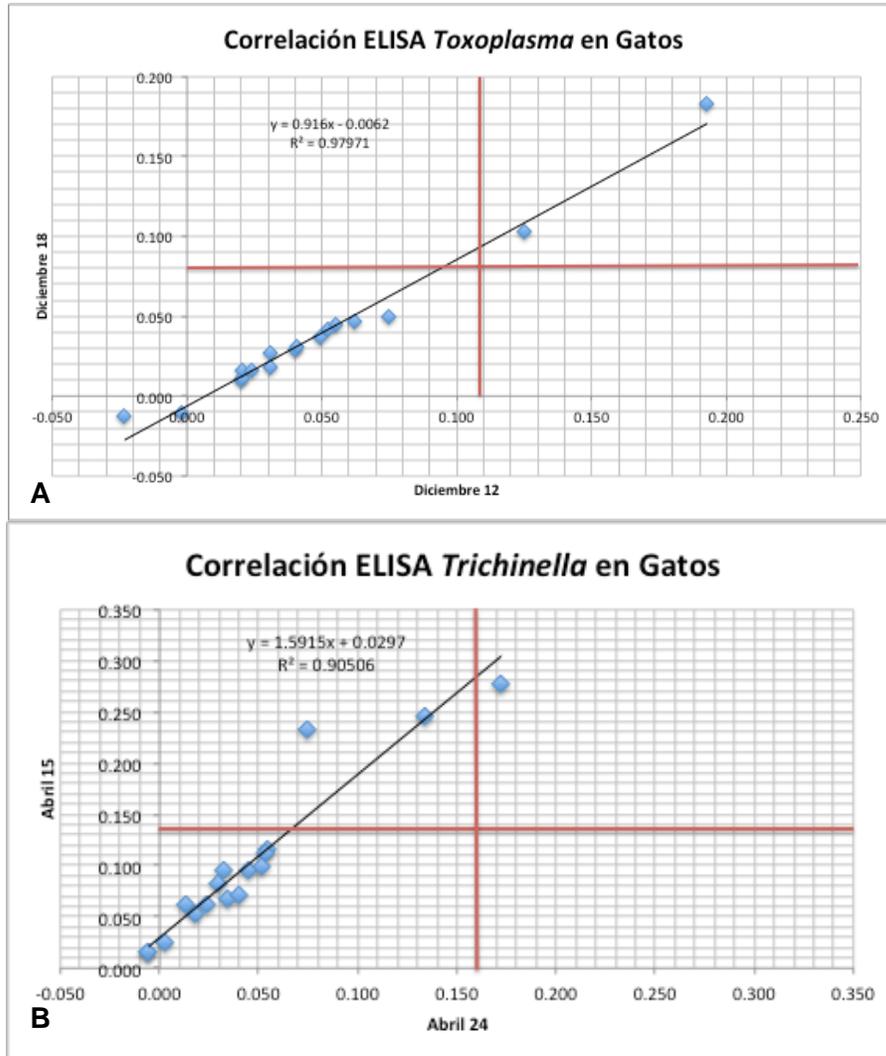
Distribución de frecuencias de las absorbancias obtenidas en el ELISA para *Toxoplasma* en gatos de dos diferentes ensayos (**A** y **B**). La flecha indica el valor elegido a partir del cual se consideró la población de absorbancias bajas. La línea roja indica el PC calculado.

**Anexo 17. Comparación de los resultados de los ELISAs para *Toxoplasma gondii* con muestras de prociónidos.**



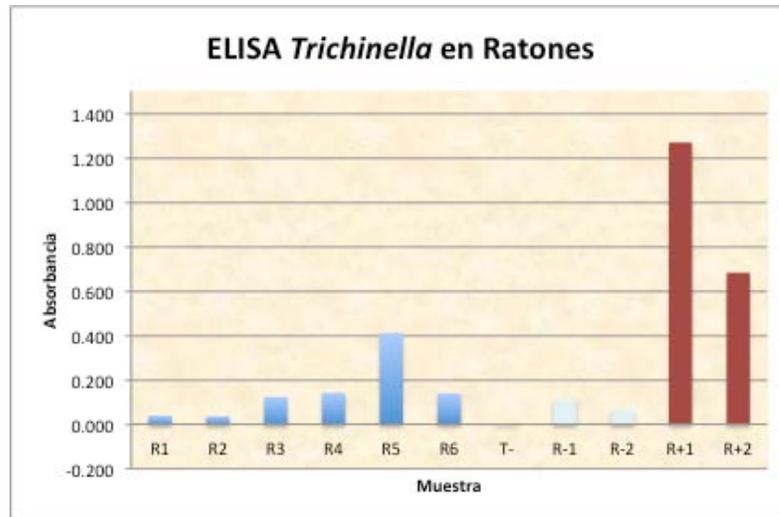
Gráfica de correlación entre ELISAs de *Toxoplasma* con las muestras de coatiés (**A**) y de mapaches (**B**), las líneas rojas representan el punto de corte para cada ensayo.

**Anexo 18. Comparación de los resultados de los ELISAs para *Toxoplasma gondii* y *Trichinella* con muestras de gatos.**

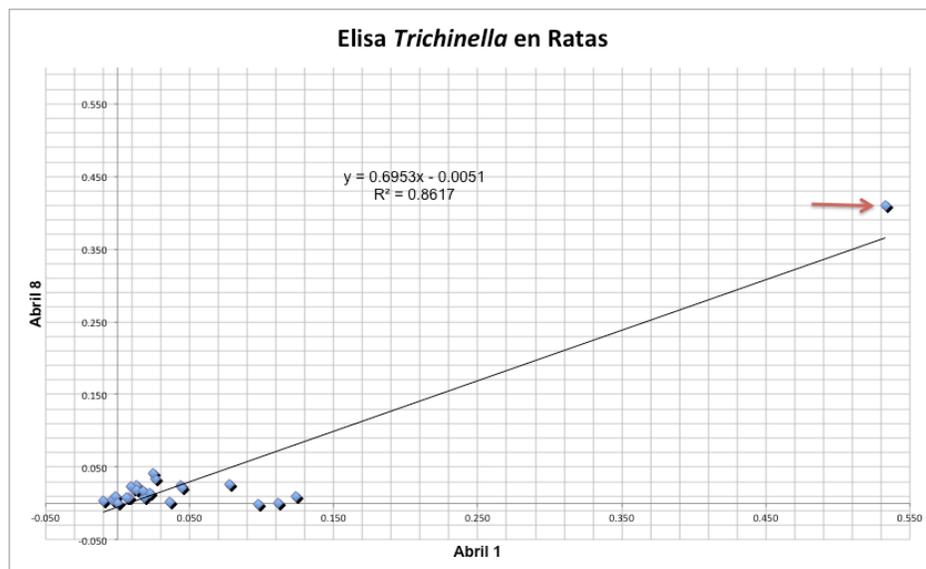


Gráfica de correlación entre ELISAs de las muestras de gatos para *Toxoplasma* (A) y *Trichinella* (B), las líneas rojas representan el punto de corte para cada ensayo.

## Anexo 19. ELISA para *Trichinella* con muestras de roedores.

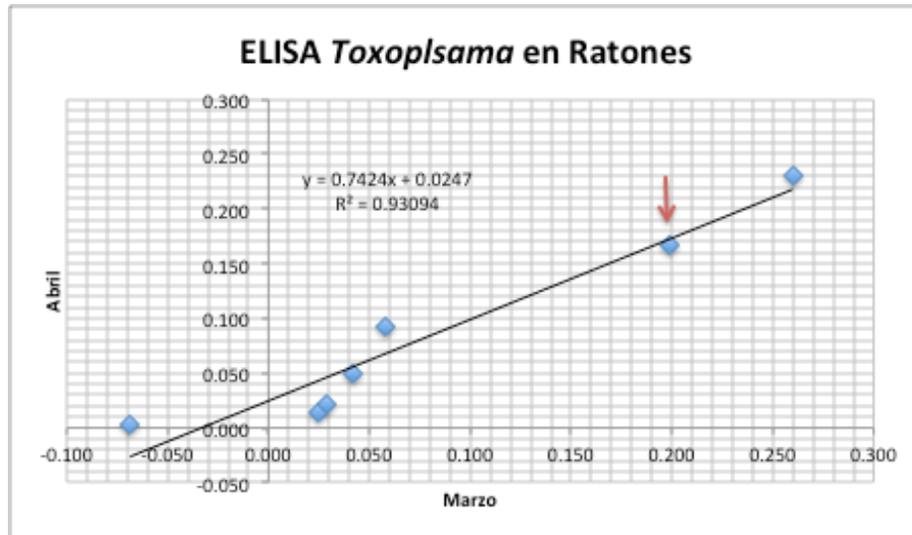


Gráfica de barras de las absorbancias obtenidas en el ELISA para *Trichinella* en ratones (R1-R6, muestras; T-, Testigo negativo; R-1 -2, Control negativo de laboratorio; R+1 +2, Control positivo de laboratorio).

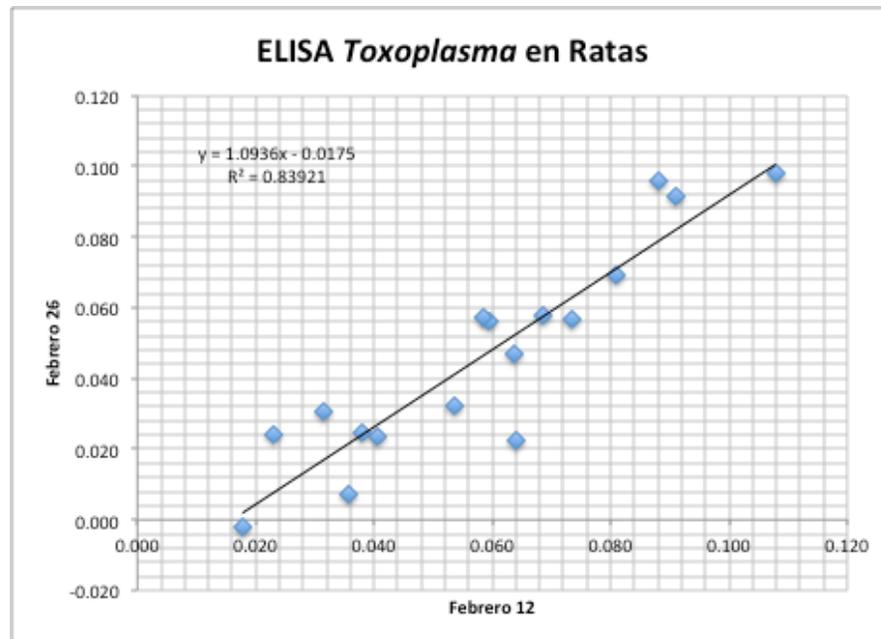


Gráfica de correlación entre los ELISAs de *Trichinella* con muestras de ratas, la flecha señala el control positivo de laboratorio, los demás puntos son las muestras y el control negativo de laboratorio.

Anexo 20. ELISA para *Toxoplasma gondii* con muestras de roedores.



Gráfica de correlación de los ELISAs para *Toxoplasma* en ratones, la flecha indica el control positivo de laboratorio, los demás puntos son las muestras y el control negativo de laboratorio, solamente una muestra fue considerada positiva.



Gráfica de correlación del ELISA para *Toxoplasma* con las muestras de ratas, las 19 muestras fueron consideradas como negativas.