

145
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DETECCION DE ANTICUERPOS CONTRA
Toxoplasma gondii EN SUERO DE WALLABIE DE
CUELLO ROJO (Macropus rufogriseus) MEDIANTE LA
PRUEBA DE FIJACION DE COMPLEMENTO DIRECTA.

T E S I S

QUE PRESENTA:

ELIZABETH VIDAL HERNANDEZ

PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA



ASESORES: M.V.Z. FERNANDO GUAL SILL

M.V.Z. MYRNA A. VICENCIO MALLEN

MEXICO, D. F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

DETECCION DE ANTICUERPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* EN SUERO DE WALLABIE
DE CUELLO ROJO (*Macropus rufogriseus*) MEDIANTE LA PRUEBA DE FIJACION DE
COMPLEMENTO DIRECTA.

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

de la

Universidad Nacional Autónoma de México

Para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista

Por

Elizabeth Vidal Hernández

Asesores: M.V.Z. Fernando Gual Sill

M.V.Z. Myrta A. Vicencio Mallen

México, D.F.

1996

DEDICATORIAS

Te doy gracias Señor por estar siempre conmigo, por la familia que tengo, por el privilegio de estudiar ,por haberme puesto en este camino y te ofrezco mi trabajo, mi esfuerzo, mis alegrías y mis penas.

Dedico este trabajo a mis Padres Sra. E. Eugenia Hernández de Vidal y Sr. José Manuel Vidal Gual por su ejemplo, comprensión, sacrificio y esfuerzo.

A mis hermanas María Eugenia , Laura Elena, Rosa Maritza y mi sobrina Vanía que estuvieron conmigo y me apoyaron siempre.

A mi esposo Alonso Rodríguez Barraza que con apoyo y amor siempre me impulso a seguir adelante.

A la familia Rodríguez Barraza por su ayuda y cariño.

A mis asesores M.V.Z Fernando Gual que me dejó compartir la experiencia de tratar con animales silvestres y a M.V.Z. Myrna A. Vicencio Mallén que fué más que mi guía, mi amiga y que gracias a ella llegué hasta el fin.

Agradezco a todas las personas que indirectamente colaboraron para realizar este trabajo

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	14
RESULTADOS	19
DISCUSION	22
CONCLUSIONES	24
LITERATURA CITADA	26
FIGURAS	5-6
CUADROS	15,20,21

RESUMEN

VIDAL HERNANDEZ ELIZABETH. Detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en suero de wallabie de cuello rojo (*Macropus rufogriseus*) mediante la prueba de fijación de complemento directa. (hajo la dirección de: Fernando Gual Sill y Myrna A. Vicencio Mallen).

Se realizó un estudio serológico para detectar anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en wallabies de cuello rojo (*Macropus rufogriseus*) de diversas edades y sexos, albergados en el Zoológico de Chapultepec. Se utilizó la técnica de Fijación de Complemento Directa en microplaca a 37 °C y 4 °C. De los doce sueros probados el 100% presentó anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* tanto en frío como en caliente. La toxoplasmosis como enfermedad epizootica sugiere la importancia de mantener alejados de los zoológicos a los gatos domésticos para prevenir la diseminación de oocistos y la infección por *T. Gondii* a marsupiales susceptibles; así como al personal que se dedica a su cuidado y visitantes del mismo.

INTRODUCCION

La toxoplasmosis es causada por un parásito coccidia ubicuo denominado *Toxoplasma gondii* que tiene distribución mundial (5,7).

Dicho parásito tiene un ciclo sexual en el epitelio intestinal de los felinos y un ciclo asexual extraintestinal en tejidos de humanos, otros mamíferos y aves. Este parásito fué descubierto por Nicolle y Manceaux en 1908, en el norte de Africa en un roedor llamado "Gondi" (*Ctenodactylus gondii*) y posteriormente se ha encontrado en unas 80 especies de animales domésticos y silvestres los cuales se comportan como huéspedes intermediarios. Se identificó en el hombre en 1914 (2,5,7,10).

La importancia de esta infección estriba en que la mayoría de los animales domésticos son huéspedes del parásito, por lo tanto hay varias formas posibles en las cuales el humano se ve implicado en el ciclo biológico del protozoario (11,15).

Debido a que tanto en el hombre como en los animales domésticos, la infección en la mayoría de los casos es de curso subclínico, su importancia ha sido poco apreciada.

TAXONOMIA

Toxoplasma gondii es un protozoario perteneciente al

Reino	Protista
Subreino	Protozoa
Phylum	Apicomplexa
Clase	Sporozoea
Subclase	Coccidia
Orden	Eucoccidida

Suborden	Eimeriina
Familia	Sarcocystidae
Genero	<i>Toxoplasma</i>
Especie	<i>gondii</i>

CICLO DE VIDA

Los gatos domésticos y otras especies de felinos son los únicos huéspedes definitivos de *Toxoplasma gondii*. Después de que el gato ingiere carne infectada se presenta el ciclo coccidiano en el intestino, con estados proliferativos sexuales y con desarrollo de ooquistes. Después los ooquistes son excretados y esporulan en el exterior en medios adecuados de temperatura (20 °C a 24 °C) y humedad; dando lugar a los esporozoítos; éstos son capaces de infectar una gran variedad de huéspedes intermediarios como son roedores, aves, animales silvestres y el hombre entre otros. Los gatos y los huéspedes intermediarios sufren algunas lesiones en diversos tejidos producidas por los taquizoítos en la etapa aguda de la infección.

Los bradizoítos se desarrollan en tejidos quísticos durante la infección crónica y resisten la inmunidad. Cuando los gatos son infectados con bradizoítos el periodo prepatente es mucho más corto (4 a 10 días) que cuando ingieren ooquistes (21 a 48 días); esto muestra la importancia biológica del bradizoíto en esta etapa. Figura 1 (13,16).

El parásito persiste por más tiempo como tejido quístico en huéspedes intermediarios que como ooquistes en el suelo. El largo recorrido de aves migratorias sirve para difundir la infección en el mundo salvaje (16).

EPIDEMIOLOGIA

La toxoplasmosis en un parque zoológico puede tener varias formas de transmisión:

a) Ingestión de oocistos en material contaminado por heces de gato.(almacenes de heno, grano, etc.)

El personal encargado de los animales, los roedores, las aves, las cucarachas, las escobas, etc. pueden ser vectores mecánicos.

b) Ingestión de tejido quístico en carne cruda o poco cocida.

c) Infección transplacentaria de trofozoitos (transmisión vertical).

Figura 2 (16,31).

El curso de la infección depende de varios factores tales como la receptividad natural de la especie animal y su capacidad de reacción que está influenciada por diversas circunstancias como su estado fisiológico, dosis infectante, así como las posibles reinfecciones (7).

Los animales de zoológico son especialmente susceptibles a la toxoplasmosis debido a diversas causas como: predisposición genética, tensión o estrés provocado por el cautiverio, exposición a bajas temperaturas, gestación o lactación, edades extremas, desordenes endócrinos, tratamiento con corticosteroides y otros agentes inmunosupresores, infecciones concomitantes y la proximidad de gatos domésticos y silvestres.(5,10,20,30).

TRANSMISION DE TOXOPLASMA
(Modificado de Quinn, P.J. 1972)

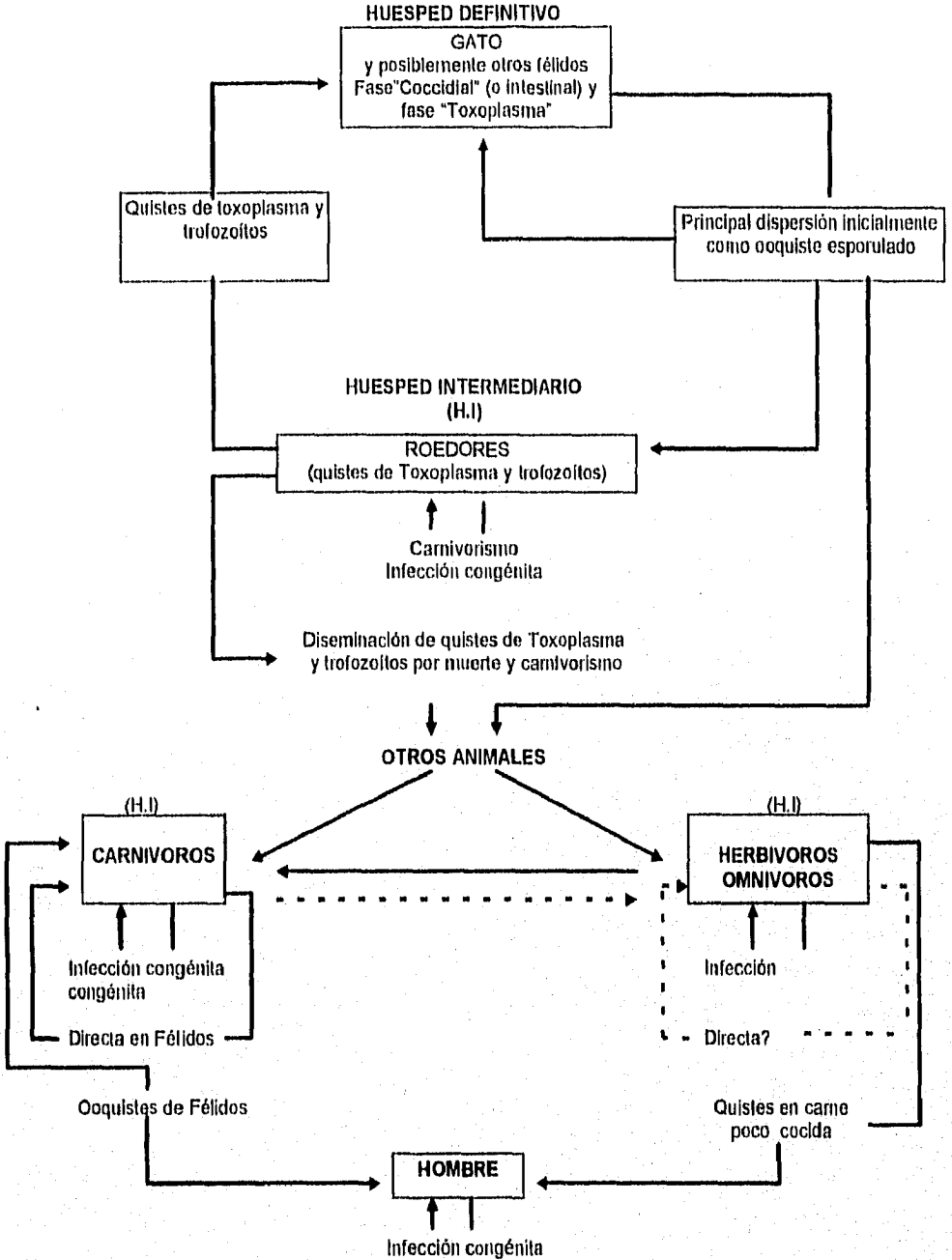


FIGURA 1

Ciclo de *Toxoplasma gondii* en los Zoológicos

(Modificado de Frenkel, 1990)

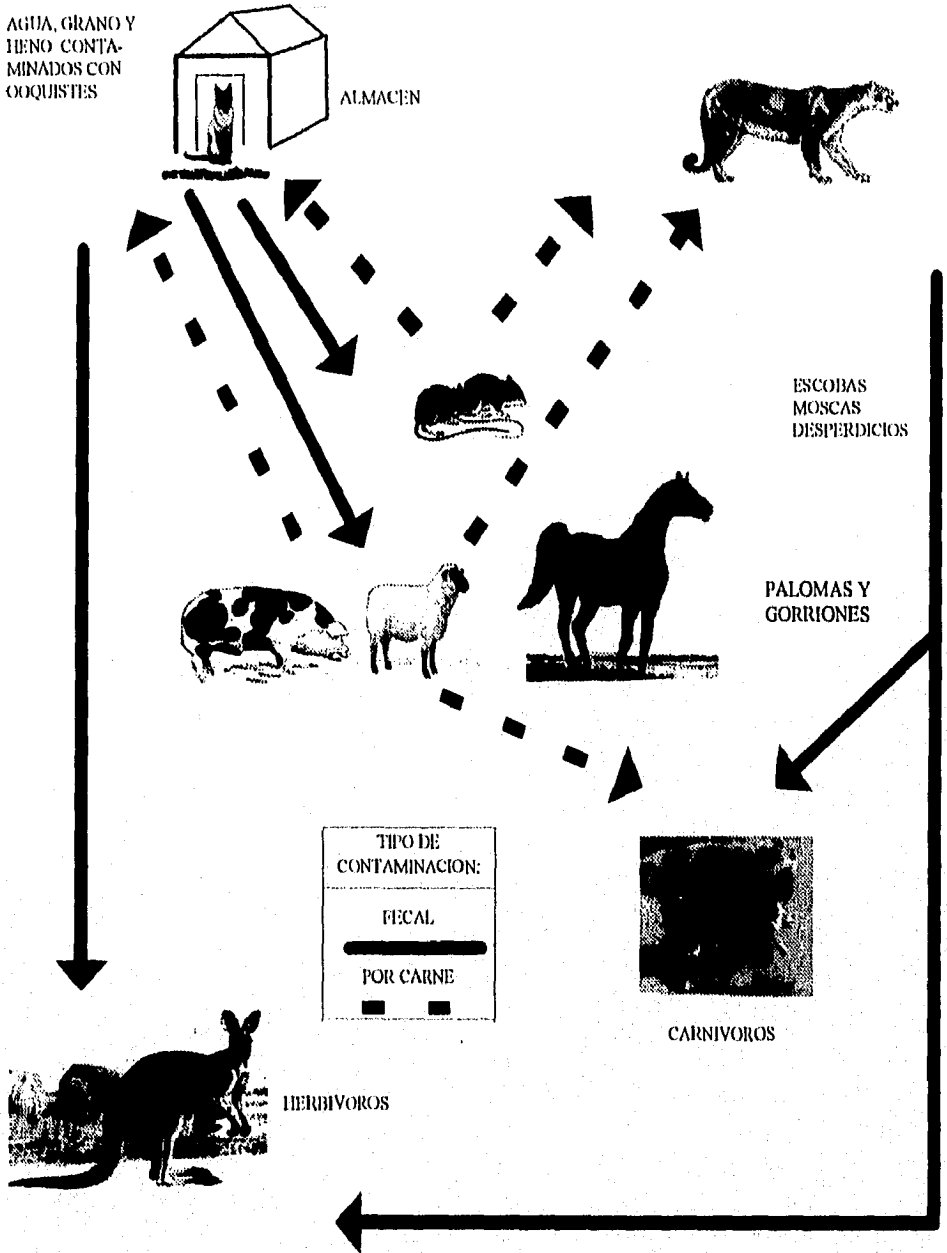


FIGURA 2

Dentro de los marsupiales, la familia *Macropodidae* comprende diferentes especies de canguros y wallabies. La infección por toxoplasma en marsupiales en vida libre es común pero generalmente inaparente y se detecta solamente por exámenes serológicos o histopatológicos. Las infecciones subclínicas pueden provocar la muerte aguda en animales sometidos a estrés tanto en vida libre como en cautiverio y se observan casos de miocarditis y encefalitis fulminante (4).

PATOGENIA Y PATOLOGIA

La patofisiología de la infección en huéspedes intermediarios es igual si la infección es adquirida mediante la ingestión de oocistos o por la ingestión de tejido quístico en la carne. Dentro del huésped primoinfectado, los esporozoítos contenidos en el oocisto o los trofozoítos (bradizoítos) provenientes del quiste invaden las células ejerciendo una acción exfoliatriz al alimentarse del citoplasma de las células parasitadas siendo ésta una acción traumática que se manifiesta por la ruptura de la célula parasitada, dando como consecuencia la invasión de otras células. Esta acción es responsable de las lesiones que se observan a la necropsia (34).

La necrosis es causada por el crecimiento intracelular de los taquizoítos (etapa secundaria al trofozoíto). El proceso inflamatorio sigue a la necrosis inicial, después los taquizoítos empiezan a desaparecer de los tejidos viscerales, pero permanecen como quistes (bradizoítos) en tejido nervioso como la médula y cerebro, en donde permanecen toda la vida del animal (34).

Después de formados los quistes, la enfermedad no tarda en manifestarse clínicamente. Muchos casos de toxoplasmosis leve en animales y aves en un parque zoológico no se diagnostican y la

infección se resuelve sin tratamiento. Los animales desarrollan inmunidad después de la infección inicial y no manifiestan la enfermedad a menos que sean sometidos a tensión y/o inmunosupresión. Estos animales no transmiten la infección a menos que sean consumidos por otros animales (31).

La patogenia incluye la invasión de nódulos mesentéricos y otros órganos por vía linfática y sanguínea; multiplicación en diferentes tejidos, desarrollo de procesos como linfadenitis, hepatitis, neumonía y encefalitis (5).

La neumonía se debe a la confluencia de muchos puntos focales en pulmón; la hepatitis puede convertirse lo suficientemente severa como para producir ictericia y la miositis puede progresar a un estado de incapacitación. Un pequeño foco en el tallo encefálico cerca de un centro vital puede causar una muerte súbita, mientras que un daño en la médula puede producir monoplejía o en algunos casos paraplejía, pudiendo también causar alteraciones en el ritmo cardíaco (5).

Las lesiones encontradas a la necropsia en algunos animales no son macroscópicamente visibles, en algunos casos se observa congestión, edema y consolidación pulmonar, glándulas adrenales dilatadas y congestionadas, hemorragia y ulceración del estómago e intestino delgado, linfadenomegalia y esplenomegalia. Microscópicamente, en pulmón se observa una neumonía intersticial y acumulación de macrófagos. El miocardio, presenta necrosis e inflamación neutrofílica (8,9,10).

En los wallables se ha encontrado miocarditis, miositis, hidrotórax y ascitis los cuales se atribuyen a alteraciones cardíacas, la signología entérica es atribuida a la miositis. También pueden encontrarse otros órganos lesionados como páncreas y bazo. Se

pueden observar lesiones en el ojo como queratitis, uveítis, coroidoretinitis o endoftalmítis, iridociclitis crónica y reacción inflamatoria focal (1,2,9,10,28,35,37).

SIGNOLOGIA

Aunque la toxoplasmosis no siempre se manifiesta, se ha informado la presencia de ésta en colecciones zoológicas. Estos informes detallan la enfermedad y muerte en marsupiales, monos y leonores, entre otros, después de la infección por *Toxoplasma gondii* (31).

Las manifestaciones clínicas se revelan cuando los cambios patológicos son lo suficientemente severos para causar la disfunción.

En el parque zoológico de Knoxville se observaron casos de toxoplasmosis en wallabies y otros marsupiales, los cuales presentaban tetargia, insuficiencia respiratoria y muerte al cabo de unas horas después del período de tetargia (12).

En los marsupiales la enfermedad se presenta en dos formas :

- 1) Toxoplasmosis aguda, que a menudo se presenta como brotes y muerte repentina. Los signos clínicos que llegan a observarse son insuficiencia respiratoria y/o lesiones del sistema nervioso.
- 2) El segundo tipo es resultado de la reactivación de la infección latente (10,25,26,27,28,31).

Los animales que sobreviven a la epizootia desarrollan anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*, pero esta inmunidad producida en los marsupiales, no parece ser protectora por largos períodos de tiempo. Generalmente estos animales mueren del síndrome clínico característico, lo cual puede ser debido a que al igual que otras partículas antigénicas, los protozoarios pueden estimular tanto la inmunidad humoral como la mediada por células. En general los anticuerpos sirven para controlar el nivel de parásitos libres en la

corriente sanguínea y en los líquidos tisulares, en tanto que las respuestas inmunitarias mediadas por células se orientan principalmente contra los parásitos intracelulares. Los anticuerpos séricos contra los antígenos de superficie de los protozoarios pueden opsonizarlos, aglutinarlos o inmovilizarlos. Los anticuerpos junto con el complemento y con las células citotóxicas, pueden matarlos y algunos anticuerpos pueden actuar para inhibir a las enzimas de los protozoarios de modo que se corte su reproducción.

Los protozoarios intracelulares se destruyen por medio de una respuesta inmunitaria mediada por células. Los linfocitos T sensibilizados liberan interferón (IFN) gamma principalmente como en respuesta a las ribonucleoproteínas de *Toxoplasma*. Este IFN gamma puede actuar sobre los macrófagos, primero para hacerlos resistentes a los efectos de *Toxoplasma*, y segundo para ayudarlos a matar a los microorganismos intracelulares, ya que permite la fusión fagolisosoma. Algunos de estos linfocitos T pueden liberar también factores que interfieren de manera directa con la reproducción de *Toxoplasma*. Además, los linfocitos T citotóxicos también pueden destruir a los taquizoitos de *Toxoplasma* y a las células infectadas por dicho parásito. Sin embargo, los taquizoitos de *T. gondii* pueden transformarse en una forma de quiste conteniendo bradizoitos; que parecen ser no inmunogénicos y no estimulan una respuesta inflamatoria. Es posible que este estado quístico no sea reconocido como exógeno (38).

Los protozoarios pueden evadir la respuesta inmunitaria mediante la inmunosupresión inducida para promover su supervivencia. Además de la inmunosupresión, los protozoarios han evolucionado hasta desarrollar 2 estrategias diferentes para evadir la inmunidad. Una de ellas implica volverse hipoantigénico o carecer de antigenicidad; un ejemplo son los quistes de *T. Gondii* que no estimulan la respuesta del huésped y la

capacidad de alterar con rapidez y repetidamente sus antígenos de superficie.

Como alternativa a la evolución de estudios no inmunogénicos, algunos protozoarios pueden volverse no antigénicos desde el punto de vista funcional, enmascarándose con los antígenos del huésped (38).

DIAGNOSTICO

El diagnóstico de *T. gondii* se lleva a cabo por medio de :

- a) Hallazgo de ooquistes en heces de gato.
- b) Tinción de Sabin y Feldman: aunque ha sido usada hace tiempo, tiene los inconvenientes de necesitar sueros de cada especie a analizar y el riesgo de infección es alto por trabajar con el parásito vivo.
- c) Pruebas serológicas que demuestran la presencia de anticuerpos como son:
 - La prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes: permite la identificación y titulación de anticuerpos en el suero y de los antígenos en el tejido o cultivo de células.
 - La prueba directa de anticuerpos fluorescentes: es la más efectiva de todas, pero tiene el inconveniente del alto costo de los reactivos y equipo, además de requerir equipo altamente especializado.
 - La prueba de fijación de complemento es una de las pruebas más sensibles y no se corren riesgos de contaminación.
 - La prueba de ELISA es efectiva pero tiene el inconveniente de el alto costo de los reactivos.
- d) Mediante exámenes histopatológicos de órganos en los que se encuentran tejidos quísticos como cerebro, nódulos linfáticos, pulmón y músculo (3,21,29,31).

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

El diagnóstico diferencial debe realizarse con otros miembros de la familia *Sarcocystidae*, como *Besnotia* y *Sarcocystis*, los cuales tienen un ciclo de vida, estructura y ultraestructura similar, diferenciándose en que ambos tienen el quiste de mayor tamaño que el de *Toxoplasma* (1).

Toxoplasma tiene predilección por cerebro y retina; *Sarcocystis* afecta esqueleto y músculo cardíaco (no se ha reportado en cerebro) y *Besnotia* invade tejido conectivo especialmente el de la piel; experimentalmente se ha visto que en hamster produce lesiones en ojo cuando invade el cristalino (1).

De la misma manera los ooquistes de *Toxoplasma gondii* son indistinguibles desde el punto de vista morfométrico de los de *Hammondia hammondi* y *Besnotia darlingi* en heces felinas. Los ooquistes de estas coccidias solo se diferencian por esporulación e inoculación en animales (17).

PREVENCIÓN Y CONTROL

La toxoplasmosis se puede prevenir de diferentes formas:

- 1) evitar el contacto entre felinos domésticos y silvestres en los parques zoológicos.
- 2) Controlar vectores como pueden ser roedores y aves; así como evitar la circulación de encargados de animales en las diferentes áreas de los zoológicos (almacén de alimentos y en albergues de animales susceptibles a la enfermedad) ya que funcionan como vehículos del parásito (15).
- 3) Evitar el acceso de gatos domésticos a los exhibidores de los animales y a las zonas de almacenamiento de alimento; ya que la mayoría de los marsupiales australianos son herbívoros y

presumiblemente adquieren *T. gondii* por la ingestión de ooquistes en el alimento (22,24,30,39).

4) La vacunación con ooquistes de *Hammondia hammondi* por vía oral ofrece protección parcial contra efectos clínicos fatales (6,36). En macrópodos los tratamientos que se han reportado son: trimetopim (60 mg) y sulfadiazina (300 mg) por animal durante 5 días por vía intramuscular. El tratamiento se suspende por 2 días y se reinicia durante otros 4 días (14,28).

La clindamicina tiene efectos moderados contra *T. gondii*; es usada cuando existe intolerancia a la combinación sulfadiazina-pirelamina y es efectiva para cruzar las barreras hematoencefálica y hematovascular en animales y humanos (16,17).

HIPOTESIS

El 100% de la población de wallabies de cuello rojo (*Macropus rufogriseus*) pertenecientes al Zoológico de Chapultepec presentan anticuerpos detectables en suero contra *Toxoplasma gondii*.

OBJETIVO

Demostrar la presencia de anticuerpos en el suero del 100% de la población de wallabies de cuello rojo (*Macropus rufogriseus*) del Zoológico de Chapultepec mediante la prueba de fijación de complemento directa.

MATERIAL Y METODOS

Para el estudio se eligió la prueba de fijación de complemento directa en microplaca a 37 y 4 ° C, debido a la poca cantidad de suero y reactivos que se requieren para su realización, así como la obtención rápida de resultados.

MATERIAL

Se obtuvieron muestras de 12 wallabies de cuello rojo (*Macropus rufogriseus*) pertenecientes al Zoológico de Chapultepec, (9 hembras y 3 machos de diferentes edades), siendo ésta la población total de ejemplares al momento del presente estudio. Estos animales comparten el mismo albergue así como el mismo tipo de alimentación y de manejo. (Cuadro 1)

cuadro 1. IDENTIFICACION DE WALLABIES MUESTREADOS

Se presenta la identificación de los animales muestreados, correlacionados con el número de muestra asignado en la prueba de fijación de complemento.

IDENTIFICACION DE WALLABIES MUESTREADOS				
MUESTRA	SEXO	EDAD		IDENTIFICACION
		AÑOS	MESES	
1	HEMBRA	2A.	2M.	JUVENIL
2	HEMBRA	1A.	2M.	JUVENIL
3	HEMBRA	2A.	4M.	JUVENIL
4	HEMBRA		11M.	JUVENIL
5	HEMBRA	1A.	4M.	JUVENIL
6	HEMBRA	3A.	2M.	JUVENIL
7	HEMBRA	5A.	4M.	ADULTA
8	HEMBRA	4A.	6M.	ADULTA
9*	HEMBRA	6-7A		ADULTA
10	MACHO		11M.	JUVENIL
11	MACHO	1A.	9M.	JUVENIL
12	MACHO	4A.	7M.	ADULTO

* animal donado procedente del Zoológico de Taronga en Australia.

MÉTODO

Para la obtención de la muestra, los wallabies fueron contenidos físicamente y colocados en sacos, dejando salir únicamente la cola para tomar la muestra de la vena caudal con jeringas de 10 ml, llevando a cabo previamente la limpieza y desinfección de la zona a puncionar.

Posteriormente se dejaron reposar las muestras por espacio de 3 a 5 horas para separar el suero, una vez obtenido éste se colocó en tubos estériles para ser congelados.

Para su transporte se utilizó una caja de cierre hermético con bolsas de gel refrigerante. Las muestras se trabajaron en el Laboratorio de Serología del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

En el laboratorio los sueros fueron colocados en un congelador a una temperatura de entre -12°C y -14°C . Para la ejecución de las pruebas los sueros fueron extraídos del congelador y se esperó a que se descongelaran; enseguida se obtuvo 0.1 ml de cada tubo para hacer las diluciones necesarias.

REALIZACION DE LA PRUEBA

La técnica empleada fué la de fijación de complemento directa en microplaca y se realizó a 37°C y 4°C para poder determinar la presencia de anticuerpos de tipo Ig G.

La prueba de fijación de complemento se basa en el efecto biológico de lisis celular del complemento cuando éste es fijado por una reacción antígeno- anticuerpo, donde el antígeno es una célula y el anticuerpo está dirigido contra estructuras celulares. (19,32)

La prueba consiste de 2 fases : una invisible y otra visible.

Los elementos que intervienen en la fase invisible son:

- Suero sospechoso: cuyo complemento ha sido previamente inactivado a 56 °C durante 30 min.
- Antígeno.
- Complemento: se utiliza como fuente de complemento suero normal de cuye, que tiene mayor actividad hemolítica.

En la fase visible se añade el sistema indicador también llamado sistema hemolítico, el cual está constituido por glóbulos rojos de ovino lavados y diluidos al 2% y sensibilizados con anticuerpos específicos llamados hemolisina.

Para realizar la prueba se hicieron diluciones dobles de cada suero. Se inició con una dilución 1:20, se les agregó el antígeno y el complemento estandarizado a 2 UC' (unidades complemento) 100% hemolíticas. Se incubó a 60 min a 37 °C en baño maria y al finalizar este tiempo se agregó el sistema hemolítico incubándose nuevamente a 37 °C por 30 min. Los controles utilizados fueron: control de suero (para detectar efecto anticomplementario del mismo) Ag, Ag-C', C' y SH.

Si en el suero hay anticuerpos específicos contra el antígeno hay una reacción antígeno- anticuerpo y el complemento se fijará a ésta mientras que el sistema hemolítico sedimentará siendo este un resultado positivo.

Ahora bien si el suero carece de anticuerpos específicos para el antígeno conocido, no hay reacción antígeno- anticuerpo por lo que el complemento queda libre y al añadir el sistema hemolítico, éste fija el complemento produciéndose la lisis de los glóbulos rojos

sensibilizados (hemólisis) siendo un resultado negativo. Una prueba de fijación de complemento negativa no descarta la enfermedad y una positiva no siempre confirma la infección aguda. (23)

RESULTADOS

La prueba de fijación de complemento se realizó 5 veces a cada uno de los sueros sospechosos, con el fin de obtener resultados veraces y eliminar los posibles resultados falsos positivos o falsos negativos. Los resultados obtenidos confirman que el 100% de los wallabies de cuello rojo muestreados presentan anticuerpos detectables contra *T. gondii*.

**cuadro 2. TITULOS OBTENIDOS EN LA PRUEBA DE FIJACION DE
COMPLEMENTO A 37 °C.**

Se muestra que los animales con más altos niveles de anticuerpos son los animales adultos y un solo juvenil.

TITULOS OBTENIDOS EN LA PRUEBA DE FIJACION DE COMPLEMENTO A 37 °C						
MUESTRA	PRUEBA 1	PRUEBA 2	PRUEBA 3	PRUEBA 4	PRUEBA 5	IDENTIFICACION
1	1/20	1/80	1/20	1/20	1/20	HEMBRA J.
2	-	1/40	-	-	-	HEMBRA J.
3	1/80	1/80	1/160	1/160	1/160	HEMBRA J.
4	-	-	-	-	1/20	HEMBRA J.
5	-	-	-	1/20	1/20	HEMBRA J.
6	-	-	-	1/20	1/20	HEMBRA J.
7	1/80	1/80	1/320	1/160	1/640	HEMBRA A.
8	-	1/20	1/40	1/20	1/20	HEMBRA A.
9	1/20	1/80	1/20	1/160	1/320	HEMBRA A.
10	-	1/20	1/20	1/20	1/20	MACHO J.
11	-	-	1/20	-	1/40	MACHO J.
12	1/80	1/80	1/320	1/640	1/640	MACHO A.

**cuadro 3. TITULOS OBTENIDOS EN LA PRUEBA DE FIJACION DE
COMPLEMENTO A 4 °C**

Se muestra que a esta temperatura la prueba es mas sensible ya que los títulos se mantuvieron e incluso algunos aumentaron.

TITULOS OBTENIDOS EN LA PRUEBA DE FIJACION DE COMPLEMENTO A 4 °C						
MUESTRA	PRUEBA 1	PRUEBA 2	PRUEBA 3	PRUEBA 4	PRUEBA 5	IDENTIFICACION
1	1/20	1/20	1/20	1/20	1/20	HEMBRA J.
2	1/20	1/20	1/20	1/20	1/20	HEMBRA J.
3	1/640	1/640	1/320	1/320	1/640	HEMBRA J.
4	1/20	1/20	1/20	1/20	1/20	HEMBRA J.
5	1/20	1/20	1/20	1/20	1/20	HEMBRA J.
6	1/20	1/20	1/20	1/20	1/20	HEMBRA J.
7	1/320	1/320	1/320	1/160	1/320	HEMBRA A.
8	1/40	1/320	1/20	1/20	1/20	HEMBRA A.
9	1/640	1/320	1/320	1/320	1/320	HEMBRA A.
10	1/20	1/20	1/20	1/20	1/20	MACHO J.
11	-	-	-	1/20	-	MACHO J.
12	1/640	1/640	1/640	1/320	1/640	MACHO J.

DISCUSION

1.- Los animales muestreados están infectados con *T. gondii*, debido a que se detectaron títulos de anticuerpos a 4 °C.

2.-La infección es confirmada debido a:

a) Se han tenido informes de toxoplasmosis histopatológicamente comprobada en el Zoológico de Chapultepec desde que los animales llegaron provenientes del Zoológico de Taronga en Sidney, Australia en 1988.

b) aproximadamente 1 año y 9 meses después de la toma de muestras, se registraron algunas muertes de animales; 2 ejemplares presentaron signología nerviosa, dos trastornos respiratorios (neumonía) y enteritis; y solo uno presentó hepatitis y pancreatitis. El diagnóstico integral de los éstos fué de toxoplasmosis.

Las muertes por toxoplasmosis comprobadas histopatológicamente corresponden a los individuos con número de identificación 1, 2 y 10, animales que en este estudio, presentaron niveles de anticuerpos bajos.

Estos animales estuvieron expuestos a cambios climáticos (época de invierno), problemas de sobrepoblación, competencia por espacio y por hembras teniéndose como consecuencia un estado de tensión y/o inmunosupresión lo que presumiblemente llevó a la toxoplasmosis clínica.

3.-Los ejemplares donados por el Zoológico de Taronga en Australia probablemente se encontraban previamente infectados transmitiendo el parásito verticalmente a sus crías; otros ejemplares pudieron adquirir la toxoplasmosis a través de los exhibidores y/o del alimento contaminado con heces de gatos infectados.

4.-La uniformidad de los datos obtenidos en la prueba a 37 °C se debió a algunos problemas al llevar a cabo la técnica. Esto se corrigió en la prueba a 4 °C hecho que se refleja al observar los resultados más homogéneos.

CONCLUSIONES

1.El 100% de los wallabies de cuello rojo (*Macropus rufogriseus*) presentan anticuerpos detectables contra *T. gondii*; lo cual no indica que los animales curse con el cuadro infeccioso.

2.Debido a que se hicieron dos pruebas de fijación de complemento (en frío y en caliente) se puede concluir que las pruebas realizadas son sensibles y específicas. Se menciona que detectan cantidades menores de 1 ng de antígeno ó anticuerpo y el resultado se obtiene en poco tiempo (2 horas aprox); además la prueba de fijación de complemento en caliente es más practica pero la prueba en frío es más sensible (18).

3.La detección de anticuerpos ayuda a evaluar la incidencia y la prevalencia de una enfermedad en un lugar. El titular anticuerpos sistemáticamente en diferentes épocas del año nos permite conocer mejor el comportamiento de la enfermedad y determinar si el parásito es endémico, o epizootico en la zona; además debemos tomar en cuenta que en ocasiones la toxoplasmosis congénita es Inaparente y la infección con manifestación clínica aguda no permite su comprobación a través de pruebas serológicas, por lo que en los programas de manejo de fauna silvestre el uso de los perfiles serológicos ofrecen una técnica fácil y económica para el monitoreo de las enfermedades y pueden ser indicadores de la transmisión de éstas entre fauna doméstica y fauna silvestre (39).

LITERATURA CITADA

1. Ashton, N.: Ocular Toxoplasmosis in wallabies (*Macropus rufogriseus*). Am. J. ophthalmol.; 88: 322-332 (1979).
2. Attwood, H.D., Woolley, P.A., Rickard, M.D.: Toxoplasmosis in Dasyurid Marsupials. J. Wildl. Dis.; 11: 543-551 (1975).
3. Berrón, Hernández., D.: Detección de Anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* mediante la Prueba de Fijación de Complemento en una población de Felinos silvestres albergada en el Zoológico de Chapultepec. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1991.
4. Beveridge, I.: Marsupial parasitic diseases. In: Zoo and Wild animal medicine. Edited by: Murray E. Fowler., 288-293 W. B. Saunders Company; Denver Colorado, 1993.
5. Beverly, J.K.A.: Toxoplasmosis in animals. Vet. Rec.; 99: 123-127. (1976)
6. Blyde, D.: Common diseases and treatments In Macropods. Annual Meeting Proceedings American Association of Zoo Veterinarians. Brownsville, Texas. 1990. 30-32. Proceedings American Association of Zoo Veterinarians. Brownsville, Texas. 1990. 30-32. (1990).
7. Borchert, A.: Parasitología Veterinaria. Acribia, Zaragoza, España, 1975.

8. Boorman, G.A., Kollias, G.V., Taylor, R.F.: An Outbreak of Toxoplasmosis in wallaroos (*Macropus robustus*) in a California Zoo. J. Wild. Dis. 13:64-68 (1977).
9. Canfield, P.J., Hartley, W.J.: A survey and Review of Hepatobiliary Lesions in Australian Macropods. J. Comp. Pathol. 107: 147-167. (1992)
10. Canfield, P.J., Harley, W.J and Dubey, J.P.: Lesions of toxoplasmosis in Australian marsupials. J. Comp. Path. 103: 159-167 (1990).
11. Clayton, L. and Miles, H.B.: Toxoplasmosis and Pregnancy. Aust. NZ. J. Obstet. Gynaecol. 30: 32-33 (1990).
12. Dreesen, D.W.: Toxoplasma gondii infections in wildlife. J. Am. vet. med. Ass. 196: 274-276 (1990).
13. Dubey, J.P.: Toxoplasmosis. Vet. Clin. North. Am: Small Animal Pract. 17: 1389-1404 (1987).
14. Dubey, J.P., Ott-Joslin, J., Torgerson, R.W., Topper, M.J., Sundberg, J.P.: Toxoplasmosis in Black-faced Kangaroos (*Macropus fuliginosus melanops*). Vet. Parasitol. 30: 97-105 (1988).
15. Ferrarony, J.J., Célio de Almeida Marzochi, M.: Toxoplasmose en animals domésticos e silvestres de Manaus- Amazonas. Acta Amazonica :8: 83-89 (1978)

16. Frenkel, J.P.: Transmission of toxoplasmosis and the role of immunity in limiting transmission and illness. J. Am. vet. Med. Ass., 196: 233-240. (1990)
17. Greene, C. E.: Enfermedades infecciosas perros y gatos. Ed. Interamericana Mc.Graw Hill, Zaragoza, España, 1993.
18. Hudson, L., Hay.: Practical Immunology. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1989.
19. Humprey, J.H. and White, R.G.: Inmunología Médica. Ed. Toray Barcelona, España. 1970.
20. Johnson, A.M., Roberts, H., Munday, B.L.: Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibody in wild macropods. Aust. vet. J., 65: 199-201 (1988).
21. Johnson, A.M., Roberts, H., Statham, P., Munday, B.L.: Serodiagnosis of acute Toxoplasmosis in Macropods. vet. Parasitol., 34: 25-33 (1989).
22. Jones, S.R.: Toxoplasmosis a review. J. Am. vet. med. Ass., :163 1038-1042 (1973).
23. Koskineniemi, M., Lappalainen, M., and Hedman, K.: Toxoplasmosis Needs Evaluation. Am. J. Dis. Child., 143: 724-728 (1989).
24. Leight, J.C.: Strategies for control of toxoplasmosis. J. Am. vet. med. Ass., 196: 281-286 (1990).

25. Lyles, A.M; Dobson, A.P., and Phil, D.: Infectious disease and intensive management: Population dynamics, Threatened hosts, and their parasites. J. Zoo. Wildl. med., 24:313-326.(1993)
26. Lynch, M.J., Obendorf, D.L., Reddacliff, G.L.: Serological Responses of Tammar wallabies (*Macropus eugenii*) to inoculation with an attenuated strain of *Toxoplasma gondii*. Annual Meeting Proceedings American Association of Zoo Veterinarians Saint Louis. 1993. 185-188. Proceedings American Association of Zoo Veterinarians. Saint Louis.(1993).
27. Lynch, M.J., Obendorf, D.L., Reddacliff G.L.: An evaluation of live *Toxoplasma gondii* vaccine in Tammar wallabies (*Macropus eugenii*). Aust. vet. J., 70: 352-353 (1993).
28. Miller, M.A., Ehlers, K., Dubey, J.P., Steenbergh, K.V.: Outbreak of Toxoplasmosis in wallabies on an exotic animal farm. J. vet. Diagn. Invest., 4: 480-483 (1992)
29. Munday, B.L.: A serological study of some infectious diseases of Tasmania wildlife. J. Wildl. Dis., 8: 169 (1972).
30. Obendorf, D.L. and Munday, B.L.: Toxoplasmosis in wild Tasmanian wallabies. Aust. vet. J., 60: 62 (1983).
31. Patton, S.: Toxoplasmosis in the zoological Park. Annual Meeting Proceedings American Association of Zoo Veterinarians. Saint Louis. 1993. 189-191. Proceedings American Association of Zoo Veterinarians. Saint Louis Missouri.(1993)

32. Pettier, A.P.: El complemento. En : Banch, J.F.: Inmunología Limusa México. 227-228 (1984).
33. Quinn, P.J. and Mc Graw, B.M.: Current status of toxoplasma and toxoplasmosis: a review. Can. vet. J., 13: 247-262 (1972).
34. Quiroz, R.: Parasitología y enfermedades parasitarias en animales domésticos Ed. Limusa, México (1996).
35. Reddacliff, G.L., Hartley, W.J., Dubey, J.P., Cooper, D.W.: Pathology of experimentally induced, acute toxoplasmosis in macropods. Aust. vet. J., 70: 4-6 (1993)
36. Reddacliff, G.L., Parker, S.J., Dubey, J.P., Nicholls, P.J., Johnson, A.M., Cooper, D.W.: An attempt to prevent acute toxoplasmosis in macropods by vaccination with *Hammondia hammondy*: Aust. vet. J., 70: 33-35 (1993)
37. Thompson, S.W., Reed, T.H.: Toxoplasmosis in Swamp Wallaby. J. Am. vet. med. Ass., 15: 545-550 (1957).
38. Tizard I.R.: Inmunología Veterinaria. 4a. Ed. Interamericana México 1995.
39. Treviño, G.S.: Enfermedades exóticas de los animales su prevención, diagnóstico control. Comité de enfermedades exóticas de la asociación de sanidad animal de Estados Unidos. 1984.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA