

**“Frecuencia de *Toxoplasma gondii* en Primates y Carnívoros silvestres del
Bioparque Ukumarí, Pereira - Colombia”**

Trabajo de grado para optar por el título de Médico Veterinario

Luisa Fernanda Pamplona Palacios

Asesor

Santiago Monsalve Buriticá

Médico Veterinario MV, Esp, Msc. Dr Sc

**Unilasallista Corporación Universitaria
Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias
Medicina Veterinaria
Caldas, Antioquia
2021**

Tabla de contenido

| | |
|------------------------------------|----|
| Lista de tablas | 4 |
| Lista de ilustraciones..... | 5 |
| Resumen..... | 6 |
| Introducción..... | 7 |
| Objetivos | 8 |
| Objetivo general..... | 8 |
| Objetivos específicos | 8 |
| Justificación..... | 9 |
| Impacto tecnológico | 9 |
| Impacto social y económico | 9 |
| Estado del arte | 10 |
| Epidemiología | 10 |
| Ciclo vital..... | 12 |
| Fase asexual (extra entérica)..... | 13 |
| Fase sexual (entérica) | 13 |
| Patogénesis | 15 |
| Transmisión | 16 |
| Prevención de la infección | 18 |
| Materiales y métodos | 19 |

| | |
|--|-----|
| Sitio de estudio | 19 |
| Población a muestrear | 19 |
| Muestras | 21 |
| Encuesta epidemiológica | 21 |
| Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la detección de anticuerpos IgM anti- <i>Toxoplasma gondii</i> | 22 |
| Fundamentos del método | 22 |
| Cálculo de resultados | 23 |
| Interpretación de los resultados..... | 23 |
| Sensibilidad clínica | 244 |
| Especificidad..... | 244 |
| Resultados | 255 |
| Discusión..... | 31 |
| Conclusiones..... | 344 |
| Recomendaciones..... | 355 |
| Referencias | 366 |

Lista de tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Tamaño muestral en relación con la prevalencia reportada según taxonomía..... | 20 |
| Tabla 2. Base de datos con información de cada individuo | 22 |
| Tabla 3. Resultados de la prueba de ELISA para la detección de anticuerpos IgM anti- <i>Toxoplasma gondii</i> en las familias <i>Cebidae</i> , <i>Canidae</i> , <i>Lemuridae</i> , <i>Cercopithecidae</i> y <i>Felidae</i> | 26 |
| Tabla 4. Resultados por Orden de la Prueba de ELISA para la detección de anticuerpos IgM anti- <i>Toxoplasma gondii</i> | 28 |
| Tabla 5. Resultados por sexo de la Prueba de ELISA para la detección de anticuerpos IgM anti- <i>Toxoplasma gondii</i> | 29 |
| Tabla 6. Resultados por EDB de la Prueba de ELISA para la detección de anticuerpos IgM anti- <i>Toxoplasma gondii</i> | 30 |

Lista de ilustraciones

| | |
|--|----|
| Ilustración 1. Transmisión de <i>T. gondii</i> | 17 |
| Ilustración 2. Restricción química en <i>Puma concolor</i> | 20 |
| Ilustración 3. Punción de vena coccígea en <i>Panthera onca</i> | 20 |
| Ilustración 4. Rotulación de muestras con número de historia clínica..... | 22 |
| Ilustración 5. Porcentaje de individuos de los Ordenes <i>Carnívora</i> y <i>Primates</i> evaluados en el presente estudio..... | 25 |
| Ilustración 6. Porcentaje de pruebas reactivas y no reactivas..... | 26 |
| Ilustración 7. Grafica de columnas agrupadas donde se muestra la frecuencia de muestras reactivas y no reactivas en las Familias <i>Canidae</i> , <i>Felidae</i> , <i>Lemuridae</i> , <i>Cercopithecidae</i> y <i>Cebidae</i> | 27 |
| Ilustración 8. Grafica de columnas agrupadas donde se muestra la frecuencia de muestras reactivas y no reactivas de <i>Toxoplasma gondii</i> según el Orden..... | 28 |
| Ilustración 9. Gráfica de columnas agrupadas donde se muestra la frecuencia de muestras reactivas y no reactivas de <i>Toxoplasma gondii</i> según el sexo..... | 29 |
| Ilustración 10. Gráfica de columnas agrupadas donde se muestra la frecuencia de muestras reactivas y no reactivas de <i>Toxoplasma gondii</i> según EDB..... | 30 |

Resumen

El parásito *Toxoplasma gondii* es el agente causal de la toxoplasmosis la cual es una enfermedad zoonótica que puede llegar a afectar tanto a los hospedadores intermediarios como a los definitivos (felinos domésticos y silvestres). El objetivo de este proyecto fue Determinar la frecuencia de *Toxoplasma gondii* en animales silvestres de los Ordenes *Carnívora* y *Primates* pertenecientes al Bioparque Ukumarí ubicado en la Ciudad de Pereira, Colombia. Se colectaron en total 17 muestras de 5 familias diferentes. Las muestras fueron procesadas por “EjeLab” Laboratorio Clínico Veterinario®, mediante la técnica de Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la detección de anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma gondii*. En el caso del Orden *Primates* se consideran reactivos los resultados mayores a 200UI/ml y para el Orden *Carnívora* los resultados mayores o iguales a 0,65UI/ml. En el análisis de los factores de riesgo se evaluaron variables como sexo, EDB (Estado de Desarrollo Biológico), Orden y Familia. Los resultados de las pruebas realizadas arrojaron una frecuencia del 6% (1 resultado positivo).

Palabras clave: *Toxoplasma gondii*, anticuerpos, animales silvestres

Introducción

Toxoplasma gondii es un protozoo parásito de distribución mundial que afecta aves, mamíferos y al hombre. La infección tiene una presentación clínica variable según la especie afectada y el estado inmunológico individual. En los seres humanos cursa frecuentemente en forma subclínica, pero puede causar fetopatías si la primoinfección se produce durante el embarazo, así como lesiones oculares por infección transplacentaria o postnatal, y encefalitis en individuos inmunosuprimidos (Basso & Venturini, 2009).

La enfermedad clínica ha sido descrita en muchas especies, tanto en confinamiento como en libertad. La infección en estos animales puede relacionarse con la ingestión de quistes tisulares presentes en la carne cruda y con la presencia de ooquistes en el alimento o el agua de bebida. Los animales que permanecen cautivos en zoológicos son particularmente susceptibles a la toxoplasmosis, que puede ser fatal. Esta susceptibilidad se relaciona con el estrés del cautiverio y con el posible contacto con felinos y/o sus heces (Bacigalupe, 2008).

Entre las especies de animales silvestres más susceptibles se encuentran los monos del Nuevo Mundo, los marsupiales australianos, los manules (*Felis manul*) y los lémures que, en sus ambientes naturales, tienen pocas posibilidades de contraer la infección, pero en los parques zoológicos pueden contactar por primera vez con las formas infectantes del parásito y sufrir una infección sistémica y a veces fatal (Basso & Venturini, 2009).

Objetivos

Objetivo general

Determinar la frecuencia de *Toxoplasma gondii* en algunos animales del Orden *Primates* y *Carnívora* que se encuentran en el Bioparque Ukumarí.

Objetivos específicos

Establecer la circulación de *Toxoplasma gondii* en las familias *Canidae*, *Felidae*, *Lemuridae*, *Cercopithecidae* y *Cebidae* dentro de las instalaciones del Bioparque Ukumarí.

Analizar algunos órdenes taxonómicos de áreas y recintos del BP Ukumarí, con circulación de *Toxoplasma gondii*.

Justificación

Impacto tecnológico

Utilización de los equipos y materiales que brinda la institución para fortalecer habilidades y tener nuevos métodos de aprendizaje para lograr cumplir con los objetivos planeados para este proyecto.

Impacto social y económico

Toxoplasma gondii es un protozoo parásito de distribución mundial que afecta aves, mamíferos y al hombre. La infección tiene una presentación clínica variable según la especie afectada y el estado inmunológico individual.

Los animales que permanecen cautivos en zoológicos son particularmente susceptibles a la toxoplasmosis, que puede ser fatal. Esta susceptibilidad se relaciona con el estrés del cautiverio y con el posible contacto con felinos y/o sus heces

El presente proyecto tiene la finalidad de determinar cuál es la frecuencia de *Toxoplasma gondii* en primates y carnívoros que se encuentran en las instalaciones del Bioparque Ukumarí, y así poder hacer la caracterización de la población de animales que sean diagnosticados con la enfermedad y buscar la manera de reducir el riesgo de contracción de la enfermedad, teniendo en cuenta que es una zoonosis y que tiene gran importancia para la salud pública; todo esto con el propósito de ser punto de referencia para futuros estudios.

Estado del arte

La toxoplasmosis es una zoonosis causada por un parásito intracelular, *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), que tiene la capacidad de infectar al hombre y a la mayoría de los animales de sangre caliente. La infección por *T. gondii* es usualmente asintomática; sin embargo, en las personas inmunosuprimidas puede producir graves complicaciones y hasta la muerte, al igual que en los hijos de las mujeres que adquieren la infección primaria durante la gestación (Giraldo Restrepo, 2008).

T. gondii fue identificado por primera vez en 1908, y su ciclo de vida fue detallado en 1970. Los gatos son los únicos huéspedes definitivos conocidos de este organismo. Por lo tanto, son los gatos los únicos animales que eliminan ooquistes resistentes al entorno en sus deposiciones. La infección de estos gatos puede producirse por dos vías: de forma transplacentaria o por la ingestión del organismo en cualquiera de los tres estadios vitales. Cualquier animal de sangre caliente puede ser parasitado por *T. gondii* y por tanto servir como huésped intermediario tras la ingestión de ooquistes esporulados procedentes de los excrementos de gatos u otro animal infectado (Llòria i Llàcer, 2002).

Epidemiología

Los hospedadores definitivos confirmados en América son el gato doméstico (*Felis catus*), el jaguarundi (*Herpailurus yaguaroundi*), el ocelote (*Leopardus pardalis*), y el león de la montaña (*Puma concolor*) (Varela, 2001).

La Toxoplasmosis es una enfermedad de distribución mundial, en una extensa variedad de mamíferos y aves, incluyendo al hombre y todos los mamíferos domésticos (Varela, 2001).

La distribución de la infección en todo el mundo es variable, incluso dentro de un país, probablemente debido a las diferencias ambientales, socio-económicas y culturales de un lugar en particular y sus residentes. Es así, que la prevalencia en Europa varía según el país, desde 38% en Croacia⁷ hasta 71%⁸ en Francia. En Grecia, con 51%⁹. Asia presenta áreas con prevalencia importante como lo son India, Malasia y Nepal: 41,8% a 55,4%¹⁰. En el continente Americano: E.U.A. 11%¹¹, Trinidad y Tobago 39,3%¹², El Salvador 75%¹³, Brasil 66,3%¹⁴ y Colombia 47,1%¹⁵ (Mimica et al., 2015).

La eliminación de *Toxoplasma* hacia el exterior a partir de felinos infectados, se realiza por medio de la orina, saliva, secreciones nasales, oculares y vaginales, la leche y las heces. También puede ocurrir el contagio por inhalaciones; juegan el papel de vectores los exoparásitos (Varela, 2001).

La difusión de *Toxoplasma* en la naturaleza y su capacidad de transmisión a las más diversas especies animales, es favorecida por el comportamiento biológico del parásito (Varela, 2001):

- Escasa especificidad al hospedador.
- Posibilidad para localizarse en diferentes órganos, células y tejidos, y líquidos orgánicos.
- Eliminación en varios estadios infectantes.
- Gran resistencia a factores externos en la naturaleza.

- Amplias posibilidades de infección.

Los primates del nuevo mundo son especialmente susceptibles a la toxoplasmosis clínica, mientras que los del viejo mundo son resistentes. Se ha realizado infección experimental con *T. gondii* en primates del nuevo mundo como los monos lechuza (*Aotus spp*) y dos especies de Callitrichidos (*Saguinus spp*) que han resultado en infección fatal. La infección natural ha sucedido en Cébidos, incluyendo los géneros *Alouatta*, *Aotus*, *Ateles*, *Cacajao*, *Callicebus*, *Cebus*, *Lagothrix*, *Pithecia* y *Saimiri*. Muchos de estos casos son reportes de zoológicos en donde la fuente de contagio es la dieta. Esta asociación entre alimentación y alimento contaminado resulta en Toxoplasmosis fatal en los primates del nuevo mundo, las características fulminantes de la enfermedad pueden ser debidas en estos primates a que hay una alta susceptibilidad a la infección por *Toxoplasma* con carencia en resistencia alguna de estos animales al parásito (Varela, 2001).

Hay varios informes de epizootias de toxoplasmosis en primates de zoológicos, en donde se reporta alta mortalidad, sin signos evidentes, o signos inespecíficos en muchos de ellos antes de la muerte. La toxoplasmosis debe ser considerada dentro de los diagnósticos diferenciales para enfermedades con curso clínico no específico en los primates del nuevo mundo. Una historia de alimentación o consumo de carnes de condición sanitaria dudosa, exposición a félidos, linfadenopatía, o encefalitis son condiciones para tomar en cuenta e iniciar una terapia anti toxoplasmosis (Varela, 2001).

Ciclo vital: El ciclo vital de *T. gondii* consiste en dos fases: asexual y sexual.

Fase asexual (extra entérica)

Se lleva a cabo en los *hospederos intermediarios* (animales mamíferos, aves y humanos), donde el crecimiento y división del toxoplasma es rápida; en esta etapa recibe el nombre de *taquizoítos* (*in vitro* es de 6-8 h). Estos pueden infectar y multiplicarse en casi cualquier célula nucleada aviar o de mamíferos. Los *taquizoítos* se multiplican dentro de la célula hasta romper la membrana plasmática y son liberados al torrente sanguíneo, propagándose por todo el cuerpo comenzando con la enfermedad aguda (parasitemia). Es en esta fase, durante la primoinfección en el embarazo, que se produce la transmisión vertical por paso transplacentario (Mimica et al., 2015).

La respuesta inmune y la transformación de *taquizoítos* a *bradizoítos* (*forma quística* o de lenta división) es el paso de fase aguda a infección crónica. Los *quistes* se forman principalmente en los nervios, cerebro, hueso, músculo y miocardio y pueden mantenerse inactivos en el cuerpo por un largo tiempo. En pacientes inmunocomprometidos (SIDA, terapia prolongada con corticosteroides) la reactivación de los *quistes* y activación de los *bradizoítos* en *taquizoítos*, produce una alta división del toxoplasma, produciéndose rompimiento celular e inflamación en la zona donde se ubica el quiste. La reactivación en el encéfalo puede producir encefalitis aguda y muerte (Mimica et al., 2015).

El *hospedero definitivo* (felinos salvaje y compañía) realiza tanto la forma asexual como la fase sexual (Mimica et al., 2015).

Fase sexual (entérica)

Cuando el gato ingiere *ooquistes* (por fecalismo felino) o quistes tisulares contenidos en presas infectadas, el protozoo penetra las células del epitelio intestinal

donde se multiplica asexualmente para luego culminar con una multiplicación sexual o *gametogonia* con la formación de *macro* y *microgametocitos*. La fusión de éstos dará origen posteriormente a los *ooquistes*, que serán eliminados al ambiente junto con los excrementos del felino. Se demora aproximadamente 3 a 20 días en liberar millones de *ooquistes* al ambiente (post-primoinfección). En condiciones ambientales favorables, los *ooquistes* pueden esporular (condición de resistencia del *ooquiste* a medio ambiente desfavorable) en un período de tres semanas, pudiendo infectar a humanos y otros hospederos intermediarios (Mimica et al., 2015).

Los *ooquistes* pueden diseminarse en el ambiente y contaminar el agua, suelo, frutas y vegetación. Animales herbívoros pueden infectarse al consumir plantas contaminadas (Mimica et al., 2015).

Otras experiencias en la transmisibilidad y el ciclo del *T. gondii* han sido relacionados con helmintos (*toxocara*) y felinos. Hutchison, evidenció en forma experimental que gatos infectados por *Toxocara cati* que comían por cinco días seguidos ratones con quiste de toxoplasma, al término de ese tiempo podían eliminar por las heces huevos del nemátodos capaces de infectar por vía oral a ratones libres de infección. Estos huevos se eliminaban entre cinco y 30 días después de la ingestión de quistes de *T. gondii* por el gato, teniendo las siguientes características: no eran capaces de transmitir la infección hasta 14 a 20 días después de haber sido eliminado en las heces del gato; conservaban su poder infectante hasta los 17 meses; se podían recoger por flotación en suero salino y sulfato de zinc y conservar en agua; y conservaban su infecciosidad aún después de pasar por una solución de hipoclorito sódico 5% (Mimica et al., 2015).

Patogénesis

T. gondii es un parásito intracelular obligado capaz de infectar una amplia variedad de células nucleadas de aves y mamíferos. El tamaño del inóculo, la virulencia de la cepa y el estado inmune del individuo son algunos de los factores que influyen en el curso de la infección. Después de la ingestión oral del parásito, *T. gondii* atraviesa el epitelio intestinal, se disemina a los tejidos y penetra las barreras biológicas como son la barrera hematoencefálica, la barrera hematorretiniana y la placenta. La replicación parasitaria se mantiene hasta cuando la membrana plasmática de la célula hospedera se lisa a causa de la tensión creciente que generan los taquizoítos y los parásitos libres comienzan un nuevo ciclo de invasión y replicación en las células adyacentes. La evolución de la infección aguda depende de la respuesta inmune del paciente. En el hospedero inmunocompetente, el parásito induce una respuesta inmune que se caracteriza por producción de citoquinas proinflamatorias, incluyendo interleuquina 12 (IL-12), interferón γ (IFN- γ) y factor de necrosis tumoral α (TNF- α), la cual obliga al parásito a formar quistes que permanecerán durante toda la vida del hospedero. Los anticuerpos del tipo IgG, IgM, IgA e IgE generados contra proteínas del *T. gondii* pueden detectarse en las dos primeras semanas post infección. Los anticuerpos del tipo IgA en las superficies mucosas parecen conferir protección contra la reinfección; ésta puede producirse, pero aparentemente no causa enfermedad ni transmisión congénita del parásito. En el paciente inmunodeficiente, la infección puede inducir la destrucción de los tejidos, causando neumonitis, miocarditis o encefalitis, entre otras enfermedades, y en los ojos coriorretinitis aguda con inflamación grave y necrosis. La reactivación de los quistes tisulares en los pacientes inmunodeficientes también puede conducir a estas

enfermedades graves e incluso la muerte. En la mujer gestante, los taquizoítos atraviesan la placenta para llegar al feto. La gravedad de la toxoplasmosis congénita dependerá a su vez de varios factores como son el número de parásitos que atraviesen la placenta, la inmadurez inmunológica del feto y la edad gestacional. En el feto puede ocurrir enfermedad neurológica grave, hidrocefalia y calcificaciones, y retinocoroiditis con inflamación y necrosis, si no se trata a la madre oportunamente. La toxoplasmosis ocular se presenta inicialmente como áreas únicas o múltiples de necrosis en la retina. El parásito invade los capilares de la capa interna de la retina, luego el endotelio y finalmente se disemina a los tejidos adyacentes. Se presenta reacción inflamatoria con edema e infiltrado leucocitario, para luego desarrollar cicatrices en la coroides. Con el paso del tiempo, la inflamación puede conducir a pérdida progresiva de la visión hasta la ceguera (Giraldo Restrepo, 2008).

Transmisión

Por el consumo de ooquistes infectantes que son eliminados con las heces de los gatos y distribuidos en el ambiente a través de la lluvia, el aire y el tránsito de vectores mecánicos como artrópodos, aves y pequeños mamíferos, que contaminan así el agua y la tierra. La ingesta de ooquistes se da cuando el individuo tiene contacto directo con tierra, como en las labores de jardinería, agricultura y la limpieza del arenero de los gatos sin utilizar guantes ni lavarse las manos después de concluir la tarea y por la ingesta de agua, frutas y verduras contaminadas (Rivera-Fernández & García-Dávila, 2017).

Por el consumo o manipulación de carne cruda o mal cocida con quistes tisulares de *T. gondii*, principalmente carne de cordero, cerdo, cabra, oso y en menor proporción carne de res, caballo, conejo y aves (Rivera-Fernández & García-Dávila, 2017).

Congénita. La infección del feto se da por la vía transplacentaria, y la afectación depende del tercio de la gestación en la que se infecte la madre (Rivera-Fernández & García-Dávila, 2017).

Por trasplante de órganos, transfusión sanguínea e inoculación accidental en laboratorios (Rivera-Fernández & García-Dávila, 2017).

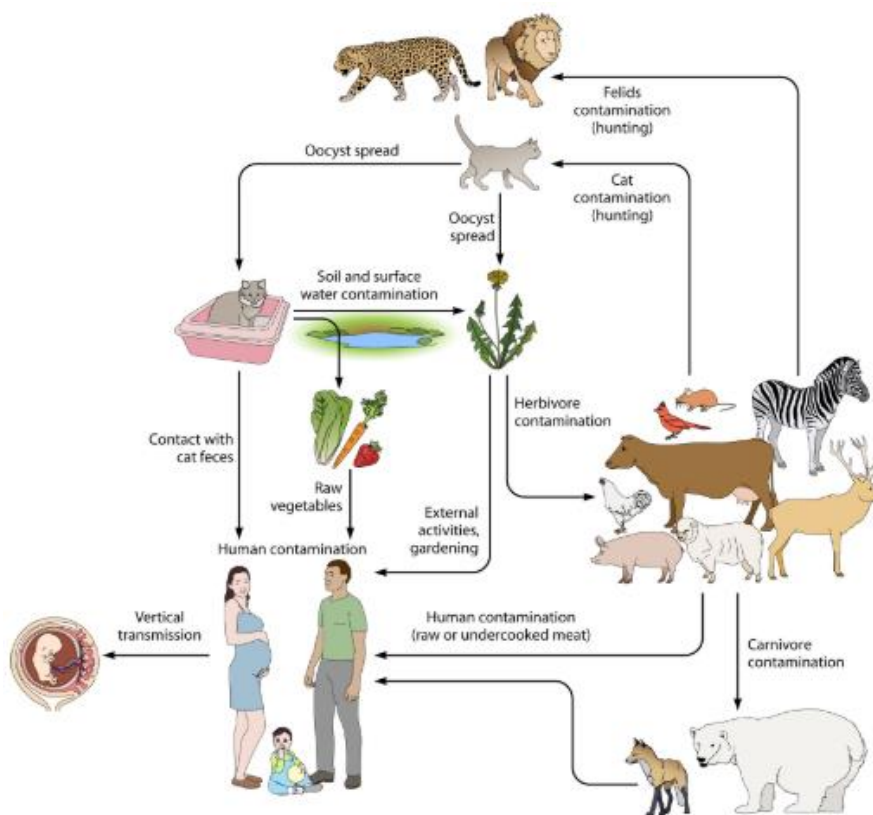


Ilustración 1. Transmisión de *T. gondii*. Tomado de: Robert-Gangneux & Dardé (2012)

Prevención de la infección

Es importante limitar las posibilidades de excreción de ooquistes por los gatos: suministrar carne o vísceras cocidas o congeladas a -20°C durante por lo menos 3 días o alimentos balanceados, evitar que cacen, limpiar la bandeja sanitaria diariamente con agua hirviendo antes de que ocurra la esporulación de posibles ooquistes eliminados, utilizar guantes para la realización de tareas de jardinería, no ingerir carne mal cocida, lavar bien los vegetales por la eventual contaminación con ooquistes. En los zoológicos es importante realizar prevención, si bien en muchas ocasiones es difícil su implementación. Se debe considerar alimentar a los félidos con carne cocida o congelada, y alojarlos lejos de las especies más susceptibles, instruir al personal encargado del cuidado de los animales para que tomen las medidas de higiene necesarias para evitar la dispersión de ooquistes entre los diferentes ambientes (a través de fómites o de alimentos), realizar el control de roedores e impedir el acceso de gatos a los lugares donde se almacena el alimento, así como su proliferación (Basso & Venturini, 2009).

Materiales y métodos

Sitio de estudio

El presente estudio se realizó en el Parque temático de flora y fauna de Pereira (Bioparque Ukumarí), el cual cuenta con 400 animales de 90 especies diferentes y está ubicado en el Km 14 vía Pereira – Cerritos, sector Galicia; durante los meses de abril a julio del presente año.

El procesamiento de las muestras de sangre se realizó en el laboratorio clínico veterinario “EjeLab” de la ciudad de Pereira, este es un laboratorio de referencia en el eje cafetero que se encarga del procesamiento de muestras, no solo de pequeñas y grandes especies, sino también de mascotas no convencionales y animales exóticos.

Población a muestrear

Algunos de los animales seleccionados para este estudio fueron capturados mediante nasas, a otros se les hizo manejo a través de condicionamiento operante, para luego proceder con la sedación o restricción química en la cual se utilizó Xilacina 10%® y Ketamina50®.

Se transportaron al área de clínica en guacales o en camillas (según el requerimiento de cada individuo), donde se realizó un examen clínico general y colecta de muestras mientras se garantiza la permanencia del individuo bajo el efecto de la anestesia administrando Isoflurano.

En el caso del ejemplar de *Panthera onca* la colecta de muestras se realizó por condicionamiento operante mediante refuerzo positivo, sin necesidad de hacer desplazamiento del individuo hacia el área de clínica.

Tabla 1. Tamaño muestral en relación con la prevalencia reportada según taxonomía.

| Orden | Familia | Especie | N° de muestras | Prevalencia Reportada |
|-----------|-----------------|---------------------------|----------------|--|
| Carnívora | Canidae | <i>Cerdocyon thous</i> | 1 | Otros Carnívoros: 86.9%. (Sedlák & Bártová, 2006) |
| | | <i>Leopardus tigrinus</i> | 1 | |
| | Felidae | <i>Panthera onca</i> | 1 | Felinos: 66.7%. (Ullmann et al., 2010) |
| | | <i>Puma concolor</i> | 2 | |
| Primate | Lemuridae | <i>Lemur catta</i> | 1 | Primates: 49.2%. (Minervino et al., 2017) |
| | Cebidae | <i>Cebus albifrons</i> | 8 | |
| | | <i>Saimiri sciureus</i> | 2 | |
| | Cercopithecidae | <i>Papio hamadryas</i> | 1 | |



Ilustración 2. Restricción química en *Puma concolor*.

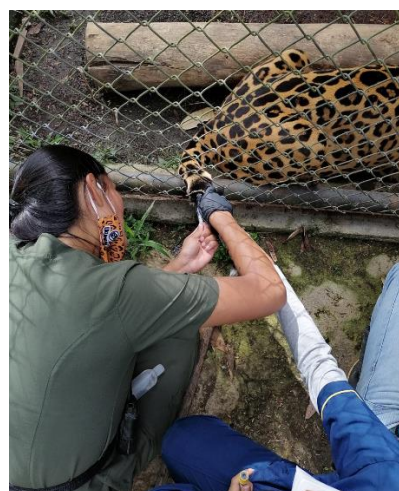


Ilustración 3. Punción de vena coccígea en *Panthera onca*.

Muestras

Las muestras de sangre de los individuos del Bioparque Ukumarí se obtuvieron mediante el método de punción de la vena cefálica, femoral o coccígea, utilizando jeringas de 3ml, agujas de diferentes calibres (según el tamaño de cada individuo) y tubos Vacutainers® estériles.

Las muestras fueron debidamente identificadas y se pusieron en refrigeración hasta ser enviadas al laboratorio para ser procesadas.

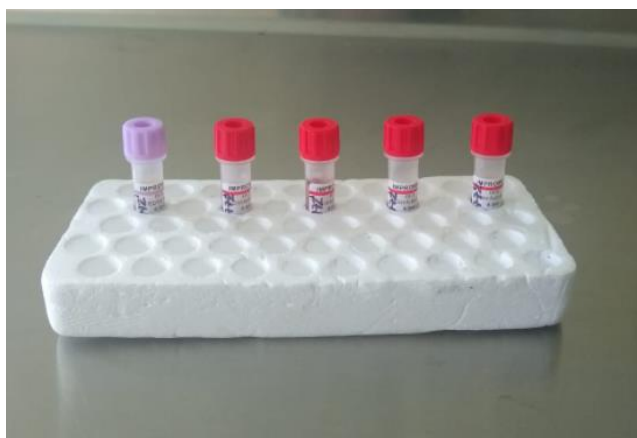


Ilustración 4. Rotulación de muestras con número de historia clínica.

Encuesta epidemiológica

Se realizó una base de datos para registrar información importante de cada individuo, en el programa de software de hojas de cálculo “Microsoft Excel” como Familia, nombre científico, historia clínica (HC), número de microchip, sexo, estado de desarrollo biológico (EDB), bioregión y recinto.

Tabla 2. Base de datos con información de cada individuo.

| Familia | Nombre científico | HC | Nº de microchip | Sexo | EDB | Bioregión | Recinto |
|-----------------|---------------------------|-------|-------------------|--------|-----------|----------------------|---------|
| Cebidae | <i>Saimiri sciureus</i> | 7008 | NR | Hembra | Viejo | Arca (AR) | AR18 |
| | | 847 | 941000022725309 | Hembra | Viejo | | |
| Felidae | <i>Leopardus tigrinus</i> | 6710 | 977170000071921 | Macho | Adulto | Bosques andinos (BA) | BA16 |
| Cebidae | <i>Cebus albifrons</i> | 521 | 054*838*382 | Macho | Viejo | Bosques andinos (BA) | BA06 |
| | | 3981 | 977170000060614 | Macho | Adulto | | |
| | | 520 | 054*797*596 | Hembra | Viejo | | |
| | | 6712 | 977170000065449 | Macho | Adulto | | |
| | | 6451 | 977170000068367 | Hembra | Adulto | | |
| | | 6813 | 94100000227225440 | Macho | Adulto | | |
| | | 526 | 977170000067213 | Hembra | Adulto | | |
| 6501 | 977170000067987 | Macho | Adulto | | | | |
| Canidae | <i>Cerdocyon thous</i> | 7100 | NR | Macho | Subadulto | Clínica (CL) | CLX40 |
| Lemuridae | <i>Lemur catta</i> | 7041 | 977170000050586 | Hembra | Adulto | Clínica (CL) | CLC00 |
| Cercopithecidae | <i>Papio hamadryas</i> | 6945 | 981020000247319 | Macho | Adulto | Sabana africana (SA) | SA07 |
| Felidae | <i>Puma concolor</i> | 550 | 054*797*538 | Hembra | Viejo | Bosques andinos (BA) | BA13 |
| | | 551 | 977170000063919 | Macho | Viejo | | |
| | <i>Panthera onca</i> | 455 | 055*300*61 | Macho | Viejo | Arca (AR) | AR11 |

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la detección de anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma gondii* (Weiner Laboratorios, 2000)

Fundamentos del método

La muestra previamente diluida se coloca en la policubeta, cuyos pocillos se encuentran sensibilizados con anticuerpos anti-IgM humanos. Las IgM de la muestra formarán complejos con los anticuerpos y permanecerán unidos a la fase sólida. La fracción no unida se elimina por lavado y luego se agrega el conjugado constituido por antígenos del parásito y anticuerpo monoclonal anti-*Toxoplasma gondii* conjugado con peroxidasa. Este complejo reacciona específicamente con las IgM anti-*T. gondii* inmunocapturados. El complejo no unido se elimina por lavado. La presencia de peroxidasa unida se revela mediante el agregado del sustrato cromogénico, tetrametilbencidina. Las muestras reactivas desarrollan color celeste. La reacción enzimática se detiene mediante el agregado de ácido sulfúrico, produciendo un viraje del color celeste al amarillo. La intensidad del color medido en espectrofotómetro a 450 y

405 nm será directamente proporcional a la concentración de IgM anti-*Toxoplasma gondii* en controles y muestras (Weiner Laboratorios, 2000).

Cálculo de resultados

Se debe considerar la densidad óptica del Control Negativo y del Control Cut-off. La presencia o ausencia de anticuerpos IgM de *Toxoplasma gondii* se define por comparación con la absorbancia del Control Cut-off. Las muestras con una densidad óptica menor que la del Control Cut-off son consideradas no reactivas para anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma gondii*. Las muestras con una densidad óptica mayor que la del Control cut-off son consideradas reactivas para anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma gondii*. Las muestras con absorbancias dentro de un rango de $\pm 10\%$ Control Cut-off deben ser consideradas dudosas y ensayadas nuevamente para su confirmación (Weiner Laboratorios, 2000).

Interpretación de los resultados (Weiner Laboratorios, 2000)

Resultado de la muestra: No Reactiva. Son consideradas negativas para anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma gondii*.

Resultado de la muestra: Reactiva. Son consideradas positivas para anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma gondii*.

Muestras dudosas: Deben ser repetidas para su confirmación Toda muestra inicialmente reactiva debe ser repetida por duplicado. Si una o ambas repeticiones dan positivas, la misma debe considerarse reactiva.

Sensibilidad clínica

En un estudio realizado sobre 108 muestras con infección aguda de toxoplasmosis se encontraron reactivas un 99,1% con el kit Toxotest IgM ELISA (Weiner Laboratorios, 2000).

Especificidad

En un estudio realizado sobre 276 muestras de sueros y plasmas negativos para IgM para *T. gondii* de 3 centros de salud diferentes, se encontró una especificidad de 99,61%. En otro estudio realizado sobre 236 muestras de sueros y plasmas negativos para IgM para *T. gondii* de 2 centros de salud diferentes, se encontró una especificidad de 97,91% (Weiner Laboratorios, 2000).

Resultados

Durante el periodo de desarrollo de este proyecto se lograron coleccionar 17 muestras de sangre de 8 especies diferentes.

De las muestras procesadas el 71% son del orden *Primates*, pertenecientes a las familias Cebidae (83.4%), Lemuridae (8,4%) y Cercopithecidae (8.4%) y el 29% de muestras restantes son del orden *Carnívora* pertenecientes a las familias Canidae (20%) y Felidae (80%).

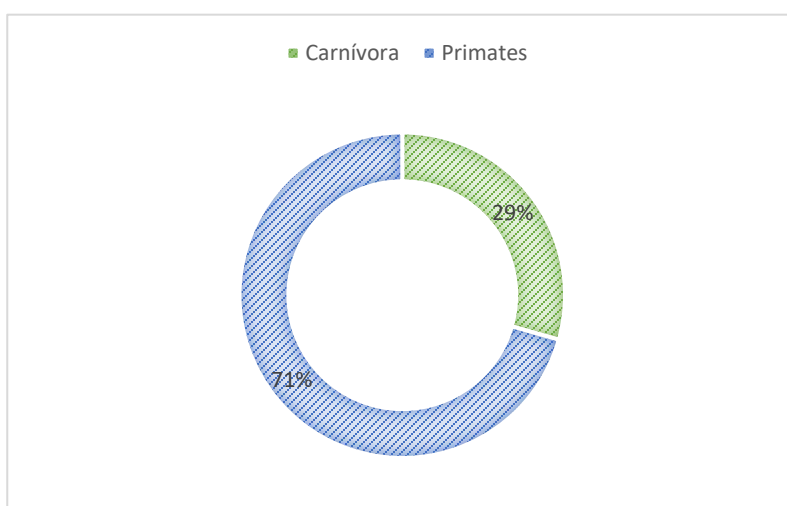


Ilustración 5. Porcentaje de individuos de los Ordenes *Carnívora* y *Primates* evaluados en el presente estudio.

Después de analizar las muestras en el Laboratorio “EjeLab” de la ciudad de Pereira, solo una (6%) resultó positiva a la presencia de anticuerpos IgM contra *Toxoplasma gondii*.

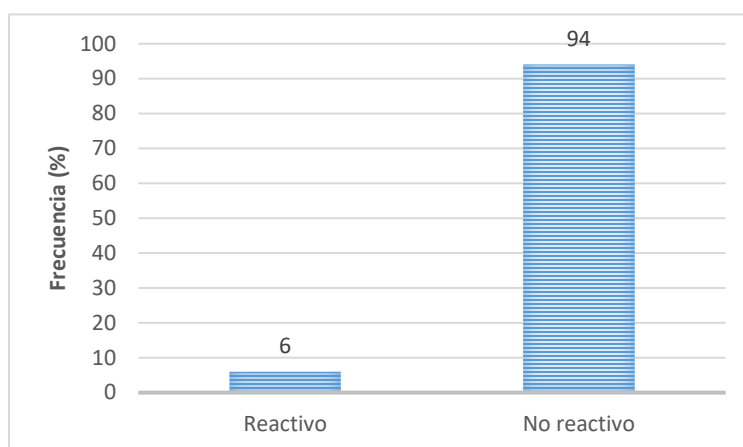


Ilustración 6. Porcentaje de pruebas reactivas y no reactivas.

Tabla 3. Resultados generales de la Prueba de ELISA para la detección de anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma gondii* en las familias *Cebidae*, *Canidae*, *Lemuridae*, *Cercopithecidae* y *Felidae*.

| Familia | Nombre científico | Resultado |
|------------------------|---------------------------|-------------|
| Cebidae | <i>Saimiri sciureus</i> | NO REACTIVO |
| | <i>Saimiri sciureus</i> | NO REACTIVO |
| | <i>Cebus albifrons</i> | NO REACTIVO |
| | <i>Cebus albifrons</i> | NO REACTIVO |
| | <i>Cebus albifrons</i> | NO REACTIVO |
| | <i>Cebus albifrons</i> | NO REACTIVO |
| | <i>Cebus albifrons</i> | NO REACTIVO |
| | <i>Cebus albifrons</i> | NO REACTIVO |
| | <i>Cebus albifrons</i> | NO REACTIVO |
| | <i>Cebus albifrons</i> | NO REACTIVO |
| Canidae | <i>Cerdocyon thous</i> | NO REACTIVO |
| Lemuridae | <i>Lemur catta</i> | NO REACTIVO |
| Cercopithecidae | <i>Papio hamadryas</i> | NO REACTIVO |
| Felidae | <i>Leopardus tigrinus</i> | NO REACTIVO |
| | <i>Puma concolor</i> | NO REACTIVO |
| | <i>Puma concolor</i> | REACTIVO |
| | <i>Panthera onca</i> | NO REACTIVO |

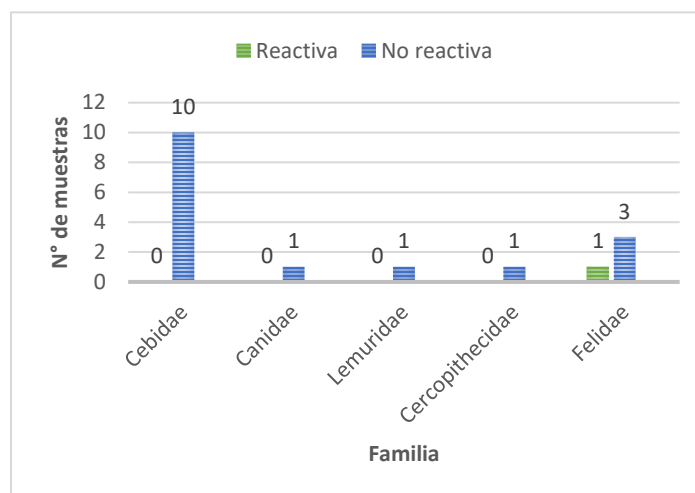


Ilustración 7. Gráfica de columnas agrupadas donde se muestra la frecuencia de muestras reactivas y no reactivas en las Familias *Cebidae*, *Canidae*, *Lemuridae*, *Cercopithecidae* y *Felidae*.

- Cebidae reactivos = 6%
- Cebidae no reactivos = 35%
- Canidae reactivas = 0%
- Canidae no reactivas = 6%
- Lemuridae reactivos = 6%
- Lemuridae no reactivos=35%
- Cercopithecidae reactivos = 0%
- Cercopithecidae no reactivos = 53%
- Felidae reactivos = 0%
- Felidae no reactivos = 53%

Tabla 4. Resultados por Orden de la Prueba de ELISA para la detección de anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma gondii*.

| | Reactivo | No reactivo |
|------------------|----------|-------------|
| Carnívora | 1 | 4 |
| Primates | 0 | 12 |

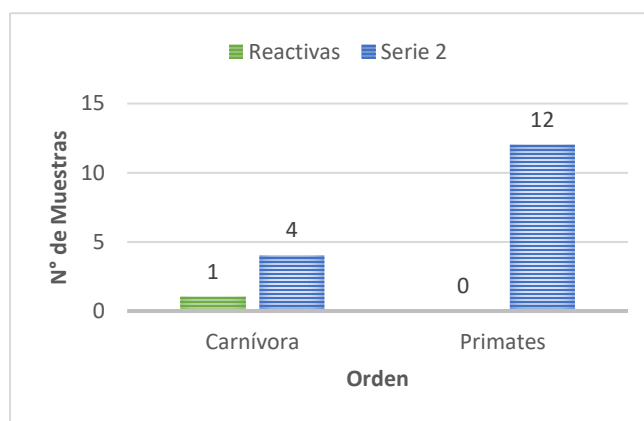


Ilustración 8. Gráfica de columnas agrupadas donde se muestra la frecuencia de muestras reactivas y no reactivas de *Toxoplasma gondii* según el Orden.

- Primates reactivos = 0%
- Primates no reactivos = 70,5%
- Carnívora reactivas = 6%
- Carnívora no reactivas = 23,5%

Tabla 5. Resultados por sexo de la Prueba de ELISA para la detección de anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma gondii*.

| | Reactivo | No reactivo |
|--------|----------|-------------|
| Hembra | 0 | 7 |
| Macho | 1 | 9 |

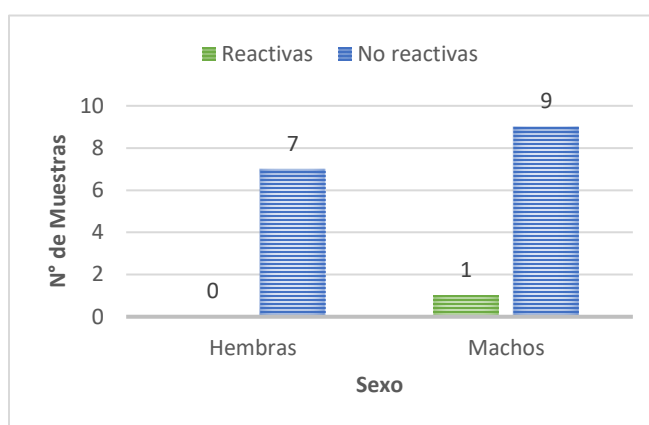


Ilustración 9. Gráfica de columnas agrupadas donde se muestra la frecuencia de muestras reactivas y no reactivas de *Toxoplasma gondii* según el sexo.

- Hembras reactivas = 0%
- Hembras no reactivas = 41%
- Machos reactivos = 6%
- Machos no reactivos = 53%

Tabla 6. Resultados por EDB de la Prueba de ELISA para la detección de anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma gondii*.

| | Reactivo | No reactivo |
|------------------|----------|-------------|
| Subadulto | 0 | 1 |
| Adulto | 0 | 9 |
| Viejo | 1 | 6 |

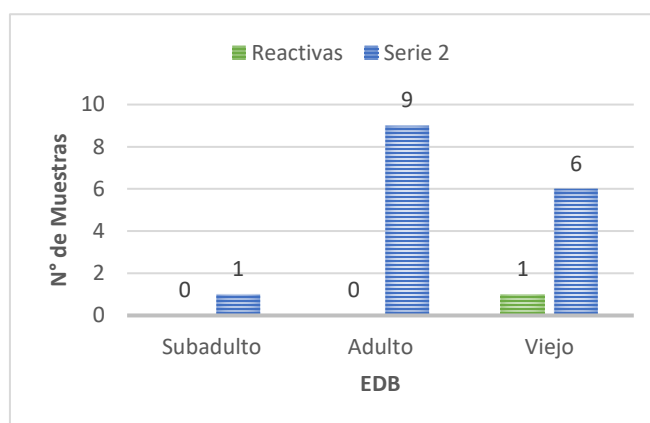


Ilustración 10. Gráfica de columnas agrupadas donde se muestra la frecuencia de muestras reactivas y no reactivas de *Toxoplasma gondii* según el EDB.

- Subadultos reactivas = 0%
- Subadultos no reactivas = 6%
- Adultos reactivos = 0%
- Adultos no reactivos = 53%
- Viejos reactivos = 6%
- Viejos no reactivos = 35%

Discusión

Según los resultados sobre la frecuencia de *Toxoplasma gondii*, obtenidos en las gráficas y tablas, se puede evidenciar que para el Orden *Primates* no existieron pruebas reactivas, pero en el Orden *Carnívora* se encontró una prueba reactiva que equivale al 6% del total de las muestras colectadas.

Existe un mayor riesgo de exposición al parásito en los animales silvestres que se encuentran en cautiverio, ya que en los zoológicos tienen mayores posibilidades de estrés ante las altas densidades de animales y tipos de dieta, además de mayores grados de consanguinidad (Scott, 1988)

Uno de los factores que afecta la frecuencia del parásito *Toxoplasma gondii* es el tipo de alimentación que tienen los individuos y los cuidados que se tengan a la hora de prepararlos.

El consumo de frutas y verduras crudas sin lavar está indicado como un factor de riesgo para adquirir *T. gondii* en humanos. El análisis por regresión logística mostró que los zoológicos que lavaban las frutas y verduras tenían un menor riesgo de infección por *T. gondii* (Camps et al., 2008).

El mayor riesgo de infección por *T. gondii* en los primates omnívoros en relación a los frugívoros puede deberse al hábito que tienen los monos de ingerir insectos que pueden actuar como hospederos paraténicos de los ooquistes (David S & Louis M, 2004)

Los felinos del Bioparque son alimentados con carne fresca y en ocasiones también se alimentan de roedores que son criados en el bioterio del área de nutrición animal, con todos los estándares de bioseguridad y calidad microbiológica para garantizar tanto el bienestar de los animales como la seguridad del personal. La exposición de los animales del Orden *Carnívora* a *T. gondii* podría mantenerse baja si se alimentan sólo con carne previamente congelada a 12 8C durante un periodo superior a 7 días (Dubey et al., 1990), ya que existe la posibilidad de que la carne se encuentre infectada con quistes tisulares, que son las formas más frecuentes de contagio en cautiverio (Dubey, 2010). Pero a pesar de esto hay una probabilidad de que los individuos puedan ingerir roedores que se encuentran en los alrededores de su recinto.

Es razonable suponer que cuanto mayor sea la edad, mayor será la posibilidad de exposición al riesgo de infección por *T. gondii*. Sin embargo, la posibilidad de intervenir sobre la variable "edad", en un zoológico, es nula para los animales ya alojados. El conocimiento de que los gatos de más edad tienen más probabilidad de ser infectados podría utilizarse a la hora de planificar el manejo a otros félidos y a los cuidadores de animales (Silva Ramos et al., 2007).

El diagnóstico de la toxoplasmosis puede realizarse por métodos biológicos, serológicos, histológicos y moleculares, cada una con diferente sensibilidad, especificidad y blanco antigénico (Lind et al., 1997; Dubey, 1995).

Los anticuerpos IgM suelen aparecer y declinar con más rapidez que los anticuerpos IgG. La medición de la IgM se utiliza en la mayoría de los laboratorios para determinar si las infecciones son recientes o del pasado. Los títulos se elevan en la

primera o segunda semana de la infección. Es tan rápido el aumento que casi siempre cuando se detectan ya está en su valor máximo y, es muy raro ver el aumento entre el suero agudo y el convaleciente (Ballestas et al., 2012).

Al comparar los resultados obtenidos con los de estudios previos, existe una diferencia significativa en las frecuencias de *Toxoplasma gondii* encontradas en los órdenes primates y Carnivora. Es probable que estas diferencias se deban, entre otras cosas, a la técnica de diagnóstico utilizada y al tamaño de muestra que hubo en cada investigación; además se deben considerar también las condiciones ambientales de cada lugar en el que se realizó el estudio, la infraestructura y el manejo de los alimentos. Todo esto puede influenciar las frecuencias de *Toxoplasma gondii* obtenidas (Yan et al., 2016; Smallbone et al., 2017).

Conclusiones

No se detectaron pruebas positivas en individuos del Orden *Primates*.

Para el presente estudio se determinó la presencia del parásito *Toxoplasma gondii* en un individuo de la Familia *Felidae* Perteneciente al Orden *Carnívora*, lo que equivale al 6% del total de las muestras colectadas.

Se describieron los resultados obtenidos a partir de los métodos diagnósticos utilizados.

Los gatos y ratones que deambulan dentro de las instalaciones del Bioparque, pueden ser una potencial fuente de contagio de la enfermedad.

Las frecuencias obtenidas en el presente proyecto difieren de las obtenidas por otros investigadores en estudios anteriores, esto puede ser debido tanto a las condiciones de cada lugar, como al tamaño muestral.

Recomendaciones

Es necesario realizar un estudio de prevalencia de *Toxoplasma gondii* en la población de gatos que frecuentan los alrededores del Bioparque, ya que estos son la mayor fuente de diseminación de la enfermedad.

Continuar con el Plan de Medicina Veterinaria Preventiva (PMVP), haciendo control de roedores que actúan como vectores de parásito.

Hacer colecta de muestra de sangre periódica de los individuos del Bioparque, especialmente a los que puedan ser más susceptibles.

Implementar medidas para evitar la diseminación de ooquistes de *Toxoplasma* en las fuentes de agua para abastecimientos de los animales del Bioparque.

Referencias

- Bacigalupe, D. R. (2008). La toxoplasmosis como enfermedad emergente en animales silvestres criados en cautiverio. *Libro de Resúmenes*, 15, 2008. [http://helminto.inta.gob.ar/Zoonosis 2008/MR 15.2 Toxoplasmosis como enf emergente en anim silvestres.pdf](http://helminto.inta.gob.ar/Zoonosis%202008/MR%2015.2%20Toxoplasmosis%20como%20enf%20emergente%20en%20anim%20silvestres.pdf)
- Ballestas, F., Herrera, M. A., & Moncaleano, M. C. (2012). *Características clínicas y serológicas en gestantes y neonatos con toxoplasmosis. Hospital Hernando Moncaleano Perdomo, Enero - Junio 2012.*
- Basso, W. U., & Venturini, M. C. (2009). La Toxoplasmosis en los Animales Domésticos y Silvestres criados en Cautiverio: Aspectos Epidemiológicos y Diagnóstico. *Revista Veterinaria Argentina*, 38, 1–7. <https://www.veterinariargentina.com/revista/2009/05/la-toxoplasmosis-en-los-animales-domesticos-y-silvestres-criados-en-cautiverio-aspectos-epidemiologicos-y-diagnostico/>
- Camps, S., Dubey, J. P., & Saville, W. J. A. (2008). Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in Zoo Animals in Selected Zoos in the Midwestern United States. *Journal of Parasitology*, 94(3), 648–653. <https://doi.org/10.1645/ge-1453.1>
- David S, L., & Louis M, W. (2004). Biology of *Toxoplasma gondii* in cats and other animals. In *Opportunistic Infections - Toxoplasma, Sarcocystis, and Microsporidia* (pp. 1–19).
- Dubey, J. P. (1995). Duration of Immunity to Shedding of *Toxoplasma gondii* Oocysts by Cats. *Journal of Parasitology*, 81(3), 410–415.
- Dubey, J. P. (2010). *Toxoplasmosis of Animals and Humans 2nd ed.*
- Dubey, J. P., Kotula, A. W., Sharar, A., Andrews, C. D., & Lindsay, D. S. (1990). Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *Journal of Parasitology*, 76(2), 201–204. <https://doi.org/10.2307/3283016>
- Giraldo Restrepo, M. L. (2008). Toxoplasmosis. *Medicina & Laboratorio*, 14(7–8), 359–375. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1105.2008.00303>
- Lind, P., Haugegaard, J., Wingstrand, A., & Henriksen, S. A. (1997). The time course of the specific antibody response by various elisas in pigs experimentally infected with *toxoplasma gondii*. *Veterinary Parasitology*, 71(1), 1–15. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00010-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00010-1)
- Llòria i Llàcer, M. T. (2002). Toxoplasmosis. Revisión clínica. *Elsevier*, 16(10), 80–83. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-toxoplasmosis-revision-clinica-13040256>
- Mimica, F., Muñoz-Zanzi, C., Torres, M., & Padilla, O. (2015). Toxoplasmosis, zoonosis parasitaria prevalente en Chile: recuento y desafíos. *Rev. Chil. Infectol.*, 32(5). https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182015000600008

- Minervino, A. H., Cassinelli, A. B., Souza, A. J., Moreira, M., Pereira, M. do C., Conceição, D. A., Pereira, W. L. A., & Ssunção, S. M. (2017). Detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in captive non-human primates in the Amazon region, Brazil. *Journal of Medical Primatology*, 46(6), 343–346. <https://doi.org/10.1111/jmp.12314>
- Rivera-Fernández, N., & García-Dávila, P. (2017). El papel de los gatos en la toxoplasmosis. *Revista de La Facultad de Medicina de La UNAM*, 60(6), 7–18. <http://www.scielo.org.mx/pdf/facmed/v60n6/2448-4865-facmed-60-06-7.pdf>
- Robert-Gangneux, F., & Dardé, M. L. (2012). Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(2), 264–296. <https://doi.org/10.1128/CMR.05013-11>
- Scott, M. E. (1988). The Impact of Infection and Disease on Animal Populations: Implications for Conservation Biology. *Conservation Biology*, 2(1), 40–56. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.1988.tb00334.x>
- Sedlák, K., & Bártoová, E. (2006). Seroprevalences of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in zoo animals. *Veterinary Parasitology*, 136(3–4), 223–231. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.11.021>
- Silva Ramos, J. C., Marvulo Vianna, M. F., Dias, R. A., Ferreira, F., Amaku, M., Adania, C. H., & Ferreira Neto, J. S. (2007). Risk factors associated with sero-positivity to *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids from Brazil. *Preventive Veterinary Medicine*, 78(3–4), 286–295. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.10.013>
- Smallbone, W. A., Chadwick, E. A., Francis, J., Guy, E., Perkins, S. E., Sherrard-Smith, E., & Cable, J. (2017). East-West Divide: Temperature and land cover drive spatial variation of *Toxoplasma gondii* infection in Eurasian otters (*Lutra lutra*) from England and Wales. *Parasitology*, 144(11), 1433–1440. <https://doi.org/10.1017/S0031182017000865>
- Ullmann, L. S., Costa, R., de Moraes, W., Cubas, Z. S., dos Santos, L. C., Hoffmann, J. L., Moreira, N., Sa, A. M., Montaña, P., Langoni, H., & Welker, A. (2010). Serological survey of *Toxoplasma gondii* in captive Neotropical felids from Southern Brazil. *Veterinary Parasitology*, 172(1–2), 144–146. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.04.013>
- Varela, N. (2001). La Toxoplasmosis en los Primates del Nuevo Mundo. *Boletín GEAS*, 2(4), 30–35. https://www.academia.edu/1830109/La_toxoplasmosis_en_los_primates_del_Nuevo_Mundo
- Weiner Laboratorios. (2000). *Toxotest IgM ELISA Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la detección de anticuerpos IgM anti-Toxoplasma gondii*. https://www.wiener-lab.com.ar/VademecumDocumentos/Vademecum_espanol/toxotest_igm_elisa_sp.pdf
- Yan, C., Liang, L. J., Zheng, K. Y., & Zhu, X. Q. (2016). Impact of environmental factors on the emergence, transmission and distribution of *Toxoplasma gondii*. *Parasites and Vectors*, 9(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1432-6>