

Artículo Primario

## SEROPREVALENCIA DE TÍTULOS DE ANTICUERPOS A *TOXOPLASMA GONDII* EN PRIMATES NO HUMANOS DEL PARQUE ZOOLOGICO NACIONAL DE CUBA

Ginette Villar Echarte

Parque Zoológico Nacional de Cuba. [ginettevillar@gmail.com](mailto:ginettevillar@gmail.com)

**Resumen.** Se estudió la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en primates no humanos del Parque Zoológico Nacional de Cuba, desde enero hasta abril de 2013. Fueron colectadas 32 muestras sanguíneas. Mediante la técnica de ELISA de inhibición (ELISA/i) validada por el Centro para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) se aislaron los títulos de anticuerpos. La seroprevalencia en primates fue de 78%, predominando en la mayoría de los casos títulos **BAJO**, lo que demuestra la permanencia del patógeno en el tiempo y la probabilidad de incremento si persistieran condiciones favorables a la presencia del parásito.

**Palabras clave:** primates no humanos, toxoplasmosis, títulos de anticuerpo, animales silvestres cautivos.

## SEROPREVALENCIA ANTICUERPO DE *TOXOPLASMA GONDII* EN PRIMATES NO HUMANOS DEL PARQUE ZOOLOGICO NACIONAL DE CUBA

**Abstract.** Is presented a systematic study of the seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in non-human primates to the National Zoo Park of Cuba. During the period January to April 2013, the research was carried out collecting 32 blood samples. Antibody titers in animals were recorder by enzyme linked immune-sorbent assay inhibition technique (ELISA/i) certificated by the Center for Laboratory Animal Production. The obtained results exhibited seroprevalence value non-human primate's groups present index of 78%, with a predominant **LOW** titles, showing the time permanence of the pathogen and an increasing probability of antibodies if favorable conditions for the parasite remain.

**Key words:** non-human primate, toxoplasmosis, antibody titers, captive wild animals.

### INTRODUCCIÓN

En las tres pasadas décadas, las enfermedades emergentes y reemergentes han sido reconocidas como uno de los más significativos problemas de salud pública y una de las principales causas de muerte a nivel mundial (McDaniel, *et. al.*, 2014).

Las enfermedades zoonóticas, particularmente las de origen parasitario constituyen un grupo importante y dentro de estas se encuentra la toxoplasmosis, la de Chagas, la babesiosis, la giardiasis y la leishmaniasis, que pueden ser causa de infecciones insidiosas asintomáticas, con capacidad de transmitirse (Esch y Petersen, 2013). Por esa razón, las organizaciones de salud pública en algunos países incluyen dentro de sus medidas de sanidad la evaluación epidemiológica de la toxoplasmosis (Muñiz y Mondragón, 2009). No obstante, la enfermedad sigue entre las zoonosis más prevalentes del mundo (Pino, *et. al.*, 2009).

La toxoplasmosis tiene una distribución mundial, afectando a los animales de sangre caliente, que incluye una extensa variedad de mamíferos y aves, incluyendo al hombre. En América por ejemplo, son hospederos definitivos confirmados según Varela, (2001) el gato doméstico (*Felis catus*), el jaguarundi (*Herpailurus jaguarundi*), el ocelote (*Leopardus pardalis*) y el león de montaña (*Puma concolor*). También como hospederos definitivos, Dorni y Fransen, (2009) incluyen al lince (*Lynx rufus*), el puma (*Felis concolor*), el tigre (*Panthera tigris*) y al león (*Panthera leo*), sugiriendo a otros félidos que pueden fungir como este tipo de hospedero, lo que explica los registros de toxoplasmosis en ambientes libres de gatos.

El agente circula además en el viento y otros invertebrados, reptiles insectívoros que se alimentan de insectos infectados con ooquistes (Wallace, 2000), insectos hematófagos que sirven como vectores biológicos (Amato y Barone, 2000), otros mamíferos y aves (Ferraroni y Marzochi, 2005), así como por el consumo de carne cruda, los roedores y otros vectores y el gato doméstico en los zoológicos (Frenkel, 1997).

Respecto a *Felis catus*, estudios realizados en Cuba por Grandía, *et. al.*, (2013<sup>a</sup>) encontraron el 70 % de positividad en las muestras investigadas, concluyendo que la prevalencia de anticuerpos contra *T. gondii* en los gatos domésticos de

La Habana es elevada, lo cual trae consigo un riesgo potencial de infección para todos sus hospederos, sean intermediarios o definitivos.

En Cuba se han realizado escasos estudios sobre la frecuencia de presentación de *Toxoplasma gondii* en animales silvestres cautivos. Existen referencias de las realizadas por Merlo, (2001) que de manera infructuosa investigó la presencia de ooquistes de *T. gondii* en heces de felinos del Parque Zoológico Nacional de Cuba y de Salguero, (2008) que detectó la presencia de títulos de anticuerpos de *T. gondii* en primates en el propio Parque Zoológico Nacional de Cuba.

## MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó en el Parque Zoológico Nacional de Cuba entre los meses de enero y abril de 2013. Se descartaron para el estudio animales seniles, hembras gestantes y crías.

Para la ejecución de este experimento se procedió como sigue:

1. **Selección de animales** que constituyeron la muestra de estudio con las especificaciones antes mencionadas (Cuadro I).

**Cuadro I.** Clasificación taxonómica de los animales monitoreados del Parque Zoológico Nacional de Cuba.

### 2. Contención de los animales

Orden	Familia	Nombre común	Nombre científico	Número de animales investigados
Primates	<i>Cercopithecidae</i>	Babuino anubis	<i>Papio anubis</i>	5
		Babuino sagrado	<i>Papio hamadryas</i>	6
		Macaco Rhesus	<i>Macaca mulatta</i>	7
		Macaco cangrejero	<i>Macaca fascicularis</i>	4
		Mandrill	<i>Mandrillus sphinx</i>	1
		Mono verde	<i>Chlorocebus sabaues</i>	2
	<i>Cebidae</i>	Capuchino cariblanco	<i>Cebus capucinus</i>	1
		Capuchino pardo	<i>Cebus apella</i>	2
	<i>Hominidae</i>	Chimpancé	<i>Pan troglodytes</i>	4

Según la edad y tamaño del animal, se realizó contención física y/o química, para reducir el estrés de la operación.

Los materiales empleados variaron entre las diferentes familias, y se consideraron las recomendaciones de autoridades en el tema. Los métodos y materiales para la contención aparecen reflejados en el Cuadro II.

**Cuadro II.** Materiales empleados según tipo de contención de animales a muestrear

Tipo de contención	Animal según grupo y familia	Materiales	Fuente
Física	<i>Cebidae</i>	jamos	Nunes, <i>et. al.</i> , (2007)
	<i>Cercopithecidae</i> (hembras)		
Química	<i>Cercopithecidae</i>	Clorhidrato de Ketamina + Clorhidrato de Xilacina	Fowler (1995); West, <i>et. al.</i> , (2007); Kreeger y Arnemo, (2012) ; Melterzer y Burroughs, (2006)
	<i>Hominidae</i>		

Las dosis de anestésicos para contención de animales se refieren en el Cuadro III.

**Cuadro III.** Dosis de anestésicos utilizados en la contención de los animales silvestres investigados.

Familia	Combinaciones de sedantes	Dosis (mg/kg) según la especie
<i>Cercopithecidae</i>	Clorhidrato de Ketamina	5 – 15
	Clorhidrato de Xilacina	0,5 – 1
<i>Hominidae</i>	Clorhidrato de Ketamina	5 – 15
	Clorhidrato de Xilacina	0,5 – 1

3. **Se tomaron las muestras de sangre** para extracción del suero
  - Extracciones de sangre de la vena femoral, previa antisepsia del área de punción con eosina o alcohol al 70%.
  - Se utilizó jeringuillas desechables de 10 y 20 ml, de manera individual y tubos de ensayos debidamente estériles y rotulados.
  - La sangre se vertió en los tubos, dejándola correr por las paredes de los mismos, para evitar rotura de glóbulos rojos y por lo tanto hemólisis de las muestras.
  - Para la **obtención de suero** los tubos se colocaron en una centrifuga marca Ultra LW Scientific a 2,500 rpm durante 15 minutos.
  - El suero obtenido se colocó en viales de 3 ml bien identificados y se sometieron a congelación para su conservación a temperatura de -2 a -8°C si la muestra era procesada dentro de la primera semana de haber sido obtenida y a -10°C, si la muestra se procesaba después la primera semana de obtenida. Se evitó ciclos de descongelamiento repetidos (OIE, 2008; Sharif, *et. al.*, 2009).
  - Las muestras se trasladaron al Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), utilizando anti-descongelantes para mantener la temperatura sin exceder los 30°C según (OIE, 2008).
  
4. Para la **detección de anticuerpos de *Toxoplasma gondii* en ungulados, primates y carnívoros se utilizó el método de ensayo ELISA de Inhibición\_ (ELISA/i)** según Grandía, *et. al.*, (2013<sup>b</sup>) que se emplea en CENPALAB para el diagnóstico de *Toxoplasma gondii* en cualquier especie animal.

El principio y protocolo del ELISA de inhibición (ELISA/i) según Grandía, *et. al.*, (2013<sup>b</sup>) se refiere en la Figura 1.

Principio: la inhibición de un solo anticuerpo, mediante el ensayo con una placa sensibilizada (con antígeno soluble) y bloqueada (con solución bloqueo y preservio)

Incubación de la muestra de suero y los controles (positivos de alto y bajo título y negativo) en cámara húmeda por 30 minutos a 37°C.

Se realiza un primer ciclo lavados de la muestra.

La interpretación de los resultados se basa en:

- **Análisis sensorial** (presencia o no de color)  
Reacción negativa: Caracterizada por un color intenso, unión del conjugado anti-Toxoplasma al antígeno.  
Reacción positiva: Identificada por ausencia de color, la unión del conjugado anti-Toxoplasma al antígeno fue inhibida.

- **Relacionado con la densidad óptica (DO)** y con esta el Factor de Inhibición (FI)

Incubación con el conjugado a temperatura de 37°C por 30 minutos en cámara húmeda.

Se realiza un segundo ciclo lavados de la muestra.

Se realiza un segundo ciclo lavados de la muestra.

Revelado de la reacción con el complejo sustrato-cromógeno.

Detención de la reacción a los 15 minutos.

Lectura a 492 nm en espectrofotómetro (lector de ELISA).

**Figura 1.** Protocolo del ELISA de inhibición (ELISA/i) según Grandía, *et. al.*, (2013<sup>b</sup>)

5. Lectura e interpretación de los resultados según Grandía, *et al.*, (2013<sup>b</sup>):

La lectura se realizó en espectrofotómetro (lector de ELISA), a densidad óptica de 492 nm. Las reacciones obtenidas fueron las siguientes:

- **Reacción negativa:** Caracterizada por color intenso, indica que el conjugado anti-Toxoplasma se unió al Ag por ausencia de Ac específicos en la muestra.
- **Reacción positiva:** Identificada por ausencia de color, indica que la unión del conjugado anti-Toxoplasma al Ag fue inhibida por los Ac presentes en la muestra.

La interpretación de los resultados se muestra en el Cuadro IV:

Títulos bajos	~ 1/32 a 1/64
Títulos medio	~ 1/128 a 1/256
Títulos altos	~ superior 1/256
Negativos	

**Cuadro IV.** Interpretación de los resultados a títulos de *T. gondii* por el método de ELISA/i.

6. Se calculó la **seroprevalencia de títulos de Ac para *Toxoplasma gondii*** en ungulados, primates y carnívoros. La prevalencia calculada fue la puntual o momentánea y para su cálculo se empleó la fórmula propuesta por Pita, *et al.*, (2004) según la cual:

$$\text{Prevalencia puntual} = \text{Ct} / \text{Nt}$$

Donde:

**Ct** = número de casos existentes (prevalentes) en un momento o edad determinados.

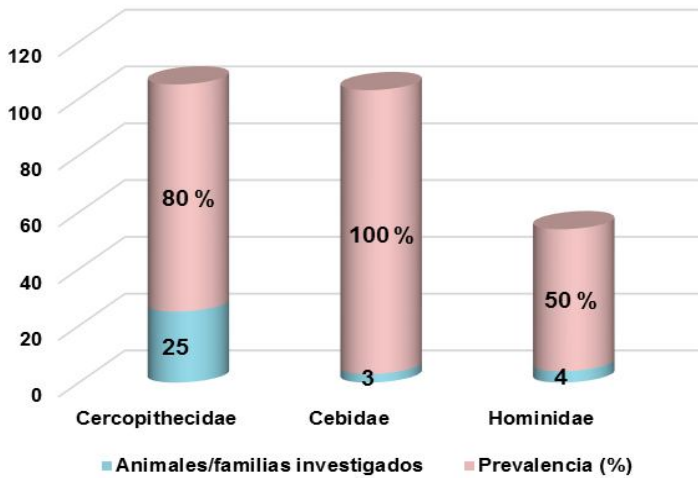
**Nt** = número total de individuos en la población en ese momento o edad determinados.

Para el cálculo de la prevalencia se empleó el software Epidat 3.1 (2006) recomendado por la OPS/OMS para análisis epidemiológicos.

Se realizaron tablas de distribución de frecuencias para determinar la frecuencia de casos positivos y negativos por familias y rango de títulos de Ac por especies de primates.

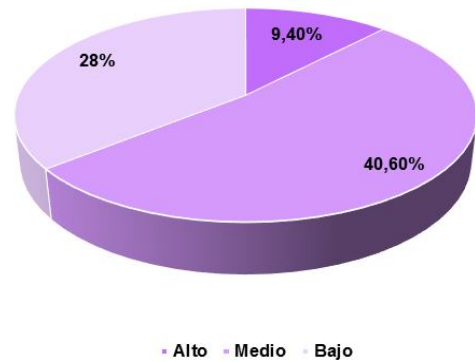
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al realizar la determinación de títulos de Ac por el método antes referido y utilizando las especificaciones para la lectura de los resultados que Grandía, *et al.*, (2013<sup>b</sup>) proponen se pudo comprobar que 78% de los animales investigados exhibieron títulos de Ac a *Toxoplasma gondii* (Gráfico 1), es decir, resultaron positivos a este agente etiológico.



**Gráfico 1.** Muestras positivas y negativas a *Toxoplasma gondii* de primates investigados del Parque Zoológico Nacional de Cuba.

**Gráfico 2.** Seroprevalencia de títulos de anticuerpos a *T. gondii* según familias de primates en el Parque Zoológico Nacional de Cuba.

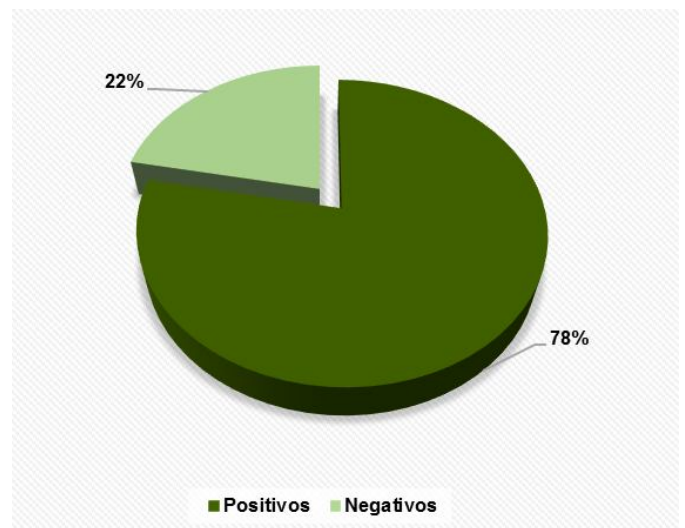


El valor de seroprevalencia más elevado correspondió a la familia *Cebidae* con 100%, seguido la *Cercopithecidae* (80%) y por último la *Hominidae* (50%), según refiere el Gráfico 2.

La toxoplasmosis es bien conocida como una enfermedad que afecta a varias especies de animales domésticos, de vida libre, así como humanos (Pantoja y Pérez, 2001). Se ha reconocido el papel de los animales de vida libre en la preservación de su ciclo en la naturaleza (Carme, *et. al.*, (2009), en primates (Cedillo–Peláez *et. al.*, 2011) y en equinos (Pomares, *et. al.*, 2011). También ha sido señalada su presencia en el ambiente, con especial atención al agua y el suelo (Rosado y Medina, 2014). Resultados obtenidos por Salguero, (2008), demuestran una seroprevalencia de 13,5% en primates del Parque Zoológico Nacional de Cuba. El hecho indica que entre el 2008 y el período 2012 – 2014 la seroprevalencia aumentó en 64,5%, lo que evidencia una mayor circulación del agente etiológico en el sitio de estudio.

En el caso de la familia *Cebidae* el hecho coincide con varios reportes que indican que *T. gondii* puede causar infección latente sobre todo en primates del Nuevo Mundo, provocando abortos, dificultad respiratoria y múltiples focos de necrosis (Cedillo–Peláez, *et. al.*, 2011). En el Parque Zoológico Nacional de Cuba la enfermedad ha cursado hasta el momento de manera asintomática en esta familia representada por 3 individuos: 2 capuchinos pardos (*Cebus apella*) y 1 capuchino cariblanco (*Cebus capucinus*).

**Gráfico 3.** Distribución de frecuencias de rangos de Ac a *T. gondii* en animales positivos del Parque Zoológico Nacional de Cuba.





Se considera que esto puede estar dado por la manera de propagación de los ooquistes (la contaminación del alimento por heces de gatos domésticos dentro del lugar de almacenamiento del mismo (Ferreira y Navarro, 1994).

Además, para que ocurra una alta prevalencia de infestación en los herbívoros alta u omnívoros deben existir condiciones climáticas que la favorezcan, como son: humedad y temperaturas que oscilen entre 25 – 31°C (Salomão, 2013), aspecto que está presente en las condiciones climáticas de Cuba.

Es importante destacar los rangos de títulos de Ac a *T. gondii* que fueron detectados en este estudio. Grandía, *et. al.*, (2013<sup>b</sup>) establecen rangos de título de Ac a *T. gondii* con categoría nominal de ~ superior 1/256 para **Alto**, entre valor ~ 1/128 a 1/256 para títulos **Medio** y de ~ 1/32 a 1/64 para títulos **Bajo** como el Cuadro IV indica.

En este estudio, se detectó una frecuencia de rangos de Ac a *T. gondii* (de los casos positivos) predominantemente bajo en el 40,60% (Gráfico 3) de los individuos investigados. Estos resultados indican que en la población investigada existe probablemente una infestación no reciente pero permanente en el tiempo.

## CONCLUSIONES

1. Se demostró seroprevalencia de Ac a *Toxoplasma gondii* de las familias de primates del Parque Zoológico Nacional de Cuba, con predominio de casos positivos en la familia *Cebidae*.
2. Los valores de seroprevalencia predominantemente bajo y medio a Ac de *Toxoplasma gondii* encontrados indican persistencia en la circulación del parásito en el Parque Zoológico Nacional de Cuba, lo que constituye un riesgo a la salud animal.
3. La toxoplasmosis cursa de manera asintomática en la colonia de primates del Parque Zoológico Nacional de Cuba

## REFERENCIAS

1. Amato, V.; Barone, A. 2000. Toxoplasmosis. En: Amato, V.; Baldy, J. Doenças transmissíveis. 3 ed. São Paulo: **Sarvier**. 831 – 843.
2. Carme, B.; Demar, M.; Ajzenberg, D.; Dardé, M. L. 2009. Severe acquired toxoplasmosis caused by wild cycle of *Toxoplasma gondii*, French Guiana. **Emerg Infect Dis**. 15 (4):656 – 658.
3. Cedillo–Peláez, C.; Rico–Torres, C. Salas–Garrido, C.; Correa, D. 2011. Acute toxoplasmosis in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) in Mexico. **Veterinary Parasitology**. 180:368 – 371.
4. Epidat 3.1 2006 recomendado por la OPS/OMS para el procesamiento de datos en los análisis epidemiológicos.
5. Esch, K.; Petersen, C. 2013. Animals Zoonotic Protozoal Diseases of Companion. **Clin. Microbiol. Rev**. 26 (1):58 – 85.
6. Dorni, P.; Fransen, J. 2009. Toxoplasmosis in a Siberian tiger (*Panthera tigris altaica*). **Veterinary Record**. 125 (26/27).
7. Ferraroni, J. J.; Marzochi, M. C. 2005. Toxoplasmosis em animais domésticos y silvestres de Manaus – Amazonas. **Acta amazônica**. 167 (7): 259 – 384.
8. Ferreira, J.; Navarro, I. 1994. Prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em animais selvagens: revisão. *Semina: Ci, Agr. Londina*. 15 (1):94 – 100.
9. Fowler, M. E. 1995. **Restraint and Handling of Wild and domestic Animal**. 2<sup>da</sup> Ed. Editorial Blackwell Publishing.
10. Frenkel, J. K. 1997. Protozoan diseases of zoo and captive mammals and birds. En: Montali, R; Migaki, G. **The comparative pathology of zoo animals**. Washington: Smithsonian. 329 – 342.
11. Grandía, R; Entrena, A. G.; Cruz, J. H.; Ginorio, D. G.; Domenech, I. C.; Alfonso, A. M.; Perdomo, L. R.; Chi, L. R.; Burón, M. R. 2013<sup>a</sup>. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en *Felis catus* en La Habana. **Rev. Inv. Vet Perú**. 24 (3):369 – 375.
12. Grandía, R; Entrena, A. G.; Cruz, J. H.; Ginorio, D. G.; Domenech, I. C.; Alfonso, A. M.; Perdomo, L. R.; Chi, L. R.; Burón, M. R. 2013<sup>b</sup>. Validación de un sistema inmunoenzimático de inhibición para el diagnóstico de *Toxoplasma gondii* en *Felis catus*. **Revista electrónica REDVET**. 14(7):2 – 12.
13. Kreeger, T. J.; Arnemo, J. M. 2012. **Handbook of Wildlife Chemical Immobilization**. 4<sup>ta</sup> Ed. Swedish University of Agricultural Sciences.
14. McDaniel, C.; Cardwell, D.; Moeller, Jr. R.; Gray, G. 2014. Humans and cattle: a review of bovine zoonoses. **Vector – borne and zoonotic diseases**. 14 (10):1 – 19.
15. Melterzer, A; Burroughs, R. 2006. **Chemical and physical restraint of wild animal**. Zimbabwe Veterinary Association Wildlife Group and International Wildlife Veterinary Services. South Africa.

16. Merlo, R. H. 2001. Prevalencia de infección por *Toxoplasma gondii* en trabajadores y felinos del Parque Zoológico Nacional de Cuba. **Tesis para optar por el grado de master en parasitología**. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".
17. Nunes, A. L.; Cruz, M. L.; Cortopassi, S. R. Anestesiología. In: Cubas, Z. S; Silva, J. C.; Catão – Dias, J. L. 2007. **Tratada de Animais Selvagens: Medicina Veterinária**. Editorial Roca. São Paulo. 1040 – 1067.
18. Pantoja, A.; Pérez, L. 2001. Reseña histórica acerca de las investigaciones relacionadas con la toxoplasmosis. Universidad Agraria de la Habana "Fructuoso Rodríguez". **Rev Cubana Med. Trop.** 53 (2):111 – 117.
19. Pino, L. E.; Salinas, J. E.; López, M. C. 2009. Descripción de un brote epidémico de toxoplasmosis aguda en pacientes inmunocompetentes miembros de las fuerzas militares de Colombia durante operaciones de selva. Asociación colombiana de infectología. **Rev. Infectol.** 13 (2):83 – 91.
20. Pita, S; Pértegas, S; Valdés, F. 2004. **Metodología de la Investigación "Medidas de frecuencia de enfermedad"**. Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística. Servicio de nefrología. Complejo Hospitalario Universitario Juan Canalejo. España.
21. Pomares, C.; Ajzenberg, D.; Bornard, L.; Bernardin, G.; Hasseine, L.; Dardé, M. L.; Marty, P. 2011. Toxoplasmosis and horse meat, France. **Emerg Infect Dis.** 17(7):1327 – 1328.
22. Rosado, F.; Medina, I. 2014. Importancia y factibilidad del diagnóstico ambiental de *Toxoplasma gondii* en Cuba. **Rev Cubana Salud Pública.** 40(2).
23. Salguero, D. 2008. Seroprevalencia a *Toxoplasma gondii* en la colección de primates del Parque Zoológico Nacional de Cuba. Tesis de discusión del Diplomado en: Fauna Silvestre *ex situ*. Parque Zoológico Nacional de Cuba. Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente.
24. Salomão, M. 2013. Toxoplasmose em caprinos do estado do paraná e comparação de testes para sorodiagnóstico. **Tesis presentada para la obtención del título de Doctor en Ciencia Animal**. Londrina. Paraná. Brasil.
25. Varela, N. 2001. La toxoplasmosis en los primates del nuevo mundo. **Boletín GEAS.** 2(4):20 – 35.
26. Wallace, G. 2000. Intermediate and transport hosts in the natural history of *Toxoplasma gondii*. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 22(4):456 – 464.
27. West, G.; Hesrd, P.; Caulkett, N. 2007. **Zoo Animal and Wildlife Immobilization and Anesthesia**. Editorial Blackwell Publishing. 1230 – 1245.