



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* EN
MAMÍFEROS EN CAUTIVERIO DE UN ZOOLOGICO DE LA
REGIÓN METROPOLITANA**

Raúl Matías Muñoz Quijano

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina
Preventiva Animal

PROFESOR GUÍA: GALIA RAMÍREZ TOLOZA
UNIVERSIDAD DE CHILE

Financiamiento:
Departamento de Medicina Preventiva Animal,
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile
Departamento de Conservación e Investigación, Parque Zoológico Buin Zoo

SANTIAGO, CHILE
2019



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* EN
MAMÍFEROS EN CAUTIVERIO DE UN ZOOLOGICO DE LA
REGIÓN METROPOLITANA**

RAÚL MATÍAS MUÑOZ QUIJANO

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina
Preventiva Animal

NOTA FINAL:

FIRMA

PROFESOR GUÍA: GALIA RAMÍREZ

PROFESOR CORRECTOR: FERNANDO FREDES

PROFESOR CORRECTOR: CRISTÓBAL BRICEÑO

SANTIAGO, CHILE

2019

MEMORIA DE TÍTULO

“DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* EN MAMÍFEROS EN CAUTIVERIO DE UN ZOOLOGICO DE LA REGIÓN METROPOLITANA”

“DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST *Toxoplasma gondii* IN MAMMALS IN CAPTIVITY FROM A ZOO AT THE METROPOLITAN REGION”

Raúl Matías Muñoz Quijano*

*Departamento de Medicina Preventiva Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

AGRADECIMIENTOS

Dedico estos agradecimientos a las personas que permitieron que esta Memoria fuera posible, partiendo por el Dr. Ezequiel Hidalgo que me dio la oportunidad de trabajar en esta investigación y me brindo guía y conocimiento sobre el área de investigación y conservación en fauna silvestre. También, al Dr. Fernando Fredes por su disposición a responder mis consultas referentes al tema, las cuales me ayudaron bastante para desarrollar mi tesis, y al Dr. Cristóbal Briceño, por tener la disposición de estar presente durante las presentaciones a pesar de tener dificultades.

Gracias a la Dra. Galia Ramírez por su enorme y constante ayuda durante todo este proceso, especialmente por su guía en el laboratorio y experimentos, por sus correcciones y consejos para preparar las presentaciones y escritos, y principalmente por ser una fuente de motivación y entusiasmo al llevarme a participar en ceremonias de difusión científica del área de la parasitología, lo que sin duda será de mucha utilidad para mi futuro. También gracias a su esposo, el Dr. Raúl Alegría, ya que brindo muchos consejos y ayuda en la parte de estadística, permitiendo que esa etapa de la investigación no fuera tan trabajosa.

También quiero agradecer a mi familia, mis padres Sara y Raúl, y mis hermanos Sebastián, Bárbara y Joaquín, por su paciencia y ánimos. Mencionaré también a mis amigos en general, destacando a mis compañeros de carrera Katherine, Vicente, Ninoska, Luis y mis amigos que conservo desde el liceo, Pablo y Oscar este agradecimiento es por siempre entregar alegría, consejo, conversación, experiencia, recreación y vivir conmigo llantos, conflictos, risas, y trabajo, cosas que me llevaron durante mi carrera y mi vida a ser la persona que soy actualmente, me ayudaron a ver quién yo soy en verdad y disfrutar de mi propia persona, sin preocuparme por la vista u opinión de personas ajenas.

Finalmente, quiero agradecer a Aleck Vásquez Woolvett, por su compañía y ánimo, ya que siempre destacó mis logros y me motivaba a seguir creciendo y aprovechar mis oportunidades. Sin su apoyo, quizás terminar este proyecto hubiera sido más difícil; tengo muchas cosas que decir y agradecerle, pero él ya las conoce.

Muchas gracias

Raúl M.

RESUMEN

Toxoplasma gondii es un protozoo, cosmopolita, que infecta un gran número de animales de sangre caliente, en los que provoca patologías de variada presentación, siendo su hospedero definitivo carnívoros de la familia Felidae. En la presente Memoria de Título se analizaron 335 muestras de suero pertenecientes a carnívoros, primates, marsupiales, ungulados y roedores de un zoológico ubicado en la Región Metropolitana de Chile, para detectar la presencia de anticuerpos anti-*T. gondii* mediante un test de ELISA indirecto multiespecie. Del total de muestras, 21,8% resultaron seropositivas. Se encontró una seroprevalencia de 27,9% para carnívoros, 21,1% para ungulados y 15% para primates. No se detectaron muestras positivas en roedores y marsupiales. Además, se evaluaron muestras de suero de 19 animales, tomadas en diferentes años. De ellos, solo un zorro culpeo (*Lycalopex culpaeus*) realizó seroconversión, siendo seronegativo en los años 2015 y 2016, y seropositivo en 2018. Un análisis de las posibles variables implicadas en la seropositividad mostró que los animales con dieta carnívora y mamíferos de la familia Felidae tienen seropositividades significativamente mayores que los otros grupos ($p < 0,05$). Además, dos especies, *Ateles chamek* (mono araña peruano) y *Symphalangus syndactylus* (siamang), resultaron seropositivos, constituyendo este el primer hallazgo, a nivel mundial.

Al igual que en estudios anteriores nacionales e internacionales, se confirma la presencia de animales seropositivos a *T. gondii*, pudiendo existir contacto con el agente y transmisión dentro del recinto, lo cual es confirmado por un caso de seroconversión. Este hecho, podría representar un riesgo de transmisión, especialmente para las especies más susceptibles a padecer toxoplasmosis fatales.

Palabras clave: *Toxoplasma gondii*, serología, zoológico, ELISA, mamíferos, Felidae, dieta.

ABSTRACT

Toxoplasma gondii is a cosmopolitan protozoan infecting a large number of warm-blooded animals, and causes pathologies of varied presentation, being its final host carnivores of the family Felidae. In this undergraduate thesis were analyzed 335 samples from carnivores, primates, marsupials, ungulates and rodents from a zoo located in the Metropolitan Region of Chile, to detect the presence of anti-*T. gondii* antibodies by an indirect multispecies ELISA test. Of the total samples, 21.8% were seropositive. A seroprevalence of 27.9% was found for carnivores, 21.1% for ungulates and 15% for primates. No positive samples were detected in rodents or marsupials. In addition, serum samples from 19 animals, taken in different years, were evaluated. From these, only one sample, corresponding to a culpeo fox (*Lycalopex culpaeus*) performed seroconversion, being seronegative in 2015 and 2016, and seropositive in 2018. An analysis of the possible variables involved in the seropositivity of animals was performed, demonstrating that carnivorous diet and the Felidae family have significant seropositivity compared to the other groups ($p < 0.05$). In addition, two species, *Ateles chamek* (Peruvian spider monkey) and *Symphalangus syndactylus* (siamang), were seropositive, being the first finding, worldwide.

As in previous national and international studies, the presence of *T. gondii* seropositive animals was confirmed, and there may be contact with the agent and transmission within the enclosure, which was confirmed by a case of seroconversion. This fact could be a problem in more susceptible animals to fatal toxoplasmosis.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, zoo, ELISA, mammals, Felidae, diet.

INTRODUCCIÓN

***Toxoplasma gondii*, características y ciclo biológico**

La toxoplasmosis es una enfermedad causada por el protozoo Apicomplejo *Toxoplasma gondii*, parásito intracelular obligado que puede causar patologías a un gran número de animales de sangre caliente, como mamíferos y aves, además del ser humano, por lo que es considerada una zoonosis. Se ha descrito como únicos hospederos definitivos a carnívoros de la familia Felidae, quienes completan las etapas sexuales del ciclo biológico y posteriormente, en su primo infección, excretan cientos de ooquistes al medio ambiente junto con sus heces. Otros mamíferos y aves solo actúan como hospederos intermediarios (Dubey, 2010).

Si bien la infección es discutida en animales poiquilotermos, como reptiles, anfibios, peces e invertebrados; se ha demostrado que, bajo ciertas condiciones de temperatura (37°C), el parásito es capaz de infectar a peces (Sanders *et al.*, 2015), y también se ha detectado en serpientes (Nasiri *et al.*, 2016). Además, algunos invertebrados y peces podrían actuar como vectores mecánicos o bioacumuladores al transportar sus ooquistes (Bettioli *et al.*, 2000a; Tenter *et al.*, 2000; Massie *et al.*, 2010).

Al ingresar al organismo, mediante el consumo de alimentos o aguas contaminadas, los ooquistes maduros o infectantes se rompen, liberando esporozoitos que comenzarán a invadir distintos tejidos por la vía hematogena, y a replicar en su forma de taquizoito. Mediante esta vía, y en esta forma biológica, puede cruzar la barrera placentaria, lo que implicaría un riesgo de transmisión vertical, que puede desencadenar infecciones congénitas o pérdidas neonatales en hospederos que no presenten inmunidad contra este parásito. El taquizoito, además presenta riesgo de transmisión mediante transfusiones de sangre (Dubey, 2010; McLeod *et al.*, 2014). Al enfrentarse a la respuesta inmune del hospedero, el parásito puede invadir los tejidos ingresando a las células, comenzando su multiplicación asexual intracelular, formando quistes donde se desarrollarán las formas de bradizoito (formas de replicación lenta). Estas formas pueden transmitirse horizontalmente, mediante el consumo de tejidos infectados. Este hecho es de gran relevancia para su hospedero definitivo, como también, para cualquier hospedero con dieta carnívora, incluido el ser humano, ya que el parásito se puede adquirir mediante el consumo de presas, tejidos, órganos infectados o carne

insuficientemente cocida. En tanto que, en el caso del humano, se agrega el riesgo de infección mediante trasplantes de órganos (Dubey, 2010; McLeod *et al.*, 2014).

El ciclo se completa cuando un felino sin memoria inmunológica contra este organismo (como una primo infección), ingiere al parásito y este puede desarrollar su ciclo sexual entérico, ya que no se presenta respuesta inmune humoral. Allí se forman cientos de ooquistes que se excretan junto con las heces, contaminando el medio ambiente (Tenter *et al.*, 2000; Dubey, 2010; Torrey y Yolken, 2013; McLeod *et al.*, 2014). Así, los ooquistes presentes en el ambiente constituyen un gran riesgo para la salud pública, puesto que son resistentes a las condiciones medioambientales. En situaciones óptimas de humedad y temperatura, se pueden mantener con capacidad infectante por aproximadamente un año. Además, se requiere consumir tan solo un ooquiste esporulado para contraer la infección, la cual, en condiciones óptimas, se puede transmitir también, a través de la ingesta de agua, verduras y comida cruda contaminadas, pudiendo ser transportados también por vectores mecánicos (Dubey, 2010; Jones y Dubey, 2010; Torrey y Yolken, 2013).

Las medidas para prevenir el contagio con *T. gondii* consisten en una adecuada cocción de los alimentos, en especial de productos cárnicos, puesto que estos pueden presentar quistes tisulares, los cuales resisten temperaturas de 60°C por 4 minutos y 50°C por 10 minutos, siendo óptimo alcanzar una temperatura interna superior a 63°C por 20 minutos para destruirlos. Tratamientos previos como congelar la carne a -20°C por 48 horas son efectivos, ya que los quistes tisulares se vuelven inviables a -12°C por 24 horas. Así también, el adecuado lavado de frutas y verduras o su cocción, además de evitar la ingesta de agua no potable, limita la infección por ingestión de ooquistes esporulados. Es recomendable que las embarazadas que desconozcan su estatus inmunológico contra *T. gondii* (ya que las primo infecciones son riesgosas), además de seguir todas las medidas preventivas mencionadas, eviten tener contacto con heces de gato (manejo de cajas de arena sanitarias o labores de jardinería). Para los animales, las medidas preventivas son las mismas que para el ser humano. Sin embargo, es de gran importancia evitar que consuman a potenciales hospederos intermediarios, como aves y roedores, interrumpiendo el ciclo biológico del protozoo, especialmente en félicos (Tenter *et al.*, 2000; Dubey y Jones, 2008; Dubey, 2010; Elmore *et al.*, 2010; Torrey y Yolken, 2013; Dubey, 2014).

Infección y enfermedad causada por *T. gondii*

Toxoplasma gondii es un parásito cosmopolita. Se considera que una parte importante de la población ha tenido contacto con el protozoo, siendo la infección muchas veces asintomática, o bien, de existir signología, esta puede ser inespecífica y atribuible a otro agente infeccioso. Por lo tanto, la enfermedad y sus manifestaciones clínicas son menos frecuentes. Los síntomas o signos, según la especie afectada, incluyen cefalea, linfadenopatías, mialgia, entre otros. En ciertos casos, el agente puede provocar cuadros graves, especialmente en seres humanos inmunocomprometidos, ya sea con tratamiento de quimioterapia, proceso de trasplante de órganos (asociado a fármacos inmunosupresores), y también portadores del virus de inmunodeficiencia humana (VIH), especialmente los que cursen con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), en los cuales puede provocar alteraciones del sistema nervioso, neumonía y hepatitis. Las primo- infecciones en embarazadas representan un riesgo de transmisión para el embrión o feto, lo que puede conducir a alteraciones congénitas como coriorretinitis y ceguera, además de la posibilidad de producir pérdidas neonatales. Todas estas manifestaciones también se pueden observar en los animales, muchos de los cuales son muy susceptibles a la infección con este protozoo, desarrollando, en algunos casos, abortos debido a primo infecciones durante la preñez (especialmente en los ovinos) y patologías de cuadro grave (neumonía, trastornos neurológicos) (Tenter *et al.*, 2000; Dubey, 2010; Elmore *et al.*, 2010; Jones y Dubey 2010; Torrey y Yolken, 2013; Weiss y Kim, 2014).

Toxoplasmosis en fauna silvestre de vida libre, en cautiverio y su situación en Chile

Toxoplasma gondii se ha detectado en diversas especies animales, tales como primates, cetartiodáctilos, perisodáctilos, carnívoros, roedores, marsupiales y aves (Dubey, 2002; Dubey y Jones, 2008; Dubey, 2010; Lindsay y Dubey, 2014). El gato doméstico (*Felis silvestris catus*) se considera su principal hospedero definitivo. Sin embargo, se ha comprobado que varias especies de félidos cumplen este mismo rol, permitiendo que el parásito complete su ciclo sexual, y libere ooquistes al ambiente en su primo infección (Elmore *et al.*, 2010; Jones y Dubey, 2010). Por lo anterior, los félidos sustentan el ciclo biológico del parásito, y a la vez, representan un riesgo de contaminación ambiental y transmisión para animales en cautiverio, ya que muchos carnívoros de la familia Felidae son

parte de colecciones de animales de varios recintos. Esto constituye una amenaza, en especial para las especies más susceptibles a contraer una toxoplasmosis fatal, como son los marsupiales australianos, primates del nuevo mundo, lémures, el gato manul (*Otocolobus manul*) y aves paseriformes (Dubey, 2002; Dubey y Jones, 2008; Dubey, 2010; Portas, 2010; Lindsay y Dubey, 2014).

En el mundo, muchos investigadores han constatado la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* en animales silvestres de vida libre y en cautiverio, como estrategia para evaluar exposición al agente y los factores de riesgo más importantes para su transmisión (Sedlák y Bártová, 2006; Silva *et al.*, 2007; André *et al.*, 2010; Dubey, 2010; Alvaro-Esquivel *et al.*, 2013).

En Chile, existen pocos estudios sobre la exposición o infección por *T. gondii* en fauna silvestre de vida libre. Así, se ha detectado la presencia de anticuerpos anti-*T. gondii* en visones americanos (*Neovison vison*) (59-70%), huillines (*Lontra provocax*) (77%), 2 güiñas (*Leopardus guigna*) (Sepúlveda *et al.*, 2011; Barros *et al.*, 2018) y un lobo marino (*Otaria byronia*) (Sepúlveda *et al.*, 2015). En el caso de la fauna en cautiverio, se realizó un estudio en el “Zoológico Nacional de Santiago” donde se evaluaron sueros de 127 mamíferos en cautiverio, de los cuales el 27,5% resultó positivo (Gorman *et al.*, 1986). Más recientemente, se reportaron casos de toxoplasmosis fatal en un canguro rojo (*Macropus rufus*) y una mara (*Dolichotis patagonum*) mediante un estudio histopatológico *post mortem* realizado en el “Parque Zoológico Buin Zoo” (Díaz-Ayala *et al.*, 2016).

En base a los antecedentes revisados, surge la necesidad de realizar más estudios que señalen la seroprevalencia, y posible exposición de fauna silvestre, en cautiverio y vida libre a *T. gondii*, y así poder dilucidar la relevancia actual de la infección. Por los antecedentes dados en esta revisión, se llevó a cabo esta Memoria de Título, cuyo objetivo fue determinar la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* en una población de mamíferos silvestres en cautiverio perteneciente a un parque zoológico de la Región Metropolitana de Santiago de Chile, y verificar la seroprevalencia en carnívoros, ungulados, primates, roedores y marsupiales (Anexo 1).

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de muestra

Se utilizaron sueros de distintas especies de mamíferos pertenecientes a una colección de animales del Parque Zoológico Buin Zoo, el cual está ubicado en Panamericana Sur Km 32, Buin, Región Metropolitana de Santiago de Chile. Este cuenta con sobre 2.000 animales de 400 especies diferentes.

Los criterios para la selección de las muestras de mamíferos fueron los siguientes: muestras obtenidas entre los años 2011 y 2018, y muestras no hemolisadas (verificable mediante el color del suero). Además, se analizó la totalidad de las muestras de marsupiales, por considerarse especies altamente susceptibles a toxoplasmosis fatales (Portas, 2010), y existir un caso reportado del agente en un canguro rojo (*M. rufus*) (Díaz-Ayala *et al.*, 2016). También, se usaron la totalidad de muestras de gatos ferales (*Felis silvestris catus*) obtenidas dentro del zoológico, y se usaron muestras de primates, ungulados, félidos silvestres y otros carnívoros. Estas muestras fueron obtenidas de forma oportunista, durante procedimientos preventivos y conservadas a -20°C en tubos de microcentrífuga en el zoológico.

Tamaño de muestra

Se calculó un número de muestras (n) según el total de animales disponibles y las seroprevalencias de toxoplasmosis obtenidas para animales en cautiverio en estudios anteriores (Tabla 1). Considerando que la población de individuos y número de muestras es pequeña, finita y cerrada, se utilizó un nivel de confianza de 95% y un margen de error del 5% (Mateu y Casal, 2003). El tamaño de muestras calculado correspondió a 255 animales totales.

Tabla 1. Tamaño de muestra estimado en relación a la prevalencia reportada por grupos taxonómicos a analizar en el Parque Zoológico Buin Zoo.

GRUPO TAXONOMICO	Nº DE INDIVIDUOS	PREVALENCIA REPORTADA (%)	TAMAÑO DE MUESTRA ESTIMADO (n)
Primates	61	49,2 (Minervino <i>et al.</i> , 2017)	53
Ungulados	161	23,4 (Sedlák y Bártová, 2006)	102
Félidos	27	66,7 (Ullmann <i>et al.</i> , 2010)	25
Otros Carnívoros	130	86,9 (Sedlák y Bártová, 2006)	75

Las muestras fueron transportadas y analizadas en el Laboratorio Centralizado de Investigación Veterinaria (LaCIV) de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. El estudio cuenta con un Certificado de Bioseguridad emitido por la misma Facultad (Anexo 2).

Luego de ordenar las muestras y descartar las que no cumplieran con los criterios de inclusión, se reunieron 335 muestras, 147 correspondientes a carnívoros (37 félidos, de las cuales 6 correspondían a gatos ferales capturados, muestreados y dados en adopción); 109 ungulados (100 cetartiodáctilos y 9 perisodáctilos) y 60 primates. Además, se utilizaron 16 muestras de marsupiales y se incluyeron 3 muestras de roedores.

Análisis serológico

Para determinar la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* en los sueros, se empleó el kit de ELISA comercial ID Screen® Toxoplasmosis Indirect Multi-species (ID VET®, Montpellier, Francia). Este consiste de un ELISA indirecto multi-especie, que permite la detección de anticuerpos en suero, plasma o jugo de carne de músculo de perros, gatos, rumiantes, cerdos y otros mamíferos.

El procedimiento comprende la dilución de 10 µL del control negativo y positivo en 90 µL de diluyente por pocillo (1:10), los cuales se agregaron a 4 pocillos de cada placa utilizada.

En el resto de los pocillos se distribuyeron diluciones 1:10 de las muestras de suero problema, las que se incubaron 45 minutos (± 4) a 25°C (± 5) en una estufa de cultivo.

Posteriormente, cada placa se lavó 3 veces, con aproximadamente 250 μL de solución de lavado, para luego agregar 100 μL de una dilución 1:10 de un anticuerpo secundario multi-especie conjugado a peroxidasa. Las microplacas, fueron incubadas 30 minutos (± 3) a 21°C (± 5), para posteriormente ser lavadas 3 veces con solución de lavado. A continuación, se agregó a cada pocillo 100 μL de solución de revelado, el cual se incubó 15 minutos (± 2) a 21°C (± 5) en oscuridad. Finalmente, se agregó 100 μL de una solución de detención de la reacción a cada pocillo y se leyó en un lector de placas de ELISA (Bio-Rad®, U.S.A.) a una longitud de onda de 450 nm.

Validación operacional de la técnica de ELISA

El ensayo fue validado operacionalmente cuando la absorbancia media del control positivo fue superior a 0,350 ($\text{DO}_{cp} > 0,350$) y el cociente entre las densidades ópticas medias de los controles positivos y negativos fue superior a 3 ($\text{DO}_{cp} / \text{DO}_{cn} > 3$). Esta condición se cumplió para cada placa de ELISA de este estudio. Este resultado indica que los controles positivos y negativos fueron funcionales, sirviendo como un método de validación operacional interno del kit diagnóstico.

Interpretación de los resultados del ELISA

Para interpretar los resultados, se calculó el porcentaje S/P mediante la fórmula:

$$\%S/P = (\text{DO}_{\text{muestra}} - \text{DO}_{cp} / \text{DO}_{cp} - \text{DO}_{cn}) \times 100$$

Donde, *cn*=control negativo, *cp*=control positivo

Si el porcentaje S/P para cada muestra resultó inferior o igual a 40% se consideró negativo. Si fue superior a 40% e inferior a 50% se consideró dudoso, si fue superior o igual a 50% se consideró positivo.

Como quedaron pocos disponibles, los resultados “dudosos” fueron analizados una segunda vez. Los que volvieron a arrojar resultado “dudoso” finalmente fueron clasificados como “negativos”.

Muestras en diferentes años

El banco de muestras de suero del zoológico Buin Zoo cuenta con algunas muestras tomadas en distintos años, para un mismo individuo. Estas muestras fueron analizadas con el objetivo de evaluar seroconversión de animales seronegativos a *T. gondii*, lo que podría indicar posible exposición con el agente dentro del recinto. Un total de 19 individuos fueron evaluados.

Análisis de los resultados

Los resultados de las muestras fueron expresados de manera descriptiva, como porcentajes de muestras positivas sobre el total de muestras analizadas, para un determinado grupo taxonómico (seroprevalencia). Las seroprevalencias obtenidas fueron expresadas en tablas, según orden, familia, especie o subespecie, y se realizó un análisis de χ^2 de Pearson y prueba exacta de Fisher para analizar la relación entre la positividad obtenida por cada grupo y distintas variables, siendo considerado estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Seroprevalencia

De un total de 335 muestras analizadas, 73 (21,8%) resultaron positivas a la presencia de anticuerpos contra *T. gondii*. De estas 335 muestras, 41 (56,16%) pertenecieron a carnívoros, 22 (31,51%) a cetartiodáctilos y 9 (12,33%) a primates. En los grupos de marsupiales (*M. rufus*, *Macropus rufogriseus*) y roedores (*Hystrix cristata*) no se encontraron muestras positivas. Estos datos se ordenaron según grupo taxonómico en las Tablas 2-4. En el orden Carnivora, la seroprevalencia fue de un 27,9%. Las familias con las seroprevalencias más alta correspondieron a: Ursidae con un 100% y Felidae con un 43,2%. En el grupo de los félicos, seis muestras provenientes de gatos ferales fueron analizadas. De ellas, una muestra (16,7%) resultó positiva. En el grupo de los ungulados, la seroprevalencia fue de un 21,1% y de estas, las familias con las seroprevalencias más altas correspondieron a Camelidae, con 50% de muestras positivas y Cervidae, con un 30,4%. Entre los primates, se obtuvo una seroprevalencia de 15%, siendo las familias Hominidae e Hylobatidae las que obtuvieron las mayores seroprevalencias, con un 100% y 50%, respectivamente.

Tabla 2. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en mamíferos de distintas familias pertenecientes al orden Carnivora en el Parque Zoológico Buin Zoo.

FAMILIA	NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	POSITIVOS / TOTAL EXAMINADOS	%
Canidae			18/69	26
	<i>Canis lupus lupus</i>	Lobo europeo	8/18	44,4
	<i>Chrysocyon brachyurus</i>	Lobo de crin	5/12	41,7
	<i>Lycalopex griseus</i>	Zorro chilla	0/2	0
	<i>Lycalopex culpaeus</i>	Zorro culpeo	2/15	13,3
	<i>Lycaon pictus</i>	Licaón	1/1	100
	<i>Vulpes lagopus</i>	Zorro polar	1/3	33,3
	<i>Vulpes vulpes</i>	Zorro rojo	1/18	5
Felidae			16/37	43,2
	<i>Caracal caracal</i>	Caracal	1/1	100
	<i>Felis silvestris catus</i>	Gato doméstico (feral)	1/6	16,7
	<i>Panthera leo</i>	León africano	6/11	54,5
	<i>Panthera tigris</i>	Tigre	2/5	40
	<i>Panthera onca</i>	Jaguar	1/4	25
	<i>Panthera uncia</i>	Leopardo de las nieves	2/2	100
	<i>Puma concolor</i>	Puma	1/3	33,3
	<i>Leopardus guigna</i>	Güiña	1/1	100
	<i>Leopardus pardalis</i>	Ocelote	1/4	25
Procyonidae			1/9	11,1
	<i>Procyon lotor</i>	Mapache	1/6	16,7
	<i>Potos flavus</i>	Kinkajú	0/3	0
Ursidae			4/4	100
	<i>Helarctos malayanus</i>	Oso malayo	3/3	100
	<i>Ursus arctos</i>	Oso pardo	1/1	100
Viverridae			2/8	25
	<i>Genetta genetta</i>	Gineta	2/8	25
TOTAL			41/147	27,9

Tabla 3. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en mamíferos de distintas familias pertenecientes a los órdenes Cetartiodactyla y Perissodactyla (ungulados) en el Parque Zoológico Buin Zoo.

ORDEN	FAMILIA	NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN	POSITIVOS / TOTAL EXAMINADOS	%	
CETARTIODACTYLA	Bovidae			5/56	9	
		<i>Bos primigenius taurus</i>	Bovino	0/2	0	
		<i>Eudorcas thomsonii</i>	Gacela de Thomson	1/24	41,7	
		<i>Ovis orientalis aries</i>	Oveja	0/5	0	
		<i>Ovis orientalis musimon</i>	Muflón	3/20	15	
		<i>Tregelaphus angasii</i>	Antílope niala	1/4	25	
		<i>Tregalephus spekii</i>	Antílope sitatunga	0/1	0	
	Camelidae				10/20	50
		<i>Camelus bactrianus</i>	Camello	1/1	100	
		<i>Lama glama</i>	Llama	3/4	75	
		<i>Lama guanicoe</i>	Guanaco	0/2	0	
		<i>Vicugna pacos</i>	Alpaca	6/13	46,2	
	Cervidae				7/23	30,4
<i>Axis axis</i>		Ciervo axis	1/4	25		
<i>Cervus elaphus</i>		Ciervo rojo	4/5	80		
<i>Dama dama</i>		Ciervo dama	2/14	14,3		
PERISSODACTYLA	Tapiridae			1/5	20	
		<i>Tapirus terrestris</i>	Tapir amazónico	1/5	20	
TOTAL				23/109	21,1	

Tabla 4. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en mamíferos de distintas familias pertenecientes al orden Primates en el Parque Zoológico Buin Zoo.

FAMILIA	NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	POSITIVOS / TOTAL EXAMINADOS	%
Atelidae			2/10	20
	<i>Alouatta caraya</i>	Mono aullador	0/5	0
	<i>Ateles chamek</i>	Mono araña	2/4	50
	<i>Lagothrix lagotricha</i>	Mono barrigudo	0/1	0
Callitrichidae			1/13	7,7
	<i>Saguinus fuscicollis</i>	Titi ensillado	0/1	0
	<i>Saguinus labiatus</i>	Tamarino labiado	0/2	0
	<i>Sanguinus midas</i>	Titi manos doradas	1/6	16,7
	<i>Saguinus oedipus</i>	Titi cabeza algodón	0/4	0
Cebidae			2/13	15,4
	<i>Sapajus apella</i>	Mono caí	2/12	16,7
	<i>Saimiri sciureus</i>	Mono ardilla	0/1	0
Cercopitheciidae			1/16	6,2
	<i>Colobus guereza</i>	Colobo	0/6	0
	<i>Papio hamadryas</i>	Papión sagrado	1/10	10
Hominidae			1/1	100
	<i>Pongo pygmaeus</i>	Orangután	1/1	100
Hylobatidae			1/2	50
	<i>Symphalangus syndactylus</i>	Siamang	1/2	50
Lemuridae			1/5	20
	<i>Lémur catta</i>	Lémur cola anillada	1/5	20
TOTAL			9/60	15

Como ya fue indicado, adicionalmente se analizaron muestras provenientes de un mismo animal, tomadas en distintos períodos de tiempo (diferentes años). Se analizaron 19 animales en esta condición. De ellos, 2 muestra, provenientes de un zorro culpeo (*Lycalopex culpaeus*), resultaron negativas en los años 2015 y 2016, y una muestra resultó positiva el año 2018 (Tabla 5).

Tabla 5. Seropositividad a *Toxoplasma gondii* en muestras seriadas de suero de animales del Parque Zoológico Buin Zoo obtenidas entre 2011-2018.

ANIMAL	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Alpaca	-	n	n	n	-	-	-	-
Gineta A	-	-	n	-	-	-	-	n
Gineta B	-	-	-	-	-	-	n	n
Gineta C	-	-	-	-	-	-	n	n
Guanaco	-	-	-	-	-	-	n	n
Jaguar A	-	-	-	-	-	-	PO	PO
Jaguar B	-	-	-	-	-	-	n	n
León	-	PO	PO	-	-	-	-	-
Lobo europeo	-	-	-	-	-	-	PO	PO
Lobo de crin A	-	-	-	-	PO	PO	-	-
Lobo de crin B	-	-	-	-	PO	-	-	PO
Lobo de crin C	-	-	-	-	-	n	-	n
Mapache A	-	-	PO	-	-	-	-	PO
Mapache B	-	-	n	-	-	-	-	n
Mapache C	-	-	n	-	-	-	-	n
Puma	-	-	PO	-	PO	-	-	-
Titi cabeza algodón	-	-	n	-	-	-	n	-
Zorro culpeo A	-	-	-	-	n	n	-	PO
Zorro culpeo B	-	-	-	-	n	n	n	n

PO = Positivo, n = Negativo, - = No se tomó muestra

Análisis estadístico

Se evaluó la significancia estadística entre las positividades obtenidas en los grupos taxonómicos Carnivora, Ungulata y Primates, aplicando una prueba de χ^2 de *Pearson*. El análisis no arrojó diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,1130$) entre grupos.

En el orden Carnivora, al comparar las positividades de los animales pertenecientes a la familia Felidae (hospederos definitivos e intermediarios) y otros carnívoros (hospederos intermediarios), se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,0240$) entre ellos, utilizando el test exacto de *Fisher*.

El tipo de dieta (carnívora versus herbívora) fue analizada utilizando la misma prueba, encontrando diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,0230$) entre los animales con dieta carnívora en comparación con los herbívoros.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas, al analizar seropositividades según sexo (macho vs. hembra), cercanía a cursos de agua y tipo de exhibición (abierta vs. cerrada) (Tabla 6). Los animales que se encuentran en recintos cerrados se pueden ver en el Anexo 3 y los que se ubican cerca del curso de agua en el Anexo 4.

Tabla 6. Diferencias en la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en animales del Parque Zoológico Buin Zoo según grupo taxonómico, sexo, dieta, cercanía a cursos de agua y tipo de exhibición.

CRITERIO	Positivos	Analizados	Seroprevalencia	P
Grupo taxonómico				$p = 0,11$
Carnívora	41	147	27,9%	
Ungulata	23	109	21,1%	
Primates	9	60	15%	
Félidos - Otros carnívoros^a				$p = 0,02$
Félidos	16	37	43,2%	
Otros carnívoros	25	110	22,7%	
Sexo				$p = 0,32$
Machos	26	121	21,5%	
Hembras	42	156	26,9%	
Dieta^a				$p = 0,02$
Carnívoros	41	147	27,9%	
Herbívoros	32	188	17%	
Cercanía a cursos de agua				$p = 0,77$
Si	34	126	26,9%	
No	38	203	18,7%	
Tipo de exhibición				$p = 0,11$
Cerrada	8	59	13,6%	
Abierta	64	270	23,7%	

^aCriterio con significancia estadística ($P < 0,05$)

DISCUSIÓN

En el presente estudio, se obtuvo un nivel de seroprevalencia (21,8%) menor que en un estudio previo realizado en la misma región geográfica (Gorman *et al.*, 1986), donde la seroprevalencia fue de 27,5%. Este último estudio evaluó un número menor de animales, pertenecientes solo a carnívoros, ungulados y primates, utilizando para ello la prueba de hemaglutinación indirecta, que posee un nivel de sensibilidad y especificidad diferente a la prueba de ELISA utilizada en el presente estudio. Para estudios internacionales realizados en zoológicos, las seroprevalencias obtenidas fueron mayores. En un trabajo realizado en Rumania, con el mismo kit de ELISA utilizado en el presente estudio, se obtuvo una seroprevalencia de 69,6% sin embargo, este estudio analizó tan solo 23 individuos (Dărăbuș *et al.*, 2014). Otro estudio realizado en Portugal, analizó 43 mamíferos de 2 zoológicos, obteniendo un 57,1% de seroprevalencia mediante técnica de aglutinación modificada (Tidy *et al.*, 2017). En México, analizando 163 mamíferos de 3 zoológicos mediante la prueba de aglutinación modificada, se obtuvo una seroprevalencia de 53,3% (Alvarado-Esquivel *et al.*, 2013). En Estados Unidos, un estudio que evaluó 8 zoológicos (263 mamíferos), reportó una seroprevalencia de 33,5%, utilizando la prueba de aglutinación modificada (Camps *et al.*, 2008) y en Brasil, un estudio que analizó 184 mamíferos de 5 recintos, correspondientes a un criadero y 4 zoológicos, obtuvo una seroprevalencia de 33,2%, con la misma prueba (Minervino *et al.*, 2010). Otro estudio realizado en República Checa y Eslovaquia, evaluó 556 mamíferos provenientes de 13 zoológicos y 4 criaderos, obteniendo un 24,7% de seroprevalencia mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta (Sedlák y Bártová, 2006) y otro estudio realizado posteriormente, que analizó 969 mamíferos provenientes de 8 zoológicos, mostró una seroprevalencia de 33%, utilizando la prueba de aglutinación en látex (Bártová *et al.*, 2018). Si bien se utilizaron pruebas inmunológicas distintas, se describe que el test de ELISA utilizado en este estudio es útil para analizar muestras de fauna silvestre, al igual que la prueba de aglutinación directa (Kornacka *et al.*, 2016). Es probable que las diferencias obtenidas entre estudios, se deban, entre varios factores, a una diferencia en el número de individuos analizados en el estudio (tamaño de muestra), proporción de carnívoros, ungulados, primates y otros mamíferos incluidos, y a la técnica de diagnóstico escogida. Además, se debe considerar que las medidas sanitarias, manejo de los alimentos que reciben los animales, infraestructura de los recintos y exhibiciones, y las condiciones

ambientales pueden variar entre zoológicos, países y años, lo que puede influenciar las seroprevalencias obtenidas (Yan *et al.*, 2016; Smallbone *et al.*, 2017).

Al comparar los resultados de estudios previos, existe coincidencia en la mayor seroprevalencia en grupos de animales con dieta carnívora. Considerando este hecho, el manejo de la carne que se entrega para alimentación podría ser un factor crucial para evitar infecciones dentro de este grupo. El zoológico al que pertenecen los animales de este estudio cuenta con un centro de nutrición animal encargado de la formulación y manejo de los alimentos. La carne que se les provee a los animales es conservada en una cámara a una temperatura de -6°C por un periodo máximo de un mes. Esto podría explicar, en parte, la baja seroprevalencia obtenida en el orden Carnívora (27,9%), al comparar con otros estudios en los que fluctúa entre el 58,5-89,7% (Sedlák y Bártoová, 2006; Hill *et al.*, 2008; André *et al.*, 2010; Alvarado-Esquivel *et al.*, 2013; Tidy *et al.*, 2017; Bártoová *et al.*, 2018). En un estudio similar realizado en el “Zoológico Nacional de Santiago” (Gorman *et al.*, 1986), se obtuvo un 46,6% de seroprevalencia para mamíferos de este orden. Este resultado es más cercano a lo obtenido en estudios internacionales.

Si bien la temperatura a la que se congela la carne es mayor a la recomendada para destruir quistes tisulares, el periodo al cual se someten a esta condición podría facilitar su inactivación (Dubey, 2010). Considerando que los mamíferos del orden Carnívora fueron el grupo con mayor número de individuos analizados, esto explicaría la baja seroprevalencia para los mamíferos de este estudio.

Específicamente para la familia Felidae, quienes son hospederos definitivos de *T. gondii*, este estudio obtuvo una seroprevalencia de 43,2%, en contraste con otros estudios internacionales donde se obtuvieron seroprevalencias que fluctúan entre 36,2 y 92,7% (Sedlák y Bártoová, 2006; Camps *et al.*, 2008; Hill *et al.*, 2008; André *et al.*, 2010; Ullmann *et al.*, 2010; Alvarado-Esquivel *et al.*, 2013; Bártoová *et al.*, 2018). Esta variabilidad puede deberse, en parte, a los mismos factores mencionados anteriormente. Si bien se mencionó que las diferencias de seroprevalencia podrían ser explicadas por varios factores, en el caso de mamíferos del orden Carnívora, y dentro de este, en la familia Felidae, un factor importante que podría influir en la variabilidad de las seroprevalencias obtenidas es el manejo de la carne que se entrega como alimento. Factores como el congelamiento previo de la carne a una

temperatura y tiempo adecuados, podría destruir posibles quistes tisulares, ya que animales alimentados con carne cruda, no debidamente congelada, pueden tener mayores seroprevalencias (Silva *et al.*, 2007). Esto es más relevante cuando la carne proviene de animales con un tipo de crianza al aire libre y, por ende, en mayor contacto con suelo contaminado con ooquistes infectantes (Tenter *et al.*, 2000; Rajendran *et al.*, 2012; Tilahun *et al.*, 2013). Otro factor relevante a considerar, es el ingreso de animales externos al recinto, que puedan ser consumidos por los animales de las colecciones (Hill *et al.*, 2008). Este es un factor complicado de controlar en recintos con exhibición de tipo abierta como ocurre en el Parque Zoológico Buin Zoo, ya que roedores y aves podrían ingresar y ser depredados. Si bien los recintos cuentan con un sistema de control de plagas, este control podría no impedir del todo el ingreso de animales considerados presas.

En cuanto a los ungulados, este estudio obtuvo una seroprevalencia de 21,1%, valor similar al estudio previo realizado en Chile (Gorman *et al.*, 1986), donde se obtuvo una seroprevalencia de 25,2%. Las seroprevalencias obtenidas en estudios internacionales fluctúan entre un 15,6 y 76,5% (Sedlák y Bártová, 2006; Alvarado-Esquivel *et al.*, 2013; Morikawa *et al.*, 2014; Zimpel *et al.*, 2015; Bártová *et al.*, 2017; Bártová *et al.*, 2018). Este grupo corresponde a animales que consumen principalmente forraje como heno, paja y también granos, los cuales podría estar contaminados con ooquistes de *T. gondii*, por lo que el origen de este forraje y las condiciones de bioseguridad de los predios (acceso a animales), podría determinar la calidad sanitaria de estos alimentos (Tenter *et al.*, 2000). Además, la presencia de cursos de agua cercanos a las exhibiciones o el ingreso de gatos al recinto también pueden ser fuentes de ooquistes infectantes, contaminantes del alimento (Jones y Dubey, 2010).

Un hecho importante es la presencia de anticuerpos anti-*T. gondii* en un mono araña peruano (*Ateles chamek*) y un siamang (*Symphalangus syndactylus*). En la literatura, no existen reportes de la presencia de anticuerpos anti-*T. gondii* en estas especies, constituyendo este el primer reporte. Los primates, en general, tuvieron una seroprevalencia de 15%, valor menor, aunque cercano al obtenido por el estudio de Gorman *et al.*, (1986) (22,5%). Estudios realizados en Brasil, Portugal y República Checa más Eslovaquia obtuvieron seroprevalencias más altas para este orden, que fluctúan entre el 27,7 y 82,8% (Sedlák y

Bártová, 2006; Bouer *et al.*, 2010; Minervino *et al.*, 2010; Ferreira *et al.*, 2015; Minervino *et al.*, 2017; Tidy *et al.*, 2017; Bártová *et al.*, 2018). Un trabajo en Estados Unidos obtuvo un resultado menor al obtenido en este estudio, con una seroprevalencia de 8,2% de los primates estudiados (Camps *et al.*, 2008). Estas diferencias se podrían explicar, por el tamaño variable de muestras analizadas en cada estudio, la región de procedencia, tipo de recinto, entre otros. Además, se debe considerar que actualmente, los recintos de primates, en especial de lémures y primates del nuevo mundo, son ubicados de manera más aislada y de más difícil acceso para gatos ferales (recintos cerrados o en altura). Este hecho podría explicar la baja seroprevalencia obtenida en estudios más recientes. Otra posible causa es que, algunas especies al ser susceptibles a toxoplasmosis fatales, al momento de la infección desarrollan enfermedad aguda y mueren antes de producir anticuerpos pesquisables (Camps *et al.*, 2008). Así, se detectaron muestras positivas de primates del nuevo mundo (parvorden: Platyrrhini) y lémures (familia: Lemuridae), resaltando que ambas especies son consideradas susceptibles de contraer toxoplasmosis fatales (Dubey, 2010; Lindsay y Dubey, 2014; Minervino *et al.*, 2017). El hallazgo de anticuerpos en este estudio, en las especies *A. chamek*, *Sanguinus midas*, *Sapajus apella* y *Lémur catta*, supone un riesgo de futuras infecciones en individuos seronegativos y mortalidades futuras de especies susceptibles.

Para el orden Rodentia, estudios internacionales han determinado seroprevalencias de 23,4% (Minervino *et al.*, 2010) y 12,5% (Bártová *et al.*, 2018). Sin embargo, otros estudios han informado 0% (Tidy *et al.*, 2017) y 100% (Alvarado-Esquivel *et al.*, 2013), lo cual debe ser interpretado cuidadosamente, ya que el número de muestras analizadas correspondió solo a un ejemplar, situación algo similar a la de este estudio, con solo 3 muestras analizadas. Recientemente, se detectó mediante histopatología un caso de toxoplasmosis fatal en una mara patagónica (*D. patagonum*) (Díaz-Ayala *et al.*, 2016). Sin embargo, para este estudio no se contaba con muestras de suero de esta especie.

La seroprevalencia para los marsupiales, específicamente marsupiales australianos, en estudios internacionales ha sido de 63,3% (Camps *et al.*, 2008), 50% (Tidy *et al.*, 2017) y 28,6% (Bártová *et al.*, 2018). En el presente estudio se obtuvo una seroprevalencia de 0% en 16 muestras analizadas. Sin embargo, se ha diagnosticado por histopatología un caso de toxoplasmosis en un canguro rojo (*M. rufus*) (Díaz-Ayala *et al.*, 2016). Al igual como se

describió anteriormente, una posible causa podría ser la mortalidad ocasionada por el agente en etapas tempranas de infección, sin el desarrollo de concentraciones de anticuerpos detectables contra el parásito (Bettioli *et al.*, 2000b; Dubey y Crutchley, 2008; Guthrie *et al.*, 2017). Este tipo de situación puede también ocurrir en otros animales, sin embargo, los marsupiales australianos, se consideran especies altamente susceptibles a padecer toxoplasmosis fatal (Quirk y Dubey, 2008; Dubey, 2010; Portas, 2010; Lindsay y Dubey, 2014).

El banco de muestras del Zoológico Buin Zoo posee 19 ejemplares, de distintas especies, muestreados longitudinalmente. Estas muestras obtenidas entre los años 2011 y 2018 fueron sometidas a análisis, encontrando seroconversión (Tabla 5), pasando de ser seronegativo en los años 2015 y 2016 a seropositivo en 2018. Este animal correspondió a un zorro culpeo (*L. culpaeus*), el cual probablemente se expuso al agente en las dependencias del zoológico. Un estudio realizado en República Checa utilizando el mismo kit de ELISA para analizar muestras en diferentes tiempos, demostró que, el estatus inmunológico de los animales negativos, por lo general, no presenta seroconversión, y los animales seropositivos no cambian su estatus en muestras más recientes (Bártová *et al.*, 2017).

Si bien, no hubo diferencias estadísticas entre los distintos grupos taxonómicos (órdenes), si se observó una tendencia a presentar mayores seroprevalencias en mamíferos del orden Carnivora. Esto es concordante con la mayoría de los estudios citados en esta investigación. Por otro lado, se observó diferencias estadísticamente significativas al evaluar el tipo de dieta, siendo más altas las positivities de los animales carnívoros. Esto es concordante con los resultados obtenidos en un estudio realizado en República Checa (Bártová *et al.*, 2018).

En el orden Carnivora, los félidos tuvieron frecuencias de positivities estadísticamente superiores a los otros carnívoros. Esto puede estar relacionado con la existencia de quistes tisulares con bradizoitos en la carne, los cuales, al ser consumidos por félidos, tienen un mayor éxito de infección y un menor periodo de prepatencia, dado que el bradizoito tiene una mayor resistencia a enzimas digestivas y al pH ácido que el ooquistes, y más aún que el taquizoito (Dubey, 2014). También se ha reportado que los animales que se alimentan con carne cruda sin congelar, congelada por periodos de tiempo cortos, o los que se alimentan con animales eutanasiados o atropellados (animales externos), tienen un riesgo mayor a

infectarse (Silva *et al.*, 2007). Además, se debe sumar a esto, el riesgo de que carnívoros atrapen y consuman animales externos que ingresen a sus recintos (roedores, aves y/o gatos), los cuales podrían mantener quistes tisulares de *T. gondii* (Silva *et al.*, 2007; Hill *et al.*, 2008). Este hecho se ve reafirmado por la presencia de anticuerpos en una muestra de gato feral tomada en el zoológico.

A su vez, los félidos actúan como hospedero definitivo del protozoo, los cuales al infectarse por primera vez o presentar inmunosupresión (Cañón-Franco *et al.*, 2013), excretan ooquistes al medio ambiente, los cuales pueden infectar a otros individuos, especialmente si conviven en grupos compartiendo el mismo recinto (Silva *et al.*, 2007).

A pesar de que en esta investigación no se observó una asociación estadísticamente significativa entre el tipo de exhibición y la positividad al agente, sí se observa una tendencia a tener mayor positividad en los animales que están en exhibiciones abiertas. Esto concuerda con un estudio previo en que se observaron diferencias significativas entre estas dos variables (Camps *et al.*, 2008). Las exhibiciones abiertas son más susceptibles a factores ambientales como presencia de polvo, exposición al viento, agua de lluvia o arroyos y el ingreso de animales u objetos externo, lo que se relaciona con una mayor probabilidad de infección, especialmente por la ingestión de ooquistes.

Si bien el sexo suele ser un factor no relacionado con la seroprevalencia, un estudio previo mostró ser mayor en las hembras (Alvarado-Esquivel *et al.*, 2013). El presente estudio no encontró diferencias entre sexos y nivel de positividad. Sin embargo, tomando en cuenta la transmisión congénita de este agente, considerar el sexo de los animales expuestos es relevante, especialmente en etapa de gestación, ya que *T. gondii* puede provocar alteraciones congénitas y neonatales (Dubey, 2010; Lindsay y Dubey, 2014).

También se evaluó la relación entre positividad y cercanía a un curso de agua en los recintos (Anexo 4), ya que la presencia de fuentes de agua contaminada con ooquistes pueden incrementar el riesgo de infección por *T. gondii* (Jones y Dubey, 2010). Sin embargo, no se encontró relación estadísticamente significativa.

En este estudio no se evaluó el estatus inmunológico de los trabajadores del zoológico contra *T. gondii*. Sería interesante evaluar si los trabajadores presentan anticuerpos contra este protozoo, especialmente los asociados a los manejos de félidos, donde podrían estar

expuestos al agente dentro de los recintos (Stirling *et al.*, 2007; Forsyth *et al.*, 2012). Esto fue considerado en el estudio previo de Gorman *et al.*, (1986), donde 6 de 13 trabajadores fueron seropositivos.

CONCLUSIÓN

La presente Memoria de Título detectó seroprevalencia a *T. gondii* en un zoológico de la Región Metropolitana. La seroprevalencia obtenida fue más baja que la detectada en estudios previos realizados en Chile e internacionalmente. Este nivel fue, además, más bajo en todos los grupos taxonómicos evaluados, excepto en ungulados. Sin embargo, al comparar distintas familias dentro de un orden, la seroprevalencia es más alta entre los félidos, y entre los animales que tienen dieta carnívora.

Además, se evidenció seroconversión en muestras de un zorro culpeo (*L. culpaeus*) tomadas longitudinalmente, lo que se podría interpretar como una posible exposición e infección con *T. gondii* dentro del zoológico.

Por otro lado, en este trabajo, se evidenció por primera vez, seropositividad a *T. gondii*, en un mono araña peruano (*A. chamek*) y un siamang (*S. syndactylus*).

Tomando en cuenta estos hallazgos, que existen anticuerpos para *T. gondii* en animales de zoológico, se concluye que podrían haber sido expuestos en vida libre o dentro del recinto al agente. Esta exposición podría ser más frecuente en animales que consumen carne y en el hospedero definitivo, que son los félidos.

BIBLIOGRAFÍA

ALVARO-ESQUIVEL, C.; GAYOSSO-DOMINGUEZ, E.A.; VILLENA, I.; DUBEY, J.P. 2013. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in captive mammals in three zoos in Mexico city, Mexico. *J Zoo Wildl Med.* 44(3):803-806.

ANDRÉ, M.R.; ADANIA, C.H.; TEIXEIRA, R.H.; SILVA, K.F.; JUSI, M.M.; MACHADO, S.T.; BORTOLLI, C.P.; FALCADE, M.; SOUSA, L.; ALEGRETTI, S.M.; FELIPPE, P.A.; MACHADO, R.Z. 2010. Antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Captive Neotropical and Exotic Wild Canids and Felids. *J Parasitol.* 96(5):1007-1009.

BARROS, M.; CABEZÓN, O.; DUBEY, J.P.; ALMERÍA, S.; RIBAS, M.P.; ESCOBAR, L.E.; RAMOS, B.; MEDINA-VOGEL, G. 2018. *Toxoplasma gondii* infection in wild mustelids and cats across an urban-rural gradient. *PLoS One.* 13(6): e0199085. 16p.

BÁRTOVÁ, E.; KOBÉDOVÁ, K.; LAMKA, J.; KOTRBA, R.; VODIČKA, R.; SEDLÁK, K. 2017. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in exotic ruminants and camelids in the Czech Republic. *Parasitol Res.* 116(7):1925-1929.

BÁRTOVÁ, E.; LUKÁSOVÁ, R.; VODICKA, R.; JIRÍ, V.; PAVLACIK, L.; BUDÍKOVÁ, M.; SEDLÁK, K. 2018. Epizootological study on *Toxoplasma gondii* in zoo animals in the Czech Republic. *Acta Trop.* 187:222-228.

BETTIOL, S.S.; OBENDORF, D.L.; NOWARKOWSKI, M.; MILSTEIN, T.; GOLDSMID, J.M. 2000a. Earthworms as Paratenic Hosts of Toxoplasmosis in Eastern Barred Bandicoots in Tasmania. *J Wildl Dis.* 36(1):145-148.

BETTIOL, S.S.; OBENDORF, D.L.; NOWARKOWSKI, M.; GOLDSMID, J.M. 2000b. Pathology of Experimental Toxoplasmosis in Eastern Barred Bandicoots in Tasmania. *J Wildl Dis.* 36(1):141-144.

BOUER, A.; WERTHER, K.; MACHADO, R.Z.; NAKAGHI, A.C.; EPIPHANIO, S.; CATÃO-DIAS, J.L. 2010. Detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in experimentally and naturally infected non-human primates by Indirect Fluorescence Assay (IFA) and indirect ELISA. *Rev Bras Parasitol Vet.* 19(1):26-31.

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. *J Parasitol.* 94(3):648-653.

CAÑÓN-FRANCO, W.A.; ARAÚJO, F.A.; GENNARI, S.M. 2013. *Toxoplasma gondii* in small neotropical wild felids. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 50(1):50-67.

DĂRĂBUȘ, G.; AFRENIE, M.; HOTEA, I.; IMRE, M.; MORARIU, S. 2014. Endoparasites in mammals from seven zoological gardens in Romania. *J Zoo Wildl Med.* 45(2):239-246.

DÍAZ-AYALA, N.; HIDALGO-HERMOSO, E.; CABELLO-ARAYA, C.; CARVALLO-CHAIGNEAU, F. 2016. Infection with *Toxoplasma gondii* in a red kangaroo (*Macropus rufus*) and a Patagonian mara (*Dolichotis patagonum*) in captivity. *Braz J Vet Parasitol.* 25(4):523-526.

- DUBEY, J.P.** 2002. A review of toxoplasmosis in wild birds. *Vet Parasitol.* 106(2):121-153.
- DUBEY, J.P.; CRUTCHLEY, C.** 2008. Toxoplasmosis in Wallabies (*Macropus rufogriseus* and *Macropus eugenii*): Blindness, Treatment with Atovaquone, and Isolation of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol.* 94(4):929-933.
- DUBEY, J.P.; JONES, J.L.** 2008. *Toxoplasma gondii* in Humans and Animals in the United States. *Int J Parasitol.* 38(11):1257-1278.
- DUBEY, J.P.** 2010. Toxoplasmosis of Animals and Humans. 2th ed. CRC Press. Nueva York, USA. 338p.
- DUBEY, J.P.** 2014. The History and Life Cycle of *Toxoplasma gondii*. **In:** Weiss, L.M.; Kim, K. *Toxoplasma gondii* The Model Apicomplexa – Perspectives and Methods. 2th ed. Elsevier. U.K. pp. 1-13.
- ELMORE, S.A.; JONES, J.F.; CONRAD, P.A.; PATTON, S.; LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.** 2010. *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspect, and prevention. *Trends Parasitol.* 26(4):190-196.
- FERREIRA, D. R. A.; RIBEIRO, V. O.; LAROQUE, P. O.; WAGNER, P. G. C.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; SILVA, J. C. A.; DUBEY, J. P.; RÊGO, E. W.; MOTA, R. A.** 2015. Risk factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in captive *Sapajus spp.* *Am J Primatol.* 77:558-562.
- FORSYTH, M.B.; MORRIS, A.J.; SINCLAIR, D.A.; PRITCHARD, C.P.** 2012. Investigation of Zoonotic Infections Among Auckland Zoo Staff: 1991-2010. *Zoonoses Public Health.* 59(8):561-567.
- GORMAN, T.R.; RIVEROS, V.; ALCAÍNO, H.A.; SALAS, D.R.; THIERMANN, E.R.** 1986. Helminthiasis and toxoplasmosis among exotic mammals at the Santiago National Zoo. *J Am Vet Med Assoc.* 189(9):1068-70.
- GUTHRIE, A.; ROOKER, L.; TAN, R.; GERHOLD, R.; TRAINOR, K.; JIANG, T.; SU, C.** 2017. Newly Described *Toxoplasma gondii* Strain Causes High Mortality in Red Necked Wallabies (*Macropus rufogriseus*) in a Zoo. *J Zoo Wildl Med.* 48(3): 694–702.
- HILL, N.J.; DUBEY, J.P.; VOGELNEST, L.; POWER, M.L.; DEANE, E.M.** 2008. Do free-ranging common brushtail possums (*Trichosurus vulpecula*) play a role in the transmission of *Toxoplasma gondii* within a zoo environment?. *Vet Parasitol.* 152:202-209.
- JONES, J.L.; DUBEY, J.P.** 2010 Waterborne toxoplasmosis – Recent development. *Exp Parasitol.* 124(1):10-25.
- KORNACKA, A.; CYBULSKA, A.; BIEŃ, J.; GOŹDZIK, K.** 2016. The usefulness of direct agglutination test, enzyme-linked immunosorbent assay and polymerase chain reaction for the detection of *Toxoplasma gondii* in wild animals. *Vet Parasitol.* 228:85-89.
- LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.** 2014. Toxoplasmosis in wild and domestic animals. **In:** Weiss, L.M.; Kim, K. *Toxoplasma gondii* The Model *Apicomplexa* – Perspectives and Methods. 2th ed. Elsevier. U.K. pp. 193-215.

- MASSIE, G.M.; WARE, M.W.; VILLEGAS, E.N.; BLACK, M.W.** 2010. Uptake and transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by migratory, filter-feeding fish. *Vet Parasitol.* 169(3-4):296-303.
- MATEU E, CASAL J.** 2003. Tamaño de la muestra. *Rev. Epidem. Med. Prev.* 1:8-14.
- MCLEOD, R.; TUBBENGER, C.; MONTOYA, J.G.; PETERSEN, E.** 2014. Human *Toxoplasma* Infection. **In:** Weiss, L.M.; Kim, K. *Toxoplasma gondii* The Model *Apicomplexa* – Perspectives and Methods. 2th ed. Elsevier. U.K. pp. 99-159.
- MINERVINO, A.H.; SOARES, H.S.; BARRÊTO-JÚNIOR, R.A.; NEVES, K.A.; PENA, H.F.; ORTOLANI, E.L.; DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M.** 2010. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in captive wild mammals and birds in Brazil. *J Zoo Wildl Med.* 41(3):572-574.
- MINERVINO, A.H.; CASSINELLI, A.B.; DE SOUZA, A.J.; ALVES, M.M.; SOARES, M.D.; FERREIRA, D.C.; PEREIRA, W.L. GENNARI, S.M.** 2017. Detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in captive non-human primates in the Amazon region, Brazil. *J Med Primatol. J Zoo Wildl Med.* 46(6):343-346.
- MORIKAWA, V.M.; ZIMPEL, C.K.; PAPLOSKI, I.A.; SOUZA, M.; VILLALOBOS, E.M.; CAMPOS A.H.; OKUDA, L.H.; BIONDO, A.W.; BARROS, I.R.** 2014. Occurrences of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in barbary sheep at Curitiba zoo, southern Brazil. *Braz J Vet Parasitol.* 23(2):255-259.
- NASIRI, V.; TEYMURZADEH, S.; KARIMI A, G.; NASIRI, M.** 2016. Molecular detection of *Toxoplasma gondii* in snakes. *Exp Parasitol.* 169:102-106.
- PORTAS, T.J.** 2010. Toxoplasmosis in macropodids: a review. *J Zoo Wildl Med.* 41(1):1-6.
- QUIRK, T.; DUBEY, J.P.** 2008. Experimental *Toxoplasma gondii* Infection in Striped Skunk (*Mephitis mephitis*). *J. Parasitol.* 94(3):761–763.
- RAJENDRAN, C.; SU, C.; DUBEY, J.P.** 2012. Molecular genotyping of *Toxoplasma gondii* from Central and South America revealed high diversity within and between populations. *Infect Genet Evol.* 12(2):359-368.
- SANDERS, J.L.; ZHOU, Y.; MOULTON, H.M.; MOULTON, Z.X.; MCLEOD, R.; DUBEY, J.P.; WEISS, L.M.; KENT1, M.L.** 2015. The zebrafish, *Danio rerio*, as a model for *Toxoplasma gondii*: an initial description of infection in fish. *J Fish Dis.* 38(7):675-679.
- SEDLÁK, K.; BÁRTOVÁ, E.** 2006. Seroprevalences of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in zoo animals. *Vet Parasitol.* 136(3-4):223-231.
- SEPÚLVEDA, M.A.; MUÑOZ-ZANZI, C.; ROSENFELD, C.; JARA, R.; PELICAN, K.M.; HILL D.** 2011. *Toxoplasma gondii* in feral American minks at the Maullín river, Chile. *Vet Parasitol.* 175(1-2):60-65.
- SEPÚLVEDA, M.A.; SEGUEL, M.; ALVARADO-RYBAK, M.; VERDUGO, C.; MUÑOZ-ZANZI, C.; TAMAYO, R.** 2015. Postmortem findings in four south American sea lions (*Otaria byronia*) from an urban colony in Valdivia, Chile. *J Wildl Dis.* 51(1):279-82.

- SILVA, J.C.; VIANNA, M.F.; DIAS, R.A.; FERREIRA, F.; AMAKU, M. ADANIA, C.H.; FERREIRA, J.S.** 2007. Risk factors associated with sero-positivity to *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids from Brazil. *Prev Vet Med.* 78(3-4):286-295.
- SMALLBONE, W.A.; CHADWICK, E.A.; FRANCIS, J.; GUY, E.; PERKINS, S.E.; SHERRARD-SMITH, E.1.; 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.
- STIRLING, J.; GRIFFITH, M.; DOOLEY, J.; GOLDSMITH, C.; LOUGHREY, A.; LOWERY, C.; MCCLURG, R.; MCCORRY, K.; MCDOWELL, D.; MCMAHON, A.; MILLAR, C.; RAO, J.; ROONEY, P.; SNELLING, W.; MATSUDA, M.; MOORE, J.** 2007. Zoonoses associated with petting farms and open zoos. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 8(1):85-94.
- TENTER, A.M.; HECKEROTH A.R.; WEISS L.M.** 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol.* 30(12-13):1217-1258
- TIDY, A.; FANGUEIRO, S.; DUBEY, J.P.; CARDOSO, L.; LOPES, A.P.** 2017. Seroepidemiology and risk assessment of *Toxoplasma gondii* infection in captive wild birds and mammals in two zoos in the north of Portugal. *Vet Parasitol.* 235:47-52.
- TILAHUN, G.; TIAO, N.; FERREIRA, L.R.; CHOUDHARY, S.; OLIVEIRA, S.; VERMA, S.K.; KWOK, O.C.H.; MOLLA, B.; SAVILLE, W.J.A.; MEDHIN, G., KASSA, T.; ALEME, H.; GEBREYES, W.A.; SU, C.; DUBEY, J.P.** 2013. Prevalence of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens (*Gallus domesticus*) from Addis Ababa, Ethiopia. *J Parasitol.* 99(4):740-741.
- TORREY, E.F.; YOLKEN R.H.** 2013. *Toxoplasma* oocysts as a public health problem. *Trends Parasitol.* 29(8):380-384.
- ULLMANN, L.S.; DA SILVA, R.C.; DE MORAES, W.; CUBAS, Z.S.; DOS SANTOS, L.C.; HOFFMANN, J.L.; MOREIRA, N.; GUIMARAES, A.M.; MONTAÑO, P.; LANGONI, H.; BIONDO, A.W.** 2010. Serological survey of *Toxoplasma gondii* in captive Neotropical felids from Southern Brazil. *Vet Parasitol.* 172(1-2):144-6.
- WEISS, L.M.; KIM, K.** 2014. *Toxoplasma gondii* the model *Apicomplexa* – perspectives and methods. 2th ed. Elsevier. U.K. 1085p.
- YAN, C.; LIANG, L.; ZHENG, K.; ZHU, X.** 2016. Impact of environmental factors on the emergence, transmission and distribution of *Toxoplasma gondii*. *Parasit Vectors.* 9:137.
- ZIMPEL, C.K.; GRAZZIOTIN, A.L.; BARROS, I.R.; SA, A.M.; DOS SANTOS, L.C.; MORAES, W.; CUBAS, Z.S.; OLIVEIRA, M.J.; PITUCO, E.M.; SOUZA M.; VILLALOBOS, E.M.; SILVA, L.M.; CUNHA, E.M.; CASTRO, V.; BIONDO, A.W.** 2015. Occurrence of antibodies anti -*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Leptospira interrogans* in a captive deer herd in southern Brazil. *Braz J Vet Parasitol.* 24(4):482-487.

ANEXOS

Anexo 1. Objetivos

Objetivo General

Determinar la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* en una población de mamíferos silvestres en cautiverio perteneciente a un parque zoológico de la Región Metropolitana de Santiago de Chile.

Objetivos Específicos

- 1.** Determinar la presencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en muestras de suero de mamíferos en cautiverio en un parque zoológico de la Región Metropolitana de Santiago de Chile.
- 2.** Determinar la seroprevalencia de *T. gondii* según grupos taxonómicos en un parque zoológico de la Región Metropolitana de Santiago de Chile.

Anexo 2. Certificado de bioseguridad.



CERTIFICADO N° 123

Santiago, 31, agosto, 2018

El Comité de Bioseguridad de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, ha revisado el proyecto de memoria de título del alumno Sr. Raúl Muñoz Quijano, titulado "Detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en mamíferos en cautiverio de un zoológico de la Región Metropolitana", cuya profesora guía es la Dra. Galia Ramirez, académico de FAVET

El proyecto cumple las normas de bioseguridad que se encuentran descritas en el mismo y en el formulario de solicitud de certificados de bioseguridad de FAVET, y que son las adecuadas según las especificaciones contenidas en el "Manual de Bioseguridad en el Laboratorio, de la Organización Mundial de la Salud (versión 2005)" y en el "Manual de Bioseguridad de Conicyt" (versión 2008), que previenen los riesgos para las personas, los animales y el medioambiente.

DRA. LISETTE LAPIERRE A.

Coordinadora
Comité de Bioseguridad
FAVET

Anexo 3. Especies animales según órdenes ubicadas en exhibiciones cerradas en el Parque Zoológico Buin Zoo.

ORDEN	ESPECIE
Carnívoros	Caracal (<i>Caracal caracal</i>)
	Gineta (<i>Genetta genetta</i>)
	Güiña (<i>Leopardu guigna</i>)
	Kinkaju (<i>Potos flavus</i>)
	Mapache (<i>Procyon lotor</i>)
	Mofeta (<i>Mephitis mephitis</i>)
	Ocelote (<i>Leopardus pardalis</i>)
	Quique (<i>Galictis cuja</i>)
	Zorro chilla (<i>Lycalopex griseus</i>)
	Zorro polar (<i>Vulpes lagopus</i>)
	Zorro rojo (<i>Vulpes vulpes</i>)
Roedores	Puercoespín (<i>Hystrix cristata</i>)

Anexo 4. Mapa satelital del “Parque Zoologico Buin Zoo” con sus límites (línea blanca), cursos de aguas fluviales de regadío (línea celeste) y especies animales ubicadas alrededor de este curso (CA=Camello Bactriano, TI=Tigre de Bengala, OB=Orangutan de Borneo, BO=Bovino, OS=Oveja de Somalia, CI=Ciervos, OM=Oso Malayo, LO=Lobo Europeo, MA=Marsupiales Australianos, ZC=Zorro Culpeo, PU=Puma, LE=Leon Africano, CE=Cebra, SI=Antilope Sitatunga).

