

# Artículos científicos

## Sanidad Animal

---

### Ausencia de evidencia molecular de *Toxoplasma gondii* en cerebros de roedores capturados en Yucatán, México

### No molecular evidence of *Toxoplasma gondii* in brains of rodents captured in Yucatan, Mexico

---

Marco A. Torres, M. en C.<sup>1\*</sup>; Demetrio N. Medina, Br<sup>1</sup>; Jesús A. Panti, M. en C.<sup>2</sup>; Silvia F. Hernández, Dr.<sup>3</sup>; Henry R. Noh, Ing.<sup>1</sup>; Fernando I. Puerto, M. en C.<sup>1</sup>

#### Resumen

*Toxoplasma gondii* es un parásito obligado reconocido como el agente etiológico de la toxoplasmosis, enfermedad zoonótica distribuida a nivel mundial, incluyendo México. La toxoplasmosis presenta ciclos de infección silvestres y domésticos, en los cuales participan diversos animales, entre ellos los roedores. El objetivo del presente estudio fue evaluar, con ayuda de una prueba diagnóstica molecular, la presencia de *T. gondii* en cerebros de roedores sinantrópicos y silvestres capturados en comunidades rurales y urbanas de Yucatán, México. Se capturaron un total de 228 roedores pertenecientes a las especies: *Mus musculus*, *Rattus rattus*, *Heteromys gaumeri* y *Peromyscus yucatanicus*. La detección de *T. gondii* se intentó a través de la prueba molecular de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en su variante punto final. El porcentaje de infección en cerebros de roedores fue nulo (0%; 0/228); no obstante, nuestros resultados no excluyen la presencia de *T. gondii* en roedores de la región y se hace necesario la evaluación de otros órganos donde el parásito puede alojarse y generar infecciones crónicas.

**Palabras clave:** México, roedores sinantrópicos y silvestres, *Toxoplasma gondii*, Yucatán

#### Abstract

*Toxoplasma gondii* is an obligate intracellular parasite recognized as the etiologic agent of toxoplasmosis, a zoonotic disease distributed worldwide, including Mexico. Toxoplasmosis presents wild and domestic infection cycles, in which various animals including rodents are involved. The aim of this study was to evaluate, with a molecular diagnosis test, the presence of *T. gondii* in brains of synanthropic and wild rodents captured in urban and rural communities of Yucatan, Mexico. A total of 228 rodents belonging to the species: *Mus musculus*, *Rattus rattus*, *Heteromys gaumeri* and *Peromyscus yucatanicus*, were caught. Detection of *T. gondii* was using the Polymerase Chain Reaction (PCR) in its end-point variant. The infection rate of rodent's brain was null (0%; 0/228); however, our results do not exclude the presence of *T. gondii* in rodents of this region, and a thorough evaluation of other rodent tissues where the parasite may reside and induce chronic infections is needed.

**Keywords:** Mexico, synanthropic and wild rodents, *Toxoplasma gondii*, Yucatan

---

<sup>1</sup>Laboratorio de Enfermedades Emergentes y Reemergentes, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi", Universidad Autónoma de Yucatán.

<sup>2</sup>Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Autónoma de Yucatán.

<sup>3</sup>Departamento de Zoología, Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Autónoma de Yucatán.

\*Autor de correspondencia: Marco A. Torres. Avenida Itzáes, No. 490, por calle 59, Col. Centro. C.P. 97000, Mérida, México. Tel: (999) 9245809, 9245755, Fax: (999) 9236120; antonio.torres@correo.uady.mx

## Introducción

La toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria de distribución mundial ocasionada por el protozooario *Toxoplasma gondii*. Este parásito intracelular tiene la capacidad de infectar animales de sangre caliente, incluidos seres humanos, mamíferos marinos y aves (Innes, 2010). Gatos domésticos y otros felinos

son los únicos hospederos definitivos conocidos de *T. gondii* por lo que pueden excretar al ambiente ooquistes resistentes contenidos en sus heces, completando el ciclo del parásito (Weiss & Dubey, 2009).

Las infecciones causadas por *T. gondii* se presentan de manera crónica en un tercio de la población humana mundial con seroprevalencias que van del 10 al 50% en regiones templadas de países desarrollados y aumenta hasta un 80% en climas tropicales (Dubey & Jones, 2008). Las fuentes más frecuentes de infección son el consumo de carne poco cocida conteniendo quistes tisulares o de agua u otros alimentos contaminados. Asimismo, ocasionalmente la infección puede darse por la ingestión accidental de ooquistes ambientales (Robert-Gangneux & Dardé, 2012) y por la vía congénita (Rico-Torres et al., 2012).

*Toxoplasma gondii* posee ciclos de infección domésticos y silvestres. En el primero participan los seres humanos y diversos animales domésticos, por lo que están mejor documentados; a diferencia del segundo, donde la información sobre las especies animales involucradas y las implicaciones en la salud pública, es muy limitada (Wendte et al., 2011). Los roedores silvestres y sinantrópicos participan en ambos ciclos de infección, debido a que representan fuentes de alimentación para gatos domésticos y silvestres, además de diversos predadores. Igualmente, los roedores son considerados como centinelas de la circulación de *T. gondii* y otros patógenos en el ambiente, lo que permite estimar el riesgo de infección para los hospederos definitivos (Reperant et al., 2009).

México es uno de los países desarrollados donde la toxoplasmosis es prevalente en animales y seres humanos, debido principalmente a la alta contaminación ambiental (Hernández-Cortazar et al., 2015). Las fuentes de infección varían entre los grupos étnicos y la localización geográfica dentro del territorio nacional (Tenter et al., 2000). En el Estado de Yucatán, la toxoplasmosis ha sido reportada en seres humanos y animales domésticos, evidenciando la amplia circulación de *T. gondii* en la región (Hernández-Cortazar et al., 2015); sin embargo, poco se sabe de su circulación en especies sinantrópicas o silvestres (Torres-Castro et al., 2016).

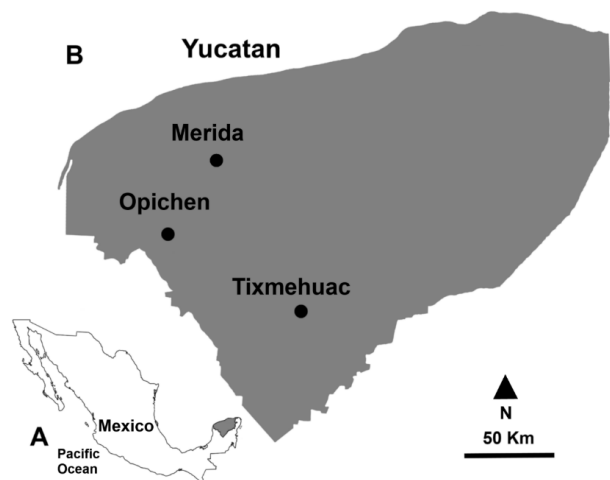
El objetivo del presente estudio fue evaluar, con ayuda de una prueba diagnóstica molecular, la presencia de *T. gondii* en cerebros de roedores

sinantrópicos y silvestres capturados en comunidades rurales y urbanas de Yucatán, México.

## Materiales y Métodos

### Sitios de estudio

Los roedores se capturaron con trampas "Sherman" (7.5cm x 23cm x 9cm, HB Sherman Traps Inc®, EE.UU.), colocadas en el peridomicilio de viviendas en dos comunidades rurales y una urbana de Yucatán, México (Figura 1). Las comunidades estudiadas comparten un clima tropical húmedo con lluvias en verano (Aw 0), con una temperatura promedio anual de 26° C. El tipo de vegetación predominante es selva baja caducifolia y el uso de suelo es principalmente para actividades agropecuarias y de modo secundario para asentamientos humanos, a excepción de la Ciudad de Mérida donde las actividades agropecuarias están limitadas a la periferia del territorio (INEGI, 2010). El periodo de muestreo fue de mayo a noviembre de 2014. En todas las localidades existen grandes poblaciones de gatos domésticos que viven generalmente en las afueras de los hogares, pero que ocasionalmente ingresan a las viviendas.



**Figura 1.** Mapa de México (A) mostrando la ubicación de Yucatán (B) con las comunidades donde se realizó la captura de roedores (puntos negros). Tomado de: Torres-Castro et al., 2016.

### Captura y toma de muestras

La captura de animales se realizó con el permiso de la Secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales (SEMARNAT) de México (Registro SGPA/DGVS/02528/13) y siguiendo los estatutos

de la *American Society of Mammalogists* (ASM). Los individuos capturados fueron trasladados al Laboratorio de Zoología del Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CCBA) de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY), donde se les registraron las medidas morfométricas correspondientes y posteriormente se sacrificaron con una sobredosis (390mg/mL) de pentobarbital sódico vía intraperitoneal. La cavidad craneana fue abierta con ayuda de tijeras y pinzas de disección estériles. El cerebro se dividió verticalmente en dos hemisferios (derecho e izquierdo), uno de ellos se embebió en solución RNAlater® (Thermo Fisher Scientific Inc., EE.UU.) y el otro fue fragmentado en dos partes de aproximadamente 400 µg. Una de estas partes fue macerada con morteros y pistilos previamente esterilizados y embebida en 500 µL de RNAlater®. Todos los fragmentos fueron conservados a -70°C, hasta su uso en la extracción de ADN. El material encefálico restante se empleó en investigaciones distintas a la presente.

### Extracción de ADN y Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Para la extracción de ADN total, se utilizó el fragmento de hemisferio macerado. Se tomaron 100 µl y se procesaron con la solución TRIzol® Reagent (Ambion, Thermo Fisher Scientific Inc®, EE.UU.), siguiendo las especificaciones del fabricante. Se determinó la concentración y pureza de los ácidos nucleicos por medio de un espectrofotómetro (NanoDrop 2000TM, Thermo Scientific®, EE.UU.).

La detección molecular se realizó por medio de PCR en su variante punto final utilizando los cebadores propuestos por Boughattas et al. (2014): B22: AACGGGCGAGTAGCACCTGAGGAGA y B23: TGGGCTACGTCGATGGCATGACAAC,

los cuales amplifican un fragmento de 114pb que se repite en tándem dentro del cromosoma IX de *T. gondii*. Estos cebadores fueron empleados previamente por Torres-Castro et al. (2016), en la identificación molecular de *T. gondii* en animales silvestres capturados en la misma región.

Los reactivos utilizados tuvieron las siguientes concentraciones finales: PCR Buffer 1X, 2.5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM de dNTP's, 0.2 mM de cada cebador, 1U de Taq polimerasa (Thermo Fisher Scientific, Inc., EE.UU.) y agua bidestilada. Las condiciones en el termociclador fueron: desnaturalización inicial a 95° C por cinco minutos, seguida de 35 ciclos durante 95° C por un minuto, 58° C por 45 segundos y 72° C por 45 segundos; la extensión final fue de 72° C durante 10 minutos. Todas las reacciones incluyeron controles positivos (ADN total de cerebro de roedor [BALB/c] infectado experimentalmente con *Toxoplasma gondii*) y negativo (agua estéril). La electroforesis de los productos de PCR se realizó en geles de poliacrilamida al 8%, teñidos con nitrato de plata (1.1M).

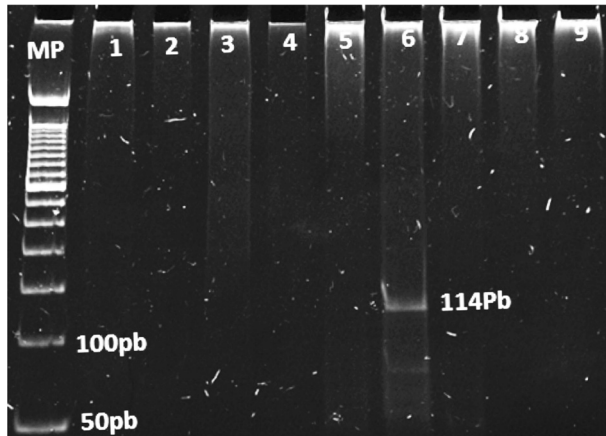
### Resultados y discusión

Se capturaron un total de 228 individuos. Como se muestra en la Tabla 1, las especies capturadas fueron: *Mus musculus* y *Rattus rattus* (sinantrópicos) y *Heteromys gaumeri* y *Peromyscus yucatanicus* (silvestres). La especie con mayor número de individuos capturados fue *M. musculus* (67.9%; 155/228), mientras que las especies con menor captura fueron *H. gaumeri* y *P. yucatanicus* (0.8%; 2/228). El mayor número de individuos capturados se presentó en la ciudad de Mérida (60.9%; 139/228), mientras que el menor se obtuvo en la comunidad rural de Tixméhuac (10.9%; 25/228).

**Tabla 1.** Especies y número de individuos capturados por sitio de estudio.

Sitio de estudio	Especies				Total
	<i>Mus musculus</i>	<i>Rattus rattus</i>	<i>Heteromys gaumeri</i>	<i>Peromyscus yucatanicus</i>	
Tixméhuac	14	10	1		25
Opichén	50	13	1		64
Mérida	91	46		2	139
Total	155	69	2	2	228

La identificación molecular de *T. gondii* en los cerebros, conducida por PCR-punto final, arrojó resultados negativos (0%; 0/228) en todos los individuos considerados en nuestro estudio. En la Figura 2, se muestra un gel de poliacrilamida con algunas muestras negativas y el control positivo.



**Figura 2.** Gel representativo de poliacrilamida al 8%, teñido con nitrato de plata. MP: Marcador de peso molecular (50pb); carriles: 1, 2, 3, 4, 5, 7 y 8: muestras negativas; carril 6: control positivo de *T. gondii* (114pb); carril 9: control negativo

Los roedores representan el más abundante y diverso orden de mamíferos y tienen una participación activa en la ecología de la cadena alimenticia y la transmisión de múltiples parásitos y otros patógenos a seres humanos y animales domésticos o silvestres. Estos mamíferos están ampliamente distribuidos en la Península de Yucatán, principalmente *M. musculus*, *R. rattus* y *P. Yucatanicus* (Hernández-Betancourt et al., 2012; Panti-May et al., 2012; Panti-May et al., 2016). Dichas especies han sido identificadas en distintos estudios como reservorios de agentes patógenos zoonóticos tales como *Leptospira* spp. (Torres-Castro et al., 2014), *Rickettsia felis* (Panti-May et al., 2015), *R. typhi* (Peniche-Lara et al., 2015), *Trypanosoma cruzi* (Zavala-Velázquez et al., 1996), Flavivirus (Cigarroa-Toledo et al., 2016); entre otros; por lo que su relevancia en los ciclos de infección de enfermedades zoonóticas circulantes en la región es evidente.

La información generada en México sobre la participación de los roedores sinantrópicos en el ciclo de infección de *T. gondii* es limitada y escasa. Existen estudios serológicos realizados en el Estado de Durango por Dubey et al. (2009), que reportan seroprevalencias de 0.8% para ratones y 3.1% para ratas, capturadas en un área urbana. Asimismo,

Roch & Varela (1996), reportan la circulación de anticuerpos contra *T. gondii* de 36.3% en 350 ratas capturadas en la Ciudad de México. En lo referente a roedores silvestres, el estudio de corte serológico realizado por Rendón-Franco et al. (2014), reporta anticuerpos contra *T. gondii* en las especies *Sigmodon hispidus* y *Liomys irroratus*; igualmente, reportan no haber encontrado anticuerpos en individuos *Peromyscus* spp.

En el presente estudio no se detectaron individuos positivos a la prueba de PCR, lo cual es indicativo de que *T. gondii* no se encuentra en el tejido encefálico; no obstante, la infección por *T. gondii* en pequeños roedores no siempre se presenta a nivel de las estructuras nerviosas, consecuencia de la respuesta inmune del propio hospedero, lo cual se ve reflejado en la habilidad para controlar la distribución de ooquistes y la disminución de su patogenicidad (Dubey & Frenkel, 1998). Asimismo, la toxoplasmosis presenta un amplio rango de manifestaciones clínicas según la especie de hospederos afectados; así, en la infección crónica, el parásito tiene la capacidad de distribuirse en distintos órganos parenquimatosos además del cerebro, principalmente corazón y músculo estriado (Hernández-Cortazar et al., 2015); tejidos que no estuvieron disponibles para su uso en la presente investigación.

La infección por *T. gondii* en roedores se presenta debido a la interacción de diversos elementos ecológicos que incluyen factores abióticos como el clima y la sobrevivencia de los ooquistes infecciosos y factores biológicos como la susceptibilidad de las distintas especies de roedores a la infección por *T. gondii* y sus genotipos, patrones diferentes de transmisión congénita en roedores y gatos, así como los cambios en el comportamiento de los roedores infectados, los cuales se vuelven más susceptibles a la depredación (Dabritz et al., 2008; House et al., 2011).

El mecanismo de transmisión de *T. gondii* en los roedores es principalmente por el consumo accidental de ooquistes infecciosos y resistentes en el suelo donde viven o por fuentes de agua contaminadas (Dubey & Frenkel, 1998). Los reportes de prevalencia de *T. gondii* en roedores sinantrópicos naturalmente infectados muestran una gran diversidad. Sin embargo, esta amplia variación depende del método de identificación empleado (Vujančić et al., 2011), lo cual es otro aspecto que pudo influir en los resultados negativos

del presente estudio, ya que el empleo de un solo par de oligonucleótidos pudo haber restringido la sensibilidad de la prueba diagnóstica (Boughattas et al., 2014).

## Conclusiones

En el presente no se detectaron animales positivos a *T. gondii* en muestras de cerebro; sin embargo, es necesario aumentar el número y tipo de tejidos (corazón y músculo esquelético) empleados en la extracción de ADN y la consecuente prueba molecular; asimismo, deben utilizarse otras pruebas diagnósticas, serológicas (ELISA) y directas (histopatología), para determinar cabalmente que *T. gondii* no se encuentra infectando a roedores de Yucatán, México.

## Agradecimientos

A Analilia Solís, Josué Meza y Lorenzo Sodá, por su invaluable trabajo de campo.

## Referencias

- Boghattas, S., Ayari, K., Sa, T., Aoun, K., Bouratbine, A. 2014. Survey of the parasite *Toxoplasma gondii* in human consumed ovine meat in Tunis City. PLoS One 9, e85044.
- Cigarroa-Toledo, N., Talavera-Aguilar, L.G., Baak-Baak, C.M., García-Rejón, J.E., Hernández-Betancourt, S., Blitvich, B.J., Machain-Williams, C., 2016. Serological evidence of Flavivirus infections in peridomestic rodents in Merida, Mexico. Journal of Wildlife Disease 52, 168-172.
- Dabritz, H.A., Miller, M.A., Gardner, I.A., Packham, A.E., Atwill, E.R., Conrad, P.A. 2008. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in wild rodents from central coastal California and a review of *T. gondii* prevalence in rodents. Journal of Parasitology 94, 675-683.
- Dubey, J.P., Frenkel J.K. 1998. Toxoplasmosis of rats: a review, with considerations of their value as an animal model and their role in epidemiology. Veterinary Parasitology 77, 1-32.
- Dubey, J.P., Jones, J.L. 2008. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. International Journal for Parasitology 38, 1257-1278.
- Dubey, J.P., Velmurugan, G.V., Alvarado-Esquivel, C., Alvarado-Esquivel, D., Rodríguez-Peña, S., Martínez-García, S., González-Herrera, A., Ferreira, L.R., Kwok, O.C., Su, C. 2009. Isolation of *Toxoplasma gondii* from animals in Durango, Mexico. Journal of Parasitology 95, 319-322.
- Hernández-Betancourt, S.F., Cimé-Pool, J.A., Medina-Peralta, S., Duran-Miranda C.M. 2012. Parámetros poblacionales del ratón yucateco *Peromyscus yucatanicus* de una selva baja caducifolia del norte de Yucatán, México. En: Cervantes, F.A., Ballesteros-Barrera, C., editores. Estudios sobre la biología de roedores silvestres mexicanos: Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF.
- Hernández-Cortazar, I., Acosta-Viana, K.Y., Ortega-Pacheco, A., Guzmán-Marín, E. del S., Aguilar-Caballero, A.J., Jiménez-Coello, M. 2015. Toxoplasmosis in Mexico: epidemiological situation in humans and animals. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 57, 93-103.
- House, P.K., Vyas, A., Sapolsky, R. 2011. Predator cat odors activate sexual arousal pathways in brains of *Toxoplasma gondii* infected rats. PLoS ONE 6, e23277.
- Instituto Nacional de Geografía e Historia (INEGI). 2010. México: II conteo de Población y vivienda. <http://www.inegi.gob.mx> (consultado el 01 de noviembre de 2015).
- Innes, E.A. 2010. A brief history and overview of *Toxoplasma gondii*. Zoonoses Public Health 57, 1-7.
- Panti-May, J.A., Hernández-Betancourt, S.F., Ruíz-Piña, H., Medina-Peralta, S. 2012. Abundance and population parameters of commensal rodents present in rural households in Yucatan, Mexico. International Biodeterioration & Biodegradation 66, 77-81.
- Panti-May, J.A., Torres-Castro, M.A., Hernández-Betancourt, S., Dzul-Rosado, K., Zavala-Castro, J., López-Ávila, K., Tello-Martín, R. 2015. Detection of *Rickettsia felis* in wild mammals from three municipalities in Yucatan, Mexico. Ecohealth 12, 523-527.
- Panti-May, J.A., Hernández-Betancourt, S.F., Torres-Castro, M.A., Machaín-Williams, C., Cigarroa-Toledo, N., Sodá, L., López-Manzanero, G., Meza-Sulú, JR., Vidal-Martínez, VM. 2016. Characteristics of human-commensal rodents present in households from Mérida, Yucatán, México. MANTER: Journal of Parasite Biodiversity, Number 5, September.
- Peniche-Lara, G., Dzul-Rosado, K., Pérez-Osorio, C., Zavala-Castro, J. 2015. *Rickettsia typhi* in rodents and *R. felis* in fleas in Yucatán as a possible causal agent of undefined febrile cases. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, vol 57, 129-132.
- Rendón-Franco, E., Xicoténcatl-García, L., Rico-Torres, C.P., Muñoz-García, C.I., Caso-Aguilar, A., Suzán, G., Correa, D., Caballero-Ortega, H. 2014. Toxoplasmosis seroprevalence in wild small rodents, potentially preys of ocelots in north-eastern Mexico. Parasite 21, 57.
- Reperant, L.A., Hegglin, D., Tanner, I., Fischer, C., Deplazes, P. 2009. Rodents as shared indicators for zoonotic parasites of carnivores in urban environments. Parasitology 136, 329-337.
- Rico-Torres, C.P., Figueroa-Damián, R., López-Candiani, C., Macías-Avilés, H.A., Cedillo-Peláez, C., Cañedo-Solares, I., Luna-Pastén, H., Tecuatl-Herrada, B.L., Correa, D. 2012. Molecular diagnosis and genotyping of cases of perinatal toxoplasmosis in Mexico. The Pediatric Infectious Disease Journal 31, 411-413.

- Robert-Gangneux, F., Dardé, M.L. 2012. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical Microbiology Reviews* 25, 264-296.
- Roch, E., Varela, G. 1996. Diversos aspectos de la investigación sobre toxoplasmosis en México. Resultados obtenidos en 29,883 reacciones Sabin y Feldman efectuados de 1935 a 1965. *Revista de Investigación en Salud Pública* 26, 31-49.
- Tenter, A.M., Heckeroth, A.R., Weiss, L.M. 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal of Parasitology* 30, 1217 - 1258.
- Torres-Castro, M.A., Gutiérrez-Ruiz, E., Hernández-Betancourt, S., Peláez-Sánchez, R., Agudelo-Flórez, P., Guillermo-Cordero, L., Fernando I. Puerto. 2014. First molecular evidence of *Leptospira* spp. in synanthropic rodents captured in Yucatan, Mexico. *Revue de Médecine Vétérinaire* 165, 213-218.
- Torres-Castro, M., Noh-Pech, H., Puerto-Hernández, R., Reyes-Hernández, B., Panti-May, A., Hernández-Betancourt, S., Yeh-Gorocica, A., González-Herrera, L., Zavala-Castro, J., Fernando I. Puerto. 2016. First molecular evidence of *Toxoplasma gondii* in oposums (*Didelphis virginiana*) from Yucatan, Mexico. *Open Veterinary Journal* 6, 57-61.
- Vujanić, M., Ivočić, V., Kataranovski, M., Nikolić, A., Bobić, B., Klun, I., Villena, I., Kataranovski, D., Djurković-Djaković, O. 2011. Toxoplasmosis in naturally infected rodents in Belgrade, Serbia. *Vector Borne and Zoonotic Disease* 11, 1209-1211.
- Weiss, L.M., Dubey, J.P. 2009. Toxoplasmosis: a history of clinical observations. *International Journal of Parasitology* 39, 895-901.
- Wendte, J.M., Gibson, A.K., Grigg, M.E. 2011. Population genetics of *Toxoplasma gondii*: new perspectives from parasite genotypes in wildlife. *Veterinary Parasitology* 182, 96-111.
- Zavala-Velázquez, J., Barrera-Pérez, M., Rodríguez-Félix, M.E., Guzmán-Marín, E., Ruiz-Piña, H. 1996. Infection by *Trypanosoma cruzi* in mammals in Yucatan, Mexico: a serological and parasitological study. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 38, 289 - 292.