

**PREVALENCIA DE *Toxoplasma gondii* Y  
DETERMINACIÓN DE LA CARGA PARASITARIA EN  
TEJIDOS DE CERDO PELÓN MEXICANO (*Sus  
scrofa*).**

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO  
PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

POR

Médico Veterinario Zootecnista  
**Gerardo Fabián Dzib Paredes**

**Asesores:**

**Dr. José Alberto Rosado Aguilar  
Dra. Matilde Jiménez Coello**

Mérida, Yuc., México, mayo del 2016

## **DECLARATORIA**

“El presente trabajo no ha sido aceptado o empleado para el otorgamiento de título o grado diferente o adicional al actual. La tesis es resultado de las investigaciones del autor, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas. El autor otorga su consentimiento a la UADY para la reproducción del documento con el fin del intercambio bibliotecario siempre y cuando se indique la fuente”.

---

M.V.Z. GERARDO FABIÁN DZIB PAREDES

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de Maestría en Ciencias Agropecuarias.

Al Posgrado de Investigación de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY) por haberme brindado la oportunidad de estudiar la Maestría en Ciencias Agropecuarias.

A la Fundación Educación Superior-Empresa (FESE) por el financiamiento al proyecto Fortalecimiento de la productividad, calidad e inocuidad de la canal de cerdo pelón mexicano de la Asociación Mexicana Especializada en Cerdos Criollos A.C. (AMECC). SIST-PROY: **CLAVE FMVZ-2014-0010**, proyecto del cual surgió mi trabajo de Tesis, y también al Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social SSA/IMSS/ISSSTE-CONACYT por el financiamiento al proyecto Desarrollo de una tecnología para la identificación rápida de toxoplasmosis activa en pacientes inmunosuprimidos y mujeres embarazadas (Clave: **CONACYT-SALUD-2012-01-181060**, proyecto que también financió a este proyecto de tesis.

A mis asesores el Dr. José Alberto Rosado Aguilar y la Dra. Matilde Jiménez Coello, así como también a mis tutores el Dr. Antonio Ortega Pacheco y la Dra. Karla Y. Acosta Viana, por su paciencia durante mi formación, su apoyo y por sobre todo por su invaluable amistad.

A la M en C. Ivonne Beatriz Hernández Cortázar por su amistad y por el soporte técnico brindado para la realización de este estudio.

A la M en C. Abril Díaz Aguilar y a la M.V.Z. Gabriela Janett Flota Burgos por su valiosa ayuda durante la recolección y procesamiento de las muestras, pero por sobre todo por su amistad.

A mis padres (Silvia Paredes y Gaudencio Dzib) y hermanos por su apoyo incondicional durante mis estudios de maestría.

***Muchas gracias a todos y cada uno de ustedes, ya que este trabajo no hubiese sido posible sin su ayuda.***

## RESUMEN

El objetivo de este estudio fue estimar la seroprevalencia y determinar la carga parasitaria de *Toxoplasma gondii* en los tejidos cardíaco, lingual y músculo semimembranoso/grácil de la pierna, en una población de cerdo pelón mexicano. Para esto se realizó un estudio transversal en 81 cerdos pelones de 9 - 12 semanas de edad provenientes de 10 municipios del estado de Yucatán, México. La prevalencia se estimó mediante la determinación de anticuerpos IgG específicos para *T. gondii* mediante ELISA indirecta en los sueros y posteriormente se determinó la carga parasitaria en los tejidos mencionados mediante PCR en tiempo real o cuantitativa (PCRc) con la que se amplificó una fracción del gen B1 de *T. gondii*. La seroprevalencia encontrada en este estudio fue del 53% (45/81), observándose variaciones en los municipios incluidos en el estudio, que fueron desde la ausencia hasta un 100% de seropositividad. Así mismo, mediante la PCRc se detectó la presencia de *T. gondii* en un 8.6% (7/81) de los cerdos muestreados, observándose 9 muestras de tejido positivas con una carga parasitaria promedio por g de tejido de  $2.5 \pm 2.71$  para el tejido muscular de la pierna,  $0.26 \pm 0.39$  para el tejido cardíaco y  $0.31 \pm 0.39$  para el tejido lingual. Las proporciones y cargas parasitarias halladas entre tejidos no demostraron diferencia estadística ( $P > 0.05$ ). Se concluye que la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en los CPM fue del 53% y 8.6% por ELISA y PCR, respectivamente. Los resultados de la PCRc demostraron que la carga parasitaria promedio en los tres tejidos evaluados fue similar, por lo que el consumo de los tres tejidos supone el mismo riesgo a la población para adquirir la infección.

**Palabras clave:** cerdo pelón mexicano, *T. gondii*, PCRc, seroprevalencia, carga parasitaria.

## SUMMARY

The aim of this study was to estimate the prevalence and parasite load of *Toxoplasma gondii* in three tissues: heart, tongue and the semimembranosus/graceful leg muscle from a population of Mexican hairless pig (MHP). A cross-sectional study was conducted in 81 MHP, 9-12 weeks of age from 10 municipalities from Yucatan, Mexico. Prevalence was estimated by determination of *T. gondii* IgG antibodies through an indirect ELISA assay in sera; the parasitic burden was also determined in the genomic DNA from sampled tissues using a real-time or quantitative PCR (qPCR), which amplified an amplicon of 62 bp corresponding to B1 gene of *T. gondii*. The seroprevalence was 53%, (45/81) with variations in the municipalities of origin from 0 to 100% of seropositivity rate. The qPCR allowed to detect the presence of *T. gondii* in 8.6% (7/81) of the sampled pigs, observed a total of 9 tissue samples positive with average of parasites per gram of  $2.5 \pm 2.71$  for the leg muscle tissue,  $0.26 \pm 0.39$  for the heart tissue and  $0.31 \pm 0.37$  for the tongue tissue. There was not statistical difference ( $p > 0.05$ ) in proportion and parasite burden between different kinds of tissues evaluated. It is concluded that the seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in the CPM was 53% and 8.6% by ELISA and PCR, respectively. qPCR results showed that the average parasite load in the three evaluated tissue was similar, so that consumption of the three tissues involves the same risk to the population to acquire infection.

**Key words:** Mexican hairless pig, *T. gondii*, qPCR, seroprevalence, parasite burden.

## ÍNDICE GENERAL

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. MARCO TEÓRICO</b> .....	3
2.1. Antecedentes históricos.....	3
2.2. Epidemiología .....	3
2.3. Agente etiológico .....	6
2.3.1. Variabilidad genética de <i>T. gondii</i> .....	7
2.3.2. Morfología .....	8
2.3.2.1. Taquizoíto .....	8
2.3.2.2. Bradizoíto .....	9
2.4. Ciclo biológico.....	11
2.5. Tropismo.....	13
2.6. Signos clínicos en los animales y en los humanos .....	14
2.7. Métodos de diagnóstico para toxoplasmosis .....	16
<b>III. OBJETIVO GENERAL</b> .....	20
3.1. Objetivos específicos.....	20
<b>IV. HIPÓTESIS</b> .....	20
LITERATURA CITADA.....	21
<b>ARTÍCULO (ELABORADO DE ACUERDO AL FORMATO DE LA REVISTA VETERINARY PARASITOLOGY).</b> .....	31

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diferencias morfológicas entre taquizoíto y bradizoíto, imagen basada en microscopia electrónica (Tomado de Dubey et al., 1998).	10
Figura 2. Estadíos de <i>Toxoplasma gondii</i> en sus fases extracelular, aguda y crónica (Tomado de Dubey, 2010).	10
Figura 3. Ciclo biológico de <i>Toxoplasma gondii</i> (imagen basada en el trabajo de Dubey, 2010).	12
Figura 4. Estimación de la carga parasitaria de <i>Toxoplasma gondii</i> mediante PCRc (gen B1) en 3 tejidos de cerdo pelón mexicano naturalmente infectados del estado de Yucatán.	58

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Prevalencias de <i>T. gondii</i> reportadas a nivel mundial para la población humana	4
Cuadro 2. Tarjetas de amplificación, primers y fluorocromos empleados en la cuantificación de <i>T. gondii</i>	18
Cuadro 3. Seroprevalencias de anticuerpos IgG anti <i>T. gondii</i> por municipio de origen en una muestra de cerdo pelón mexicano naturalmente infectados.	55
Cuadro 4. Casos positivos a <i>Toxoplasma gondii</i> mediante PCRc (gen B1) en una población de cerdo pelón mexicano naturalmente infectados, carga parasitaria hallada por tejidos y valores Ct.	56
Cuadro 5. Resultados del control interno (GAPDH) y abundancia media de <i>T. gondii</i> (parásitos/g) por tejidos con su desviación estándar y prueba de Wilcoxon (InfoStat 2016e) en una población de cerdo pelón mexicano naturalmente infectados.	57

## I. INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una enfermedad zoonótica parasitaria ocasionada por el protozooario intracelular *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) (Muñiz & Mondragón, 2009; Muñoz et al., 2011). Desde el punto de vista de salud pública, la toxoplasmosis presenta una especial importancia, debido a que en los humanos, aunque es típicamente asintomática, puede desarrollarse también de manera severa, ocasionando encefalitis, desórdenes neurológicos, coriorretinitis, abortos o inclusive ser mortal en los infantes con toxoplasmosis congénita y en pacientes inmunocomprometidos (como es el caso de personas infectadas con VIH, con problemas en medula ósea o en pacientes receptores de órganos trasplantados) (Calderaro et al., 2006; Ribera, 2013). Entre las diferentes fuentes de transmisión de la toxoplasmosis hacia los humanos, se considera que existe un mayor riesgo de contraer la toxoplasmosis al consumir carne de cerdo poco cocida, debido a que en estos animales la carga parasitaria es mayor comparada con otras especies productivas (Lehmann et al., 2003; Opsteegh et al., 2010; Pérez et al., 2011).

En el cerdo americano (*Sus scrofa domestica*) se han documentado prevalencias de *T. gondii* en todo el mundo con variaciones que van del 11% al 100% (Villari et al., 2009; García et al., 2011; Ortega-Pacheco et al., 2011; Alvarado-Esquivel et al., 2011; Alvarado-Esquivel et al., 2012; Hill & Dubey, 2013). En el caso del cerdo criollo (*Sus scrofa*), aunque son pocos los estudios a nivel mundial, se han reportado también diversas prevalencias que varían del 0% al 100% (Gauss et al., 2005; Puvanuesuaran et al., 2013). En México no existen estudios previos de prevalencia de *T. gondii* particularmente en poblaciones de cerdos criollos. En lo que respecta a la determinación de la carga parasitaria de *T. gondii* en los cerdos, son escasos los trabajos que aborden este tema desde un punto de vista cuantitativo y la mayor parte de la información que se tiene hasta el momento se ha obtenido mediante técnicas cualitativas como es el caso de los bioensayos con ratones (Dadimoghaddam et al., 2014; Dubey, 2009; Dubey et al., 1996), donde se ha reportado mayor tropismo hacia

cerebro, lengua, corazón y músculo esquelético (Lehmann et al., 2003; Opsteegh et al., 2010; Pérez et al., 2011).

En Yucatán el cerdo pelón mexicano (CPM) forma parte importante de la tradición y cultura de las unidades familiares campesinas (Sierra, 2002) y su crianza ha recobrado fuerza debido a las características organolépticas únicas de su carne, la cual posee un mejor sabor y calidad, por lo que actualmente la crianza de estos cerdos cuenta con el respaldo de instituciones de investigación locales, nacionales e internacionales (IICA, 2010). En la crianza del CPM comúnmente no se realiza ningún tipo de control para evitar enfermedades que pudieran afectarlos y hasta ahora no hay estudios epidemiológicos formales en este tipo de cerdos, pudiendo representar un riesgo en la transmisión *de T. gondii* al consumidor, sobre todo si la carne se consume cruda o mal cocida (López et al., 1999). Por lo cual el presente trabajo tiene como objetivo estimar la seroprevalencia de *T. gondii* y determinar la carga parasitaria en tejidos para consumo (cardiaco, lingual y músculo semimembranoso/grácil de la pierna) de cerdo pelón mexicano (*Sus scrofa*) del estado de Yucatán, México.

## **II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Antecedentes históricos**

En 1907, en el Instituto Pasteur en Tunis, durante el estudio de enfermedades infecciosas del roedor desértico *Ctenodactylus gundii*, Charles Nicolle observó la presencia de un organismo de forma alargada en el tejido de estos animales. En 1908, Nicolle y su colaborador, Louis Manceaux, publicaron la descripción inicial de este hallazgo. Un año más tarde realizaron un informe más detallado y nombraron al organismo *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), haciendo referencia a la morfología característica del parásito y el origen del aislamiento original (Suárez & Galisteo., 1999; Tait & Hunter, 2009; Webster, 2010). Desde el descubrimiento de *T. gondii*, su importancia clínica ha influido para considerarlo importante en los grupos de investigación. Hoy en día, *T. gondii* es reconocido como un patógeno oportunista que puede afectar tanto a los fetos de las diferentes especies de homeotermos, a sus recién nacidos, así como a sujetos que presenten inmunodeficiencias primarias genéticas o adquiridas, lo que le ha valido que la OMS clasifique en estos casos a la toxoplasmosis como una enfermedad zoonótica grave (Petersen, 2007).

### **2.2. Epidemiología**

*T. gondii* es uno de los parásitos mejor adaptados y puede infectar a una amplia gama de hospederos (cualquier animal de sangre caliente), por lo que está ampliamente distribuido en el mundo. Aproximadamente un tercio de la población humana ha sido infectada por éste parásito (Galván-Ramírez et al., 2012). Se han reportado diversas prevalencias entre las diferentes regiones que van del 10% al 90%, observándose una mayor incidencia en áreas tropicales y una disminución cuando se incrementa la latitud (Petersen, 2007). En el cuadro 1 se pueden observar algunos de estos estudios de prevalencia realizados.

**Cuadro 1.** Prevalencias de *T. gondii* reportadas a nivel mundial para la población humana.

<b>País</b>	<b>Prevalencia</b>	<b>Muestra</b>	<b>Prueba</b>	<b>Autores</b>
Irán	39.3%	Población en general	ELISA, IFA y CLIA	Daryani et al., 2014
China	12.2% (tipo I) 11.3% (tipo II)	Población en general y clínicamente sana	PCR Western blot	Sun et al., 2013
Italia	24.4% 23.6%	Población en general Mujeres en edad reproductiva	Inmunoensayo (IgG, IgM )	Mosti et al., 2013
Estados Unidos	22.5% 29.2% 22.8% 20.5% 17.5%	Población general (NAHNES 1999-2004) Región Noreste Región Sur Región Medio Oeste Región Oeste	Inmunoensayo (IgG)	Jones et al., 2007
Brasil	56.7%	4 comunidades cercanas al río Purús	ELISA (IgG, IgM)	Vitaliano et al., 2015
México	6.1% (Durango) 9.3% (Durango) 58% (Yucatán)	Población en general Mujeres con aborto espontáneo Mujeres con aborto espontáneo	ELISA (IgG, IgM) ELISA (IgG, IgM) ELISA (IgG, IgM) y PCR	Alvarado et al., 2015 <sup>a</sup> Alvarado et al., 2015b Vado-Solís et al., 2012

ELISA (por sus siglas en inglés, enzyme-linked immunosorbent assay), IFA (por sus siglas en inglés, indirect fluorescent antibody test), CLIA (por sus siglas en inglés, chemiluminescence enzyme immuno assay), PCR (por sus siglas en inglés, Polimerase chain reaction)

En el caso de los cerdos (*Sus scrofa domestica*) ocurre lo mismo, existen amplias variaciones entre las diferentes áreas geográficas, un estudio en España se reportó una prevalencia de *T. gondii* del 16.6% (492/2970) con variaciones entre granjas que van del 2.9% al 92.8% , este estudio se realizó en cerdos reproductores y de engorda procedentes de granjas tecnificadas, empleando la prueba de aglutinación modificada (por sus siglas en inglés, MAT) (García et al., 2011), en Estados Unidos de Norteamérica, Dubey et al. (2012) utilizando las pruebas MAT y ELISA reportaron una prevalencia del 90.9% en cerdos domésticos criados de forma orgánica; en Sicilia, Italia se reportó una prevalencia del 10.4% (361/3472) en animales finalizados, muestreados en rastro y analizados mediante una prueba ELISA para IgG (Villari et al., 2009).

En México también existen reportes, en el estado de Durango, Alvarado-Esquivel et al. (2011) reportaron mediante MAT una seroprevalencia de 12.7% y posteriormente en Oaxaca en 2012, Alvarado-Esquivel et al. (2012) reportaron una seroprevalencia del 17.2% para *T. gondii* en cerdos (*Sus scrofa domestica*) de traspatio mediante MAT, con variaciones en la seroprevalencia del 33.3% para la zona del Istmo, del 16.7% para la Sierra Sur y del 14.6% para la zona de Papaloapan (100-600 msnm). En el estado de Veracruz, Alvarado-Esquivel et al. (2014) reportaron mediante MAT una prevalencia del 45.3% en cerdos (*Sus scrofa domestica*) de traspatio provenientes de seis municipios (La Antigua, Medellín, Paso de Ovejas, Soledad de Doblado, Úrsulo Galván, Veracruz). En el estado de Yucatán Jiménez-Coello et al. (2013), reportaron una seroprevalencia (IgG) del 76% utilizando una ELISA indirecta en muestras de cerdos de traspatio (*Sus scrofa domestica*) de la localidad de Molas en la reserva ecológica de Cuxtal (selva baja caducifolia) y Ortega-Pacheco et al. (2011), reportaron mediante la misma prueba una prevalencia del 94.5% en cerdos (*Sus scrofa domestica*) de engorda con 58 días de edad en granjas con altas poblaciones de gatos.

Los estudios en cerdos criollos (*Sus scrofa*) son escasos, en España Gómez-Laguna et al. (2011) trabajaron con el cerdo Ibérico (*Sus scrofa*) en explotaciones

tecnificadas, obtuvieron una prevalencia del 27.12% utilizando una prueba de ELISA. Por su parte Gauss et al. (2005) reportaron una prevalencia del 38.4% en cerdos salvajes de España (*Sus scrofa*) mediante la prueba MAT. En la península de Malasia se llevó a cabo un estudio similar, con cerdos salvajes (*Sus scrofa*), reportándose una prevalencia del 100% mediante MAT (Puvanesuaran et al., 2013). En Corea también se realizó un estudio de seroprevalencia en cerdos salvajes (*Sus scrofa*) obtenidos de la cacería, obteniéndose mediante ELISA una prevalencia del 25.1% (Kang et al., 2013).

En América son aún más escasos los estudios de prevalencia en cerdos criollos. Fornazari et al., (2009) reportaron que en Brasil, encontraron que cerdos criollos de granjas tecnificadas, demostraron una frecuencia del 4.6%, (IC 2.8-7.5), mediante la prueba MAT. En México no hay trabajos publicados que señalen la prevalencia de *T. gondii* en las poblaciones de cerdos criollos (clasificados como cóscate o pata de mula, reportados como ya extintos por algunos autores; el cuino que se encuentra en estado crítico de extinción y el cerdo pelón el cual también se considera en peligro de desaparecer) (IICA, 2010). El consumo de la carne de cerdo pelón mexicano ha sido propuesto como una alternativa culinaria atractiva, escasa y bien remunerada, por lo que ha llegado a tener en los últimos años mayor demanda tanto en México como otros países, siendo solicitadas las canales de estos animales principalmente por restaurantes especializados (AMECC, comunicación personal, 2014), sin embargo la implicación de *T. gondii* en salud pública y el desconocimiento del estatus zoonosario de estos cerdos pelones indican la necesidad de realizar investigaciones epidemiológicas sobre esta zoonosis.

### **2.3. Agente etiológico**

El parásito *T. gondii* es un protozoario intracelular obligado que se clasifica como: reino *Protista*, filo *Apicomplexa*, clase *Conoidasida*, Orden *Eucoccidiorida*, familia *Sarcocystidae*, género *Toxoplasma*, especie *gondii* (Varela, 2001). *T. gondii* es

actualmente el único representante del género *Toxoplasma* (Webster, 2010). La inespecificidad de especie por parte de este agente le confiere la capacidad de infectar a una amplia gama de hospederos intermediarios, afectando a la mayoría de los animales de sangre caliente (aves y mamíferos incluyendo al hombre), por lo que es considerada como una zoonosis importante (Muñiz & Mondragón, 2009; Ibarra et al., 2009; Muñoz et al., 2011).

### **2.3.1. Variabilidad genética de *T. gondii***

El genoma de *T. gondii* es haploide excepto durante la división sexual en el intestino del gato, donde la fusión de los gametos haploides dan lugar a cigotos diploides. El genoma haploide completo contiene 14 cromosomas y 7793 genes, con un tamaño total de 63, 495,144 pb (Dubey, 2010). Con base en la caracterización molecular de muestras obtenidas de humanos y animales de Norte América y Europa, se ha descrito la existencia de tres principales linajes clonales de *T. gondii* (I, II o III) (Silva et al., 2014), aunque también existe una gran diversidad genética en animales de vida libre, como se ha observado en trabajos realizados en Norte América y en Sudamérica (Rivera & Mondragón, 2010; Jiang et al., 2013).

A pesar de que la diferencia en el genotipo de los tres linajes es menor al 1%, esta diferencia repercute de manera importante en la virulencia del parásito (Su et al., 2006). Las variantes de tipo I son las más virulentas, tienen alta velocidad de replicación *in vitro* y reducida interconversión taquizoíto-bradizoíto, en ratones se observa un 100% de letalidad sin importar la cantidad de parásitos inoculados. Las del tipo II son menos virulentas y fácilmente se convierten de taquizoíto a bradizoíto, mientras que las de tipo III son relativamente avirulentas y establecen infecciones crónicas en animales y seres humanos (Dubey, 2010; Ibarra et al., 2009). En los humanos algunos estudios reportan que las variantes del tipo I y II están mayormente asociadas con infecciones congénitas y con la toxoplasmosis ocular, las del tipo III se consideran muy raras en humanos. En individuos infectados con el virus de

inmunodeficiencia humana (VIH) se ha reportado una mayor infección con el linaje II (Montoya & Liesenfeld, 2004).

### **2.3.2. Morfología**

*T. gondii* puede encontrarse en varias formas, los estadios sexuales son los macrogametos y microgametos, estos últimos con un flagelo bilobulado. Los estadios sexuales únicamente pueden encontrarse en los hospederos definitivos, es decir, en todos los felinos, incluyendo al gato doméstico. Después de la reproducción sexual se forman los ooquistes, estructuras esféricas de 10 a 12  $\mu\text{m}$  de diámetro, los cuales esporulan en el ambiente, en este punto inician los estadios asexuales, estos estadios son el esporozoíto, el taquizoíto y el bradizoíto. Cuando los ooquistes esporulan cada ooquiste contiene dos esporoquistes que poseen una forma elipsoidal, estos a su vez, están constituidos por cuatro esporozoitos que miden 2 x 6-8 $\mu\text{m}$ . Debido a que se considera de mayor relevancia a las formas invasivas, los estadios mejor descritos son el taquizoíto y el bradizoíto (Uribarren Berrueta, 2013).

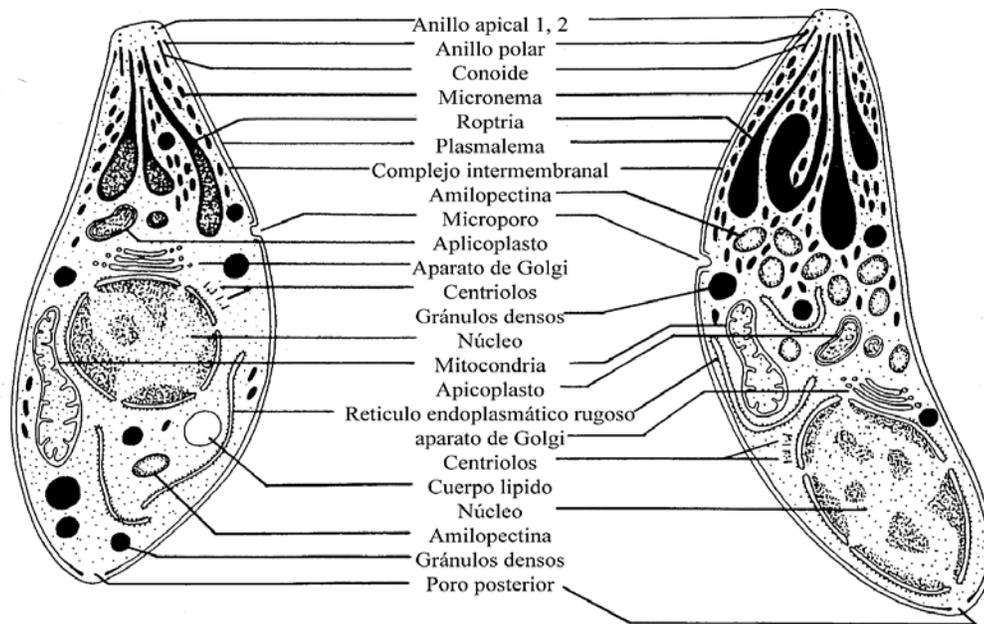
#### **2.3.2.1. Taquizoíto**

El taquizoíto es la forma de *T. gondii* más caracterizada debido a la facilidad para mantenerlo en condiciones de cultivo celular, además corresponde a la forma asexual infectiva altamente invasiva y de diseminación tisular. Tiene una apariencia de arco o media luna con un tamaño de 3 x 7  $\mu\text{m}$  y con una distribución polarizada de sus organelos citoplásmicos, de tal forma que se identifica un extremo apical y un extremo posterior. Está rodeado por un complejo de tres membranas (membrana plasmática y el complejo membranal interno) conocido como películo. Posee un núcleo, una única mitocondria que tiene la característica de convolucionar dentro del citoplasma del taquizoíto y alrededor del núcleo, aparato de Golgi y retículo endoplásmico (figura 1). En la región apical se encuentran organelos relacionados con la motilidad, la secreción y la invasión celular, como son: el conoide (un organelo retráctil

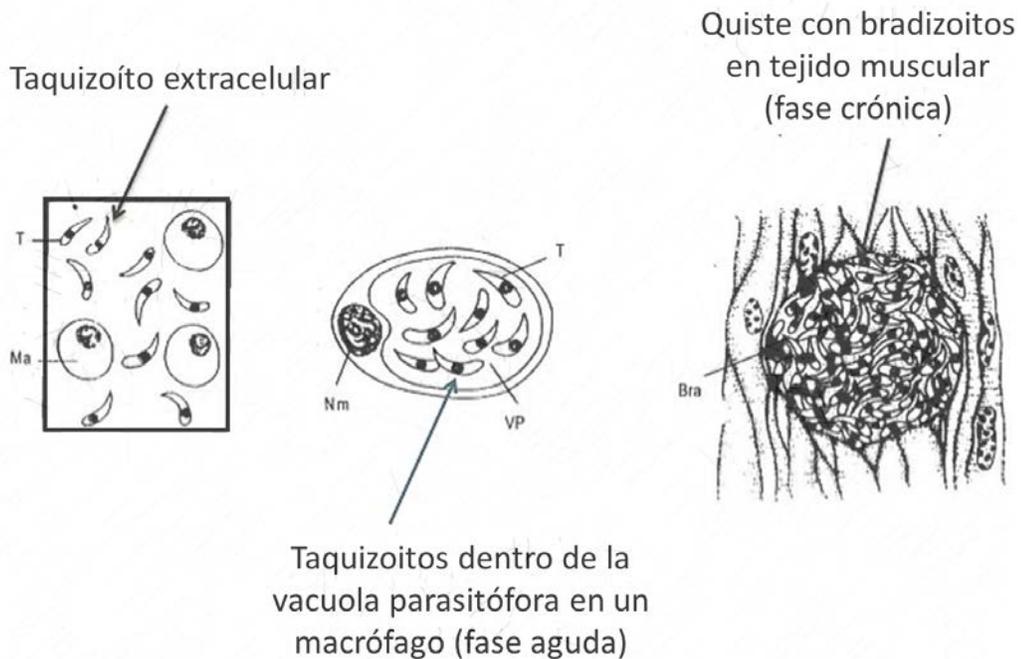
conformado al menos por  $\alpha$  tubulina y que es activado durante la invasión), el anillo polar anterior, las roptrias, los micronemos y los gránulos densos. El citoesqueleto del parásito está constituido por 22 microtúbulos subpeliculares que se encuentran anclados al anillo polar anterior y que recorren en forma helicoidal 2/3 partes del cuerpo del parásito. Asociada a los microtúbulos se encuentra una red subpelicular que está constituida por actina y proteínas asociadas a actina, como profilina y miosina; se ha sugerido que la función de la red podría ser la de definir la forma del parásito y determinar su motilidad. El movimiento por deslizamiento y la extrusión del conoide son procesos dinámicos activados durante la invasión y que dependen del citoesqueleto del parásito y de incrementos en los niveles de calcio citoplásmicos. La replicación conduce a la lisis celular y a la diseminación de taquizoítos a diferentes tejidos (Muñiz & Mondragón, 2009; Uribarren Berrueta, 2013; Borbolla-Sala et al., 2013).

#### **2.3.2.2. Bradizoíto**

Son contenidos en quistes tisulares, de reproducción lenta. Miden 1.5  $\mu\text{m}$  x 7.0  $\mu\text{m}$  y son morfológicamente semejantes a los taquizoítos (figura 1). Dan lugar a inmunidad no estéril y en condiciones de inmunocompromiso se reactivan y diseminan como taquizoítos. Mediante estudios de bioluminiscencia se ha demostrado que la conversión de taquizoítos en bradizoitos puede iniciar, *in vivo*, de manera muy rápida (Borbolla-Sala et al., 2013; Muñiz & Mondragón, 2009; Uribarren Berrueta, 2013). Los quistes tisulares varían en forma y tamaño. Se ha observado que los quistes jóvenes pueden medir 5  $\mu\text{m}$  de diámetro y contener unos cuantos bradizoitos, en ocasiones, tan pocos como 2 de ellos. Los quistes maduros miden en promedio 70  $\mu\text{m}$  y contienen unos 1000 bradizoitos. Presentan una delgada membrana elástica, y pueden persistir en tejidos durante el resto de la vida del hospedero (Dubey, 2010; Uribarren Berrueta, 2013).



**Figura 1.** Diferencias morfológicas entre taquizoíto (izquierda) y bradizoíto (Derecha), imagen basada en microscopia electrónica (Tomado de Dubey et al., 1998)



**Figura 2.** Estadíos de *Toxoplasma gondii* en sus fases extracelular, aguda y crónica (Tomado de Dubey, 2010).

## 2.4. Ciclo biológico

El ciclo de vida de *T. gondii* se desarrolla en dos tipos de hospederos: el definitivo, que comprende a todos los felinos, incluido el gato doméstico, y el intermediario, que son todos los animales de sangre caliente (incluido el humano) (Figura 2). Dependiendo del tipo de hospedero se puede llevar a cabo la replicación sexual o asexual (Giraldo, 2008). El ciclo de replicación sexual inicia cuando algún felino ingiere una presa infectada con quistes tisulares (forma infectiva que contiene al bradizoíto). Por acción de las enzimas digestivas intestinales se liberan las formas infectivas del parásito que invaden a los enterocitos del intestino del felino (Muñiz & Mondragón, 2009). En el intestino delgado se lleva a cabo la gametogénesis, la fecundación y la generación del ooblasto, que da origen al ooquiste inmaduro (Ibarra, et al., 2009; Muñoz *et al*, 2011). El ooquiste es liberado en forma no esporulada a través de las heces de los felinos por aproximadamente 7 a 21 días y en el medio ambiente bajo condiciones adecuadas de temperatura, humedad y oxigenación esporula en 2-3 días produciendo en su interior 8 esporozoitos; el ooquiste así maduro se convierte en la forma infecciosa (Montoya & Liesenfeld, 2004; Muñiz & Mondragón, 2009).

En condiciones óptimas el ooquiste puede permanecer viable hasta 18 meses en tierra húmeda o sobrevivir a temperaturas bajas y deshidratación por periodos cortos. En los hospederos intermediarios (y en los felinos fuera del intestino delgado) se lleva a cabo la reproducción asexual del parásito. La infección puede ocurrir por ingestión de ooquistes esporulados o quistes tisulares presentes en tejidos de otros hospederos intermediarios (Ibarra et al., 2009; Uribarren Berrueta, 2013). Una vez ingeridos los ooquistes esporulados o los quistes tisulares, se liberan los esporozoitos o los bradizoitos, respectivamente, los cuales invaden el epitelio intestinal, donde se multiplican activamente en el interior de la célula y la ocupan dando un pseudoquiste que se rompe y libera los parásitos que invaden otras células (Muñoz et al., 2011; OPS, 2013).

Las células inicialmente invadidas son los macrófagos, allí se multiplican rápidamente y son llamados taquizoítos y pasan de célula a célula. En la fase inicial de la infección, la invasión celular se denomina ciclo proliferativo en donde ocurre la multiplicación rápida de los taquizoítos dentro de los macrófagos, por medio de la reproducción llamada endodiogenia, que consiste en la división del parásito en dos dentro de la célula parasitaria madre. La diseminación de los parásitos a los diferentes órganos se hace por vía sanguínea o linfática llevados por los macrófagos, linfocitos o granulocitos (Restrepo, 2007), en los cerdos se ha documentado la preferencia por los sistemas nervioso, renal, hepático y músculo esquelético (Taylo, et al., 2007).

En la fase inicial de la infección se induce el desarrollo de la respuesta inmune humoral y celular que es observable a los 7-10 días post infección (Frontera-Carrión et al., 2009). El desarrollo de la respuesta inmune, tanto celular como humoral, ocasiona la diferenciación de los taquizoítos en bradizoítos con la consecutiva transformación de la célula infectada en un quiste tisular, la formación de quistes se observa de 6 a 8 días post infección (Dubey et al., 2010). Estos quistes tisulares que contienen bradizoítos se localizan en todos los tejidos de los animales infectados y representan una forma de diseminación de la toxoplasmosis al consumir la carne contaminada (Rivera & Mondragón, 2010).



**Figura 2.** Ciclo biológico de *Toxoplasma gondii* (imagen basada en el trabajo de Dubey, 2010)

## 2.5. Tropismo

El tropismo y la carga parasitaria de *T. gondii* varían dependiendo del tipo de hospedero, su estado inmunológico y del biotipo al que se haya expuesto. Entre los animales productivos los cerdos son los que presentan la mayor carga parasitaria seguidos por el ganado caprino, ovino y en menor medida el ganado bovino (Opsteegh et al., 2010; Pérez et al., 2011).

En los hospederos intermediarios se ha descrito una mayor predilección de *T. gondii* por el sistema nervioso central (SNC), observándose quistes tisulares en la mayoría de las regiones del cerebro; sin embargo, algunos estudios sugieren que podría existir un mayor tropismo hacia las áreas de la amígdala del cerebro, en zonas asociadas con el procesamiento del miedo (McConkey et al., 2013). Otras áreas del SNC en las que se ha descrito tropismo son la corteza cerebral, el cerebelo, los bulbos olfatorios, el colículo, el diencéfalo y el tálamo (McConkey et al., 2013, Dubey, 2010). Así mismo, también se ha documentado tropismo hacia diferentes tejidos, observándose la presencia de *T. gondii* en el tejido cardíaco, tejido diafragmático, el músculo esquelético, tejido lingual, pulmonar, hepático, renal y esplénico (Juránková et al., 2014, Dubey, 2010).

En el cerdo, clásicamente se ha descrito un mayor tropismo hacia cerebro, lengua, corazón y músculo esquelético (Lehmann et al., 2003; Pérez et al., 2011), algunos autores sugieren que el tropismo en estos tejidos probablemente se debe a que en éstos la respuesta inmune es limitada (Weiss & Kim, 2007). A pesar de lo ya mencionado, en esta especie se pueden observar con frecuencia quistes tisulares en diferentes tejidos (Lehmann et al., 2003; Pérez et al., 2011; Bayarri et al., 2012). Algunos trabajos sugieren que la distribución de los quistes tisulares en los tejidos puede estar relacionada también con el biotipo de *T. gondii* con el que fueron infectados los animales, así como la dosis infectante y el tiempo transcurrido desde la infección (Dadimoghaddam et al., 2014; Dubey, 2010). En el cerdo, se ha observado que los principales biotipos asociados a la infección con *T. gondii* son los del tipo II y III, sin embargo también se han descrito aislados con la combinación de los genotipos I, II y III (Dubey, 2010).

## **2.6. Signos clínicos en los animales y en los humanos**

La principal vía de transmisión de la toxoplasmosis hacia los humanos es por consumo de agua y alimentos contaminados con ooquistes y principalmente por el

consumo de carnes curadas o poco cocidas, a esta última se le ha atribuido un 30-60% de todos los casos de toxoplasmosis adquirida (Juránková, 2013).

El espectro clínico de la enfermedad es muy variado y depende fundamentalmente del estado inmunitario del huésped y del biotipo de *Toxoplasma* al que se estuvo expuesto. En los humanos la toxoplasmosis puede manifestarse básicamente en 5 formas, la asintomática, la infección aguda, congénita, ocular y la reactivación clínica en individuos inmunocomprometidos (Ribera, 2013). La toxoplasmosis congénita es la complicación más significativa de la infección activa (Paternina, 2004; Restrepo, 2007). La mayoría de las infecciones congénitas son asintomáticas, aunque en algunos casos el niño nace con la enfermedad aguda, en donde se puede encontrar casos de hidrocefalia, lesiones oculares y viscerales. En otros casos, la enfermedad se desarrolla después del nacimiento o queda latente por mucho tiempo (Restrepo, 2007; Uribarren, 2013).

Generalmente la infección natural en los animales (no gestantes) transcurre en forma asintomática, pero en una primo infección durante la gestación puede producir muerte embrionaria, aborto, nacimiento de animales débiles o clínicamente normales pero infectados. Mundialmente, *T. gondii* constituye la causa del 11-14% de los abortos que ocurren en ovinos y caprinos. En bovinos por el contrario, la infección por *T. gondii* no se considera causa frecuente de aborto y se presenta de forma asintomática. En caninos se considera como incidental, en donde la infección al igual que muchas otras especies que no pertenecen a la familia *Felidae*, es generalmente subclínica, pero bajo determinadas condiciones se presentan signos clínicos, predominando las manifestaciones respiratorias y neuromusculares. Los gatos aun como hospederos definitivos cursan generalmente la infección de forma asintomática, incluso durante la eliminación de ooquistes, sin embargo existen ocasiones en que se presentan signos clínicos, principalmente respiratorios asociados a neumonía de tipo intersticial, con disnea, letargia y anorexia, signos oculares (uveítis, retinocoroiditis) o signos neuromusculares (Basso & Venturini, 2009; Dubey, 2010).

En gatos también se ha descrito la infección intrauterina, es decir puede llevarse a cabo la infección transplacentaria; los animales infectados de este modo generalmente presentan signos más severos; se ha reportado encefalitis, hepatitis, ascitis, signos respiratorios y muerte perinatal o predestete (Basso & Venturini, 2009). En el cerdo la infección cursa normalmente en forma subclínica, en animales adultos se registra pérdida de peso, anorexia y fiebre, que normalmente desaparecen a la tercera semana post infección sin importar la variante de *T. gondii* al que hayan sido expuestos. Los cerdos se consideran una importante fuente de infección para humanos debido a las cargas parasitarias encontradas en sus tejidos, comparados con otros animales productivos (Basso & Venturini, 2009; Dubey, 2010).

## **2.7. Métodos de diagnóstico para toxoplasmosis**

El diagnóstico clínico se basa en gran medida en los resultados de pruebas serológicas que detecten anticuerpos específicos contra *T. gondii*. Tanto la especificidad como la sensibilidad de estas pruebas dependen fundamentalmente de los antígenos utilizados. La mayor parte de los estuches comerciales están basados en lisados de antígenos de *Toxoplasma*. Entre las pruebas serológicas más utilizadas están: las técnicas de aglutinación modificada (por sus siglas en inglés, MAT), inmunofluorescencia, ELISA y Western blot para la detección de IgM e IgA (fase aguda), IgE, e IgG (la cual indica si ha habido exposición anterior), así como para determinar la avididad de IgG (se reconoce como avididad a la fuerza de afinidad que existe entre la IgG específica y el epítipo de la proteína de *T. gondii*, esta afinidad aumenta con el tiempo, lo que permite discriminar si la infección es reciente (< 4 meses), o antigua (> 4 meses) (Canales et al., 2010). Otros tipos de pruebas son los exámenes de gabinete como: la tomografía computarizada, resonancia magnética, ultrasonido oftalmológico y las técnicas de biología molecular como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y sus variantes, que se basan en la detección del material genético de *T. gondii* (Dubey, 2010; Uribarren, 2013).

Algunas secuencias utilizadas para el diagnóstico de *T. gondii* son las dirigidas para el gen SAG-1 que es altamente conservado en las cepas de *T. gondii*, este gen posee una única copia en el genoma de *T. gondii* y sintetiza una proteína de membrana (P-30) de 30 KDa que es considerada en taquizoítos como el antígeno de superficie más importante, ya que juega un papel determinante en la virulencia del parásito (Wang & Yin, 2014). Al igual que SAG-1 se han empleado otros genes que codifican proteínas de membrana en taquizoítos, como es el caso del gen SAG-2 (P-22), el cual es utilizado principalmente para la caracterización y diferenciación entre los principales 3 genotipos de *Toxoplasma gondii* (I, II y III) (Fazaeli & Ebrahimzadeh, 2007). Otras secuencias utilizadas son las del gen SAG-3 que permite la síntesis de una proteína de membrana (denominada P-43) tanto en taquizoitos como bradizoitos, y los genes GRA-4 y ROP-1 que son empleados principalmente en trabajos de investigación con la finalidad de utilizarlos para el diagnóstico serológico de la toxoplasmosis debido a que son altamente inmunogénicas (Aigner et al., 2010; Opsteegh et al., 2010; Mohabati et al., 2013; Hernandez et al., 2014).

En lo que respecta a la estimación de la carga parasitaria en tejidos, la detección macroscópica de los taquizoitos o de los quistes tisulares no es común de realizarse. Puede hacerse en tejido encefálico, sin embargo es un procedimiento tedioso y que debe ser realizado por personal con experiencia, y usualmente se hace en ratones o félidos utilizados en bioensayos para aislamientos. En el caso de las especies con una masa encefálica de mayor tamaño se utiliza la prueba de PCRc para determinar la presencia y la cuantificación de *T. gondii* (Bayarri et al., 2012).

Tanto la estimación de la carga parasitaria como la detección de los quistes tisulares son muy difíciles en las especies de talla grande, aun cuando se incluyen los tejidos de mayor preferencia del parásito (Bayarri et al., 2012). Dubey et al. (1996) demostraron que en el cerdo, la detección de 1 taquizoíto es posible mediante el bioensayo a partir de 50g de tejido. Aunque se ha demostrado gran sensibilidad en la detección de *T. gondii* mediante los bioensayos con animales, esta técnica ha empezado a estar en desuso debido a que se requiere un gran número de animales,

resultando poco conveniente desde un punto de vista económico y ético (Bayarri et al., 2012). En este aspecto las técnicas de PCR han demostrado ser una buena opción para la detección del material genético de *T. gondii* en los tejidos, siendo la técnica de PCR en tiempo real (PCRc) la que permite la cuantificación del parásito en los mismos (Calderaro et al., 2006; Dubey, 2010; Uribarren, 2013; Juránková et al., 2014)

La sensibilidad y especificidad de las técnicas basadas en la PCR dependen en gran medida de un apropiado método de purificación del material genético desde las muestras, de las características de las secuencias de DNA elegidas para la amplificación y los parámetros de la reacción de amplificación por sí mismos (Switaj et al., 2005; Soma, 2010; Alejos et al., 2014).

En el caso de *T. gondii* la distribución no homogénea de los quistes tisulares en los tejidos, reducen enormemente la sensibilidad de las pruebas de PCR, ya que se emplean muestras pequeñas de tejido (50mg máximo) en comparación con los bioensayos en animales, en los cuales se emplean de 50g a 100g en la inoculación en ratones o 500g o más cuando se realiza en gatos (Bayarri et al., 2012). Por tal motivo se han desarrollado algunas metodologías para aumentar la capacidad de detección de la prueba, como son el caso de la metodología desarrollada por Dubey (1998) para la concentración del parásito a partir de 50g de tejido, mediante la digestión de los tejidos con solución de pepsina y centrifugaciones; o la metodología desarrollada por Opsteegh et al. (2010) mediante la digestión de los tejidos y la captura magnética del material genético de *T. gondii* a partir de 100g de tejido. Los resultados obtenidos con ambas metodologías son comparables con los obtenidos mediante los bioensayos, motivo por el cual ambas han quedado como referencia para los trabajos de cuantificación en tejidos (Bayarri et al., 2012).

La elección de tarjetas de amplificación para genes altamente repetitivos en el genoma de *T. gondii* también aumenta considerablemente la sensibilidad de las técnicas de PCR. El gen B1 es uno de los genes diana más empleados para la

cuantificación de *T. gondii* en tejidos ya que se encuentra repetido 35 veces en el genoma del parásito y además se encuentra conservado entre los diferentes linajes, otra tarjeta de amplificación que se utiliza con frecuencia es la dirigida a la fracción repetida 529pb que se encuentra repetida de 200 a 300 veces en el genoma del parásito (Dubey, 2010). A continuación se presenta un listado de los primers más utilizados para la estimación de la carga parasitaria de *T. gondii* en tejidos.

**Cuadro 2.** Tarjetas de amplificación, primers y fluorocromos empleados en la cuantificación de *T. gondii*.

Fluorocromo	Tarjeta de amplificación	Secuencia	Tamaño	Referencia
SYBR Green™	Gen B1	BE-F: CTCCTTCGTCCGTCGTAATATC BE-R: TGGTGTACTGCGAAAATGAATC	451pb	Edvinsson et al., 2004
SYBR Green™	SAG 1	F: CTGATGTCGTTCTTGCGATGTGGC R: GTGAAGTG-GTTCTCCGTCGGTGT	128pb	Yu et al., 2013
SYBR Green™	Gen B1	F: CGTCCGTCGTAATATCAG R: GACTTCATGGGACGATATG	98pb	Edvinsson et al., 2006
TaqMan™	529pb <i>RE</i>	F: CACAGAAGGGACAGAAGT R: TCGCCTTCATCTACAGTC RE probe: (JOE <sup>e</sup> )- CTCTCCTCCAAGACGGCTGG-(TAMRA <sup>f</sup> )	94pb	Edvinsson et al., 2006 Aigner et al., 2010 Gutierrez et al., 2010
TaqMan™	Gen B1	GENE_B1_TG-TX2F: CTAGTATCGTGCGGCAATGTG GENE_B1_TG-TX2R: GGCAGCGTCTCTTCTCTTTT GENE_B1_TG-TX2M1: 6-FAM)- CCACCTCGCCTCTTGG-(NFQ-MGB)	62 pb	Kompalic et al., 2007
TaqMan™	Gen B1	BE-F: CCCACAAGACGGCTGA BE-R: TGGTGTACTGCGAAAATGAATC TaqMan probe: (6-FAM)- CATTTGCAAAACAGCGGCAGCGTCT-(DQ)	248pb	Edvinsson et al., 2004
TaqMan™	529pb <i>RE</i>	TOX-9F: AGGAGAGATA TCAGGACTGT AG TOX-11R: GCGTCGTCTC GTCTAGATCG TOX-TP1: (6-FAM)-CCGGCTTGCC TGCTTTTCCT-(BHQ1)	524pb	Opsteegh et al., 2010 Juránková et al., 2013 Juránková et al., 2014

### III. OBJETIVO GENERAL

Estimar la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* y determinar la carga parasitaria en tejido cardíaco, lingual y músculo semimembranoso/grácil de la pierna de cerdo pelón mexicano (*Sus scrofa*) del estado de Yucatán, México.

#### 3.1. Objetivos específicos

Estimar la seroprevalencia de anticuerpos IgG contra *Toxoplasma gondii* en cerdos pelones (*Sus scrofa*) sacrificados en un centro de acopio del estado de Yucatán, México.

Determinar la carga parasitaria de *Toxoplasma gondii* en tejido cardíaco, lingual y músculo semimembranoso/grácil de pierna de cerdos pelones mexicanos (*Sus scrofa*) sacrificados en un centro de acopio del estado de Yucatán.

### IV. HIPÓTESIS

- La prevalencia de anticuerpos IgG contra *Toxoplasma gondii* en los cerdos pelones (*Sus scrofa*) será similar a la reportada para los cerdos *Sus scrofa domestica* ( $\geq 75\%$ ) en el estado de Yucatán, México.
- La carga parasitaria de *Toxoplasma gondii* será mayor en las vísceras comparadas contra el músculo grácil/semimembranoso de la pierna del cerdo pelón mexicano destinado para consumo humano.

## LITERATURA CITADA

1. Aigner, C.P., Da Silva, A.V., Sandrini, F., Osório, P.D.S., Poiares, L. & Largura, A. (2010). Real-time PCR-based quantification of *Toxoplasma gondii* in tissue samples of serologically positive outdoor chickens. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 105(7): 935-937.
2. Alejos Velásquez L.P., Aragón Martínez M.C. & Cornejo Romero A. (2014). Extracción y purificación de ADN. En *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos 1ª edición*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat), Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC), Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I).
3. Alvarado Esquivel, C., Estrada Malacon, S.O., Reyes Hernández, J.A., Trujillo López, J.I., Villena, I., Dubey, J.P. (2012). High prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in domestic pigs in Oaxaca State, México. *Journal of Parasitology*, 98(6): 1248-1250.
4. Alvarado Esquivel, C., Romero Salas, D., García Vázquez, Z., Crivelli Díaz, M., Barrientos Morales, M., López de Buen, L. & Dubey, J.P. (2014). Seroprevalence and correlates of *Toxoplasma gondii* infection in domestic pigs in Veracruz state, Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 46: 705-709. DOI 10.1007/s11250-014-0551-3.
5. Alvarado Esquivel, C.; García Machado, C., Alvarado Esquivel, D., González Salazar, A.M., Briones Fraire, C., Vitela Corrales, J., Villena; I. & Dubey, J.P. (2011). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic pigs in Durango State, Mexico. *Journal of Parasitology*, 97: 616–619.
6. Alvarado-Esquivel, C., Estrada-Martínez, S., Pizarro-Villalobos, H., Arce-Quiñones, M., Liesenfeld, O., Dubey, J. P. (2015a). Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in general population in a northern Mexican city. *Journal of Parasitology*, 97 (1): 40-43.
7. Alvarado-Esquivel, C., Pacheco-Vega, S.J., Hernández-Tinoco, J., Centeno-Tinoco, M.M., Beristain-García, I., Sánchez-Anguiano, L.F., Liesenfeld, O.,

- Rábago-Sánchez, E., Berumen-Segovia, O. (2015b). Miscarriage history and *Toxoplasma gondii* infection: a cross-sectional study in women in Durango City, Mexico. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 4 (2): 117-122. DOI: 10.1556/EuJMI.4.2014.2.4
8. Basso, W.U. & Venturini, M.C. (2009). Temas de Zoonosis IV. Capítulo 39. “La toxoplasmosis en los animales domésticos y silvestres criados en cautiverio: Aspectos epidemiológicos y diagnóstico”. Ed. Asociación Argentina de Zoonosis. Disponible en: <http://www.veterinariargentina.com/revista/2009/05/la-toxoplasmosis-en-los-animales-domesticos-y-silvestres-criados-en-cautiverio-aspectos-epidemiologicos-y-diagnostico/>
  9. Bayarri, S., Gracia, M.J., Lázaro, R., Pérez-Arquillué, C., Herrera, A. (2012). *Toxoplasma gondii* in meat and food safety implications - A Review, Zoonosis, Dr. Jacob Lorenzo-Morales (Ed.), ISBN: 978-953-51-0479-7, InTech, DOI: 10.5772/38833
  10. Beccara, L.A., Nicolini, G., Tonolli, E., Danzi, M.C., Concia, E. (2005). Handling toxoplasmosis in pregnancy: the Verona experience. *Clinical Microbiology and Infection*, 11 (2): 164.
  11. Borbolla-Sala, M.E., Izquierdo-Leyva, R., Piña-Gutiérrez, O.E., Martínez-González, G.A., López-López, D.M., & Ulin López, J. (2013). Redalyc. Taquizoítos de *Toxoplasma gondii*. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/487/48711306.pdf>
  12. Calderaro A., Piccolo G., Gorrini C., Peruzzi S., Zerbini L., Bommezzadri S., Dettori G. & Chezzi C. (2006). Comparison between two real-time PCR assays and a nested-PCR for the detection of *Toxoplasma gondii*. *ACTA BIOMED* 77:75-80.
  13. Canales, M., Navia, F., Torres, M., Concha, M., Guzmán, A.M., Pérez, C., & García, P. (2010). Evaluación de un test comercial de avidéz de IgG: Aporte al diagnóstico de primoinfección por *Toxoplasma gondii*. *Revista chilena de infectología*, 27(6): 499-504.

14. Dadimoghaddam, Y., Daryani, A., Sharif, M., Ahmadpour, E., Hossienikhah, Z. (2014). Tissue tropism and parasite burden of *Toxoplasma gondii* RH strain in experimentally infected mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7: 521-524.
15. Daryani, A., Sarvi, S., Aarabi, M., Mizani, A., Ahmadpour, E., Shokri, A., Rahimi, M.T., Sharif, M. (2014). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in the Iranian general population: A systematic review and meta-analysis. *Acta Tropica*, 137: 185-194.
16. Dubey, J.P. (1998). Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. Short communication *Veterinary Parasitology* 74: 75-77
17. Dubey, J.P. (2010). *Toxoplasmosis of animals and humans* second edition. CRC Press, USA.
18. Dubey, J.P., Hill, D.E., Rozeboomb, D.W., Rajendrana, C., Choudharya, S., Ferreira L.R., Kwok, O.C.H., Suc, C. (2012). High prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* isolated from organic pigs in northern USA. *Veterinary Parasitology* 188: 14–18.
19. Dubey, J.P., Lindsay, D.S. & Speer C.A. (1998). Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites and biology and development of Tissue cyst. *Clinical Microbiology Reviews*, 11 (2): 267-299.
20. Dubey, J.P., Lunney, J.K., Shen, S.K., Kwok, O.C.H., Ashford, D.A. & Thulliez, P. (1996). Infectivity of low numbers of *Toxoplasma gondii* oocyst to pigs. *The Journal of Parasitology*, 82(3): 438-443.
21. Edvinsson B., Jalal S., Nord C.E., Pedersen B.S. & Evengard B. (2004). DNA extraction and PCR assays for detection of *Toxoplasma gondii*. *APMIS* 112: 342–8.
22. Fazaeli, A. & Ebrahimzadeh, A. (2007). A new perspective on and re-assessment of SAG2 locus as the tool for genetic analysis of *Toxoplasma gondii* isolates. *Parasitology Research*, 101:99-104.

23. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). “*Fuentes de carne*”. Consultado el 4 de Junio del 2014. Disponible en: [http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr\\_sources.html](http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr_sources.html)
24. Fornazari, F., Langoni, H., da Silva, R. C., Guazzelli, A., Ribeiro, M. G., & Chiacchio, S. B. (2009). *Toxoplasma gondii* infection in wild boars (*Sus scrofa*) bred in Brazil. *Veterinary Parasitology*, 164(2–4): 333-334.
25. Frontera-Carrión, E.M., Pérez-Martín, J.E., Alcaide-Alonso, M., Reina-Esojo, M. (2009). *Parasitología parasitaria porcina en imágenes*. Ed. Grupo Asis. ISBN: 978-84-92569-12-0.
26. Galván-Ramírez, M.d.I.L., Troyo, R., Roman, S., Calvillo-Sanchez, C., & Bernal-Redondo, R. (2012). A systematic review and meta-analysis of *Toxoplasma gondii* infection among the Mexican population. *Parasites & Vectors*, 5(1): 271.
27. García Bocanegra, I., Perea Remujo, J., & Almería de la Merced, S. (2011). Current status of swine toxoplasmosis in Spain: review of recent seroepidemiological studies. *Suis*, 77: 24-31.
28. Gauss, C.B.L., Dubey, J. P., Vidal, D., Ruiz, F., Vicente, J., Marco, I., Lavin, S., Gortazar, C. & Almería, S. (2005). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild pigs (*Sus scrofa*) from Spain. *Veterinary Parasitology*, 131(1–2): 151–156.
29. Giraldo Restrepo, M.L. (2008). Toxoplasmosis. *Medicina & Laboratorio*, 14 (7-8):359-378.
30. Gómez Laguna, J., Hernández García, M., García Valverde, R., Moreno, P. J., Luque Moreno, I., & Astorga Márquez, R. J. (2011). Estudio de seroprevalencia de patógenos zoonóticos en el cerdo ibérico. *Suis*, 74: 20-28.
31. Hernandez Cortazar, I.B., Acosta Viana, K.Y., Guzman Marin, E., Ortega Pacheco, A. & Jiménez Coello M. (2014). Capítulo 9: “*Molecular diagnosis in Toxoplasmosis*”. En: M.L. Connor, *Recent advances in toxoplasmosis Research*, 1 edition (pp. 129-161). U.S.A.: Nova Science Pub Inc.
32. Hill, D.E., & Dubey, J.P. (2013). *Toxoplasma gondii* prevalence in farm animals in the United States. [Review]. *International Journal for Parasitology*, 43(2): 107-113.

33. Ibarra, F., Vera, Y., Alcalá, Y. (2009). Parasitología veterinaria. Volumen 1 Protozoarios. Editorial Acastdel. México, DF.
34. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) (2010). Programa de documentación de casos de éxito. "Rescate, conservación y utilización sustentable del Cerdo Pelón Mexicano *Sus scrofa* en Yucatán". Fondo CONACYT-SAGARPA.
35. Jiang, H.H., Huang, S.Y., Zhou, D.H., Zhang, X.X., Su, C., Deng, S.Z., Zhu, X.Q. (2013). Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* from pigs from different localities in China by PCR-RFLP. *Parasite & Vectors*, 6(1): 227.
36. Jiménez-Coello, M., Acosta-Viana, K.Y., Guzmán-Marín, E., Gutiérrez-Ruiz, E.J., Rodríguez-Vivas, R.I., Bolio-González, M.E., Ortega-Pacheco, A. (2013). Presencia de anticuerpos de *Toxoplasma gondii* en cerdos y gatos de traspatio en una región endémica tropical de México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 16: 89-92
37. Jones, J.L., Kruszon-Moran, D., Sanders-Lewis, K., Wilson, M. (2007). *Toxoplasma gondii* infection in the United States, 1999–2004, decline from the prior decade. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 77: 405-410.
38. Juránková J., Basso W., Neumayerová H., Baláz V., Jánová E., Silder X., Deplazes P., Koudela B. (2014). Brain is the predilection site of *Toxoplasma gondii* in experimentally inoculated pigs as revealed by magnetic capture and real-time PCR. *Food Microbiology*, 38:167-170.
39. Juránková, J., Opsteegh, M., Neumayerová, H., Kovarcík, K., Frencová, A., Baláz, V., Volf, J., Koudela, B. (2013). Quantification of *Toxoplasma gondii* in tissue samples of experimentally infected goats by magnetic capture and real-time PCR. *Veterinary Parasitology*, 193: 95-99.
40. Kang, S. W., Doan, H.T.T., Noh, J.H., Choe, S.E., Yoo, M.S., Kim, Y.H., et al. (2013). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Trichinella spiralis* infections in wild boars (*Sus scrofa*) in Korea. *Parasitology International*, 62(6): 583-585.

41. Kaňková, S., Sulc, J., Nouzová, K., Fajfrlík, K., Frynta, D., & Flegr, J. (2013). Women infected with parasite *Toxoplasma* have more sons. *Naturwissenschaften*, 94(2): 122-127.
42. Kompalic-Cristo A., Frotta C., Suárez-Mutis M., Fernandes O. & Britto C. (2007). Evaluation of a real-time PCR assay based on the repetitive B1 gene for the detection of *Toxoplasma gondii* in human peripheral Blood. *Parasitology Research*, 101:619–625.
43. Lehmann, T., Grahama, D.H., Dahla, E., Sreekumarb, C., Launerc, F., Cornd, J.L., et al. (2003). Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* on a pig farm. *Infection, Genetics and Evolution*, 3(2), 135–141.
44. López Morales, J.R., Martínez Gamba, R. & Salinas Ramos, G. (1999). El cerdo pelón mexicano antecedentes y perspectivas. *Ciencia y Cultura Latinoamericana*, S. A. de C.V. México, DF.
45. McConkey, G.A., Martin, H.L., Bristow, G.C., Webster, J.P. (2013). *Toxoplasma gondii* infection and behavior – locatioin, location, location?. *The Journal of Experimental Biology*, 216: 113-119.
46. Mohabati, R., Babaie, J., Amiri, S., Talebzadeh, M., Fard-Esfahani, P., Darbouy, M. & Golkar, M. (2013). Expression and purification of recombinant ROP1 of *Toxoplasma gondii* in bacteria. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 5(4): 227-233
47. Montoya, J.G. & Lisenfeld, O. (2004). Toxoplasmosis. *The LANCET*, 363: 1965-1976.
48. Mosti, M., Pinto, B., Giromella, A., Fabiani, S., Cristofani, R., Panichi, M., Bruschi, F. (2013). Short repor a 4-year evaluation of toxoplasmosis seroprevalence in the general population and in women of reproductive age in central Italy. *Epidemiology & Infection*, 141: 2192-2195.
49. Muñoz Hernández, S. & Mondragón Flores, R. (2009). *Toxoplasma gondii* un patógeno asesino reemergente. Departamento de Bioquímica. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV) IPN. México, DF. *Revista de Educación Bioquímica-UNAM*, 28(2): 52-58.

50. Muñoz, M., Liesenfeld, O., & Heimesaat, M.M. (2011). Immunology of *Toxoplasma gondii*. *Immunological Reviews*, 240(1): 269-285.
51. Opsteegh, M., Langelaar, M., Sprong, H., Hartog, L.D., Craeye, S.D., Bokken, G., Ajzenberg, D., Kijlstra, A. & der Giessen, J.V.D (2010). Direct detection and genotyping of *Toxoplasma gondii* in meat samples using magnetic capture and PCR. *International Journal of Food Microbiology*, 139: 193–201
52. Organización Panamericana de la Salud (OPS) (2013). Diagnóstico e investigación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por los alimentos. Disponible en línea: <http://publicaciones.ops.org.ar/publicaciones/publicaciones%20virtuales/libro ETAs/modulo3/modulo3l.html>.
53. Ortega-Pacheco, A., Acosta Viana, K. Y., Guzmán-Marín, E., Segura-Correa, J. C., Álvarez-Fleites, M., & Jiménez-Coello, M. (2013). Prevalence and Risk Factors of *Toxoplasma gondii* in Fattening Pigs Farm from Yucatan, Mexico. *BioMed Research International*, 2013, Article ID 231497. DOI:10.1155/2013/231497
54. Ortega-Pacheco, A., Acosta-Viana, K.Y., Guzman-Marin, E., Uitzil-Álvarez, B., Rodríguez-Buenfil, J.C., & Jiménez-Coello, M. (2011). Infection dynamic of *Toxoplasma gondii* in two fattening pig farms exposed to high and low cat density in an endemic region. *Veterinary Parasitology*, 175(3–4): 367-371.
55. Paternina Vivero, C. (2004). Guía de manejo de toxoplasmosis en el embarazo. Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, Asociación Bogotana de Obstetricia y Ginecología (Asbog).
56. Pérez, J.E., Villada-Gómez, J.S., Naranjo-Pérez, O.D. & Castaño, S.V. (2011). Formas alternativas de transmisión de *Toxoplasma gondii*. *Biosalud*, 10 (2) 124 -137.
57. Petersen, E. (2007). Toxoplasmosis. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 12(3): 214-223.
58. Puvanesuaran, V.R., Noordin, R., & Balakrishnan, V. (2013). Genotyping of *Toxoplasma gondii* Isolates from Wild Boars in Peninsular Malaysia. *PLoS One*, 8(4): 1-4.

59. Restrepo, M. (2007). Toxoplasmosis: zoonosis parasitaria. *Revista CES Medicina*, 21(1): 41-48
60. Ribera Pascuet, E. (2013). Toxoplasmosis medicina interna (2ª ed.) J. Rodés 1:1849-1852.
61. Rivera Fernández, N. & Mondragón Flores, R. (2010). Cistogénesis de *Toxoplasma gondii*\*. *Revista de Educación Bioquímica-UNAM*, 29(1): 13-18.
62. Sierra, V.A. (2002). Programa de conservación genética de una raza en peligro de extinción. III Simposium Iberoamericano sobre la conservación de los recursos zoogenéticos locales y el desarrollo rural sostenible. Montevideo, Uruguay. Sec. IV.3.
63. Silva, L.A., Andrade, R.O., Carneiro, A.C.A.V. & Vitor, R.W.A. (2014). Overlapping *Toxoplasma gondii* genotypes circulating in domestic animals and humans in southeastern Brazil. *PLoS One*, 9(2):e90237. doi:10.1371/journal.pone.0090237
64. Soma M. (2010). Análisis de la presencia de organismos genéticamente modificados en muestras de Alimentos, sesión nº4: Extracción y purificación de ADN. Organización Mundial de la Salud.
65. Su, C., Zhang, X. & Dubey, J.P. (2006). Genotyping of *Toxoplasma gondii* by multilocus PCR-RFLP markers: A high resolution and simple method for identification of parasites. *International Journal for Parasitology*, 36:841–848
66. Suárez, F., Jr., H.A., & Galisteo, A. (1999). Evaluación serológica del *Toxoplasma gondii* en suinos. Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BvRevistas/veterinaria/v10\\_n1/toxoplasmag.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BvRevistas/veterinaria/v10_n1/toxoplasmag.htm)
67. Sun, X., Lu, H., Jia, B., Chang, Z., Peng, S., Yin, J., Chen, Q., Jiang, N. (2013). A comparative study of *Toxoplasma gondii* seroprevalence in three healthy Chinese populations detected using native and recombinant antigens. *Parasites & Vectors*, 6: 241
68. Switaj K., Master A., Skrzypczak M. & Zaborowski P. (2005). Recent trends in molecular diagnostics for *Toxoplasma gondii* infections. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 11: 170–176.

69. Tait, E.D., & Hunter, C.A. (2009). Advances in understanding immunity to *Toxoplasma gondii*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 104(2): 201-210.
70. Taylor, M.A., Coop, R.L., Wall, R.L. (2007). Veterinary Parasitology third edition. Edit. Blackwell Publishing.
71. Uribarren Berrueta, T. (2013). Toxoplasmosis - Recursos en Parasitología - Departamento de Microbiología y Parasitología - UNAM. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/toxoplasmosis.html>
72. Vado-Solís, I.A., Suárez-Solís, V., Jiménez-Delgadillo, B., Segura-Correa, J.C. (2012). Estimación de la sensibilidad y especificidad de tres pruebas diagnósticas para la detección de *Toxoplasma gondii* en mujeres con aborto en dos localidades de Yucatán, México, utilizando un modelo bayesiano. Revista Biomédica, 23: 95-103.
73. Varela, N. (2001). La toxoplasmosis en los primates de nuevo mundo. Universidad Nacional de Colombia BOLETÍN GEAS, 2: 4.
74. Villari, S., Vesco, G., Petersen, E., Crispo, A., & Buffolano, W. (2009). Risk factors for toxoplasmosis in pigs bred in Sicily, Southern Italy. Veterinary Parasitology, 161(1–2): 1-8.
75. Vitalino, S.N., Mendoça, G.M., Maia de Sandres, F.A, Aranha-Camargo, J.S.A., Tarso, P., Basano, S.A., Damasceno e Silva, J.C., Krominki-Graça de Sousa, V., Cartonilho, G., da Silva de Almeida, A.T., Gennari, S.M., Aranha-Camargo, L.M. (2015). Epidemiological aspects of *Toxoplasma gondii* infection in riverside communities in the Southern Brazilian Amazon. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 48(3): 301-306.
76. Wang, Y. & Yin, H. (2014). Research progress on Surface antigen 1 (SAG1) of *Toxoplasma gondii*. Parasite & Vectors, 7:180
77. Webster, J.P. (2010). Review of Toxoplasmosis of Animals and Humans (Second Edition)" by J.P. Dubey (Vol. 3): Parasite & Vectors, 3:112

78. Weiss, L.M. & Kim, K. (2007). Bradyzoite development, in *Toxoplasma gondii*: The model Apicomplexan: Perspectives and methods. Elsevier. UK, 13: 342-365.
79. Yu H., Huang B., Zhuo X., Chen X. & Du A. (2013). Evaluation of real-time PCR assay based on the single-copy SAG1 gene for the detection of *Toxoplasma gondii*. Short communication, *Veterinary Parasitology* 197:670-673.

**ARTÍCULO (ORIGINAL RESEARCH) ELABORADO DE ACUERDO AL FORMATO DE LA REVISTA VETERINARY PARASITOLOGY.**

1 **SEROPREVALENCIA DE *Toxoplasma gondii* Y DETERMINACIÓN DE LA CARGA**  
2 **PARASITARIA EN TEJIDOS DE CERDO PELÓN MEXICANO (*Sus scrofa*).**

3

4 Dzib Paredes G.F.<sup>a</sup>, Rosado-Aguilar J.A.<sup>a\*</sup>, Acosta-Viana K.Y.<sup>b</sup>, Ortega-Pacheco A.<sup>a</sup>,  
5 Hernández-Cortázar I.B.<sup>b</sup>, Jiménez-Coello M<sup>b\*\*</sup>.

6

7 <sup>a</sup> Departamento de Salud Animal y Medicina Preventiva, Facultad de Medicina  
8 Veterinaria y Zootecnia. Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias.  
9 Universidad Autónoma de Yucatán. Carretera Mérida-Xmatkuil Km. 15.5 Apdo. Post:  
10 4-116 Itzimná. C.P. 97100, Mérida, Yucatán, México.

11

12 <sup>b</sup> Laboratorio de Biología Celular, Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo  
13 Noguchi” Unidad Biomédica. Universidad Autónoma de Yucatán. Avenida Itzáes #  
14 490 x 59 Centro. C. P. 97000. Mérida, Yucatán, México.

15

16 *\*Corresponding author:* CCBA-UADY, Km 15.5 carretera Mérida- Xmatkuil, Mérida,  
17 Yucatán, México. Tel.: +52 9999 42 32 00; fax: +52 9999 42 32 05.

18 *E-mail address:* alberto.rosadoaguilar@gmail.com (J.A. Rosado-Aguilar)

19 *\*\*Corresponding author:* Tel.: +52 999 9473423, *E-mail address:*  
20 mjcoello@correo.uady.mx

21

## 22 **Resumen**

23 El objetivo de este estudio fue estimar la seroprevalencia y determinar la carga  
24 parasitaria de *Toxoplasma gondii* en los tejidos cardiaco, lingual y músculo  
25 semimembranoso/grácil de la pierna en una población de cerdo pelón mexicano.  
26 Para esto se realizó un estudio transversal en 81 cerdos pelones de 9 - 12  
27 semanas de edad provenientes de 10 municipios del estado de Yucatán, México.  
28 La prevalencia se estimó mediante la determinación de anticuerpos IgG  
29 específicos para *T. gondii* mediante una ELISA indirecta en los sueros, y  
30 posteriormente se determinó la carga parasitaria en los tejidos propuestos  
31 mediante PCR en tiempo real (PCRC) la cual amplifica una fracción del gen B1 de  
32 *T. gondii*. La seroprevalencia encontrada en este estudio fue del 53% con  
33 variaciones en la frecuencia de casos identificados en los municipios incluidos en  
34 el estudio, que fueron desde la ausencia hasta un 100% de seropositividad. Así  
35 mismo, mediante la PCRC se detectó la presencia de *T. gondii* en un 8.6% (7/81)  
36 de los cerdos muestreados, observándose 9 muestras de tejido positivas con una  
37 carga parasitaria promedio por g de tejido de  $2.5 \pm 2.71$  para el tejido muscular de  
38 la pierna,  $0.26 \pm 0.39$  para el tejido cardiaco y  $0.31 \pm 0.39$  para el tejido lingual. Las  
39 proporciones y cargas parasitarias halladas entre tejidos no demostraron  
40 diferencia estadística ( $P > 0.05$ ). Se concluye que la seroprevalencia de  
41 *Toxoplasma gondii* en los CPM fue del 53% y 8.6% por ELISA y PCR,  
42 respectivamente. Los resultados de la PCRC demostraron que la carga parasitaria  
43 promedio en los tres tejidos evaluados fue similar, por lo que el consumo de los  
44 tres tejidos supone el mismo riesgo a la población para adquirir la infección.

45

46 **Palabras clave:** cerdo pelón mexicano, *T. gondii*, PCRc, seroprevalencia, carga  
47 parasitaria.

48

## 49 **1. Introducción**

50 La toxoplasmosis es una enfermedad zoonótica parasitaria ocasionada por el  
51 protozooario intracelular *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) (Muñiz & Mondragón, 2009;  
52 Muñoz et al., 2011). Desde el punto de vista de salud pública, la toxoplasmosis  
53 presenta una especial importancia, debido a que en los humanos, aunque es  
54 típicamente asintomática, puede desarrollarse también de manera severa,  
55 ocasionando encefalitis, desórdenes neurológicos, coriorretinitis, abortos o inclusive  
56 ser mortal en los infantes con toxoplasmosis congénita y en pacientes  
57 inmunocomprometidos (como es el caso de personas con SIDA, con problemas en  
58 medula ósea y pacientes receptores de órganos trasplantados) (Calderaro et al.,  
59 2006; Ribera, 2013). Entre las diferentes fuentes de transmisión de la toxoplasmosis  
60 hacia los humanos, se considera que existe un mayor riesgo de contraer la  
61 toxoplasmosis al consumir carne de cerdo poco cocida, debido a que en estos  
62 animales la carga parasitaria es mayor comparada con otras especies productivas  
63 (Lehmann et al., 2003; Opsteegh et al., 2010; Pérez et al., 2011).

64

65 En el cerdo americano (*Sus scrofa domestica*) se han documentado prevalencias  
66 de *T. gondii* en todo el mundo con variaciones que van del 11% al 100% (Villari et al.,  
67 2009; García et al., 2011; Ortega-Pacheco et al., 2011; Alvarado-Esquivel et al., 2011;

68 Alvarado-Esquivel et al., 2012; Hill & Dubey, 2013). En el caso del cerdo criollo (*Sus*  
69 *scrofa*), aunque son pocos los estudios a nivel mundial, se han reportado también  
70 diversas prevalencias que varían del 0% al 100% (Gauss et al., 2005; Puvanեսuaran  
71 et al., 2013). En México no existen estudios previos de prevalencia de *T. gondii*  
72 particularmente en poblaciones de cerdos criollos. En lo que respecta a la  
73 cuantificación de la carga parasitaria en los cerdos, son escasos los trabajos que  
74 aborden este tema desde un punto de vista cuantitativo, y la mayor parte de la  
75 información que se tiene hasta el momento se ha obtenido mediante técnicas  
76 cualitativas como es el caso de los bioensayos con ratones (Dadimoghaddam et al.,  
77 2014; Dubey, 2009; Dubey et al., 1996), donde se ha reportado mayor tropismo hacia  
78 cerebro, lengua, corazón y músculo esquelético (Lehmann et al., 2003; Opsteegh et  
79 al., 2010; Pérez et al., 2011).

80

81 En Yucatán el cerdo pelón mexicano (CPM) forma parte importante de la tradición y  
82 cultura de las unidades familiares campesinas (Sierra, 2002) y su crianza ha  
83 recobrado fuerza debido a las características organolépticas únicas de su carne, la  
84 cual posee un mejor sabor y calidad, por lo que actualmente la crianza de estos  
85 cerdos cuenta con el respaldo de instituciones de investigación locales, nacionales e  
86 internacionales (IICA, 2010). En la crianza del CPM comúnmente no se realiza ningún  
87 tipo de control para evitar enfermedades que pudieran afectarlos y hasta ahora no  
88 hay estudios epidemiológicos formales en este tipo de cerdos, pudiendo representar  
89 un riesgo en la transmisión de *T. gondii* al consumidor, sobre todo si la carne se  
90 consume cruda o mal cocida (López et al., 1999). Por lo cual el presente trabajo tiene

91 como objetivo estimar la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* y determinar la carga  
92 parasitaria en tejidos para consumo (cardiaco, lingual y músculo  
93 semimembranoso/grácil de la pierna) de cerdo pelón mexicano (*Sus scrofa*) del  
94 estado de Yucatán, México.

95

## 96 **2. Materiales y métodos**

### 97 **2.1. Área de estudio**

98 El estudio se realizó en el rastro de la Asociación Mexicana Especializada en  
99 Cerdos Criollos A.C. (AMECC) ubicado en el municipio de Tetziz, este municipio se  
100 localiza a 32 kilómetros al oeste de la ciudad de Mérida. En toda la región el clima  
101 es semiseco y cálido con lluvias en verano (Aw0). La temperatura promedio al año  
102 es de 26.9° C y la precipitación pluvial media es de 30.8 mm. Predominan los  
103 vientos procedentes del norte y del noreste (INAFED-SEGOB, 2010).

104

### 105 **2.2. Diseño de estudio**

106 Se realizó un estudio transversal prospectivo en una muestra de 81 cerdos criollos  
107 (cerdo pelón mexicano) destinados para consumo, el tamaño de la muestra para  
108 determinar la prevalencia se calculó con el programa WinEpiscope 2.0  
109 considerando el número de animales sacrificados al año (N= 500), una prevalencia  
110 esperada del 95% (Ortega-Pacheco et al., 2013), un nivel de confianza del 95% y  
111 un error del 5%.

112

113 Los cerdos pelones muestreados provinieron de 10 unidades productivas afiliadas  
114 a la AMECC en los municipios de Caucel, Conkal, Dzununcan, Halachó, Hunucmá,  
115 Kanasin, Sucilá, Kinchil, Tetiz y Teya. Como criterios de inclusión se consideró que  
116 los individuos incluidos en el estudio fueran CPM de entre 30-45 días de edad, y  
117 que hubiesen estado confinados dentro de las instalaciones de la AMECC (sistema  
118 semi-extensivo) desde el destete, con un peso de finalización de 8-9 kg.

119

### 120 **2.3. Obtención y conservación de muestras**

121 Las muestras de sangre se obtuvieron por punción en la vena cava anterior  
122 mediante el sistema Vacutainer ®. Los sueros se obtuvieron por centrifugación a  
123 448g por 10 minutos y se conservaron a -20°C hasta su uso posterior.

124

125 Las muestras de tejido cardiaco, lingual y músculo semimembranoso/grácil fueron  
126 colectadas después del sacrificio de los animales, el tejido cardiaco y lingual se  
127 colectaron completos, mientras que del tejido muscular de la pierna se colectó de  
128 3g a 5g, las muestras se colocaron por separado en bolsas de polipropileno y se  
129 etiquetaron con la identificación de cada animal. Las muestras se conservaron con  
130 geles refrigerantes en una nevera hasta su llegada al laboratorio donde se realizó  
131 la purificación de los ácidos nucleicos. La extracción del ADN genómico a partir de  
132 los tejidos se realizó con el estuche comercial DNeasy® Blood & Tissue (QIAGEN,  
133 Cat. No. 69506) siguiendo el protocolo del fabricante y adaptándolo a la  
134 metodología descrita por Dubey et al. (1998) para la detección de *T. gondii* en  
135 tejidos. Las muestras de tejido fueron homogenizadas mecánicamente en una

136 licuadora por 30 segundos en 5 mL de solución salina (NaCl 8.5%) por cada g de  
137 tejido, posteriormente se les añadió 5 mL de solución de pepsina por cada g de  
138 tejido (2.6g pepsina porcina Sigma Chemical, 5g NaCl y 7mL HCl, pH~1.10-1.20,  
139 para 250mL de solución) y se incubaron a 37°C por 1hr. El homogenizado fue  
140 filtrado a través de 2 capas de gaza y centrifugado a 1200xg por 10 min. El  
141 sobrenadante fue descartado y el sedimento fue resuspendido en 20mL de PBS  
142 (pH 7.2) y 15mL de solución de bicarbonato (1.2%) recién preparada (pH~8.3),  
143 nuevamente se centrifugó a 1200xg por 10 min y 25µL del sedimento fueron  
144 empleados para la extracción del ADN con el kit comercial (DNA Blood & Tissue.  
145 QIAGEN, No de Catalogo 69506).

146

#### 147 **2.4. Determinación de la presencia de anticuerpos IgG contra *T. gondii***

148 La presencia de anticuerpos IgG específicos para *T. gondii* se determinó mediante  
149 el estuche comercial Toxo IgG ELISA (Human-GmbH, Wiesbaden, GER, No. Cat.  
150 5120902), con la adaptación descrita por Figueroa Castillo et al. (2006), utilizando  
151 anti IgG de cerdo conjugado con peroxidasa de rábano (HRP). Las muestras de  
152 suero fueron analizadas a una dilución de 1:100, y el conjugado se utilizó a una  
153 dilución de 1:5000. La densidad óptica (DO) se registró en un espectrofotómetro  
154 xMark™ Microplate Spectrophotometer (BIO-RAD) a 450nm. Se consideraron  
155 como positivas todas aquellas muestras que estuvieran 15% por encima de la  
156 media del punto de corte (por sus siglas en inglés, CC) indicado en el estuche  
157 comercial (Jiménez-Coello et al., 2013; Ortega-Pacheco et al., 2013). Así mismo,  
158 se utilizaron controles negativos y positivos específicos de la especie *Sus scrofa*.

159 **2.5. Determinación de la carga parasitaria de *T. gondii* en tejidos mediante**

160 **PCR en tiempo real (PCRc)**

161 El control interno para asegurar la calidad de las muestras se realizó mediante una  
162 PCR en tiempo real (PCRc) en la cual se amplificó un fragmento de 135 pb del gen  
163 constitutivo Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) utilizando los primers  
164 sentido 5'-GACTTCAACAGCAACTCCCAC-3' y antisentido 5'-  
165 TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'. Cada reacción de PCRc se realizó empleando  
166 10µL SYBR-Green Supermix (Bio-Rad, No. Cat. 172-5271), 40µM de cada primer,  
167 100ng de muestra de DNA y H<sub>2</sub>O bidestilada en un volumen final de 20µL. El  
168 protocolo empleado fue: 3 minutos a 95°C , seguido de 39 ciclos de 10 segundos a  
169 95°C y 30 segundos a 55°C. Al final de la PCRc, se realizó una curva de disociación  
170 iniciando a una temperatura de 65°C con un incremento de 0.5°C cada 5 segundos  
171 hasta alcanzar los 95°C (Cencig et al., 2011) para comprobar que los productos  
172 amplificados correspondían al amplicón esperado.

173

174 La detección molecular de *T. gondii* se llevó a cabo mediante la técnica de PCRc  
175 empleando los primers GENE\_B1\_TG-TX2F (5'CTAGTATCGTGCGGCAATGTG 3')  
176 y GENE\_B1\_TG-TX2R (5'GGCAGCGTCTCTTCCTCTTTT 3') específicos para un  
177 fragmento de 62 pb del gen B1 de *T. gondii* y se utilizó la sonda TaqMan (5' (6-FAM)-  
178 CCACCTCGCCTCTTGG-(NFQ-MGB) 3'). Para cada reacción de PCRc se llevó a  
179 cabo en un volumen final de 25µL, conteniendo 1X de TaqMan Universal PCR Master  
180 mix (PE Applied Biosystems, No. Cat. 4304437), con una concentración de MgCl<sub>2</sub>  
181 ajustada en 5mM, 0.90µM de cada primer, 0.25µL de sonda marcada y 100ng de

182 DNA purificado. Las condiciones de la PCRc fueron: incubación inicial durante 2 min  
183 a 50°C, seguida por una etapa de 10 min a 95°C, posteriormente se realizaron dos  
184 etapas a 95°C durante 15 s y una etapa a 60°C durante 1 min durante 40 ciclos  
185 (Kompalic-Cristo et al., 2007).

186

187 Para llevar a cabo la cuantificación absoluta de los parásitos por tejido, se realizaron  
188 diluciones seriadas con cantidades conocidas de parásitos/mL (taquizoítos), que  
189 sirvieron para desarrollar una curva estándar de 8 puntos (con rangos de  $1 \times 10^{-2}$  a  
190  $1 \times 10^5$  parásitos/mL) en escala logarítmica, esta curva sirvió al software del  
191 termociclador para tiempo real como referencia para la cuantificación de la carga  
192 parasitaria por contrastación de los valores Ct (*cycle threshold*) de las muestras y su  
193 posición en relación a los valores Ct de la curva estándar incluida en cada round de  
194 PCRc. La carga parasitaria hallada por tejido, se ajustó a parásitos por g de tejido  
195 para facilitar la comparación estadística entre las muestras.

196

## 197 **2.6 Análisis estadístico**

198 Para determinar la normalidad de los datos obtenidos, se analizaron los mismos  
199 mediante un gráfico Q-Q, observándose que la distribución de los datos analizados  
200 no es normal, por tal motivo para determinar si existía diferencia estadística ( $p < 0.05$ )  
201 entre las cargas parasitarias halladas en cada tipo de tejido evaluado, se analizaron  
202 los datos mediante la prueba no paramétrica de kruskal Wallis, y posteriormente se  
203 realizó la comparación entre las medias de las cargas parasitarias por tejido mediante

204 la prueba de Wilcoxon, ambas pruebas se realizaron con el software estadístico  
205 InfoStat 2016e.

206

### 207 **3. Resultados**

208 La seroprevalencia de anticuerpos IgG anti *Toxoplasma gondii* en la población de  
209 cerdos pelones muestreados en este estudio fue del 53% (45/81) (Cuadro 1). Por  
210 municipios, la seroprevalencia IgG anti *T. gondii* más elevada se encontró en los  
211 animales provenientes del municipio de Sucilá con un 75% (6/8), seguido por los  
212 municipios de Teya con un 70% (14/20) y Kanasin con un 67% (4/6), el resto de los  
213 municipios se registraron frecuencias de anticuerpos anti *T. gondii* en un rango  
214 entre el 30% y 40%.

215

216 Después de procesar las muestras de tejido cardíaco, lingual y muscular de la pierna,  
217 como control interno se realizó una PCRc para amplificar un gen conservado en el  
218 genoma del hospedero (GAPDH). Únicamente las muestras que amplificaron al  
219 control interno fueron empleadas en la estimación de la carga parasitaria de *T. gondii*.  
220 Las muestras que amplificaron al control interno correspondieron al 66.6% (54/81) de  
221 las muestras de tejido muscular de la pierna, así como el 71.6% (58/81) de las  
222 muestras de tejido cardíaco y el 69.1% (56/81) de las muestras de tejido lingual,  
223 ningún cerdo fue descartado por no amplificar en los tres tejidos.

224

225 En la estimación de la carga parasitaria, 7 de los 81 cerdos pelones incluidos en el  
226 estudio fueron positivos a la presencia de *T. gondii* (8.6%), observándose en dos de

227 ellos (2.4%) la presencia del parásito en más de un tejido. Las muestras de tejido que  
228 dieron positivas a la PCRc fueron 9 en total y correspondieron 3 al tejido cardiaco, 3  
229 al tejido lingual y 3 al tejido muscular de la pierna (músculo semimembranoso/grácil),  
230 todas las muestras positivas fueron detectadas entre las concentraciones  $10^1$  y  $10^{-1}$   
231 de la curva estándar, en los cuadros 2 y 3 se muestran los resultados de la PCRc  
232 para las diferentes muestra de tejido. Es importante señalar que todos los cerdos  
233 positivos a la PCRc también fueron positivos a la prueba de ELISA.

234

235 Cuando se determinó la carga parasitaria promedio por gramo de tejido, se observó  
236 la carga más alta en el tejido muscular de la pierna (semimembranoso/grácil),  
237 seguido por el tejido lingual y el tejido cardiaco respectivamente (Figura. 1), sin  
238 embargo, cuando se realizó la comparación estadística entre los diferentes tipos de  
239 tejidos evaluados, mediante el estadístico de Kruskal Wallis ( $p=0.177$ ) y la post  
240 prueba post hoc de Wilcoxon, se determinó que no existe diferencia estadística entre  
241 la carga parasitaria de los tres tejidos (Cuadro 3).

242

#### 243 **4. Discusión**

244 En México son pocos los estudios que abordan el tema de la toxoplasmosis porcina,  
245 y particularmente no hay reportes disponibles en el caso de los CPM. En el presente  
246 trabajo los anticuerpos frente a *T. gondii* fueron detectados en un 53% de todos los  
247 cerdos muestreados, detectándose casos positivos en 9 de las 10 unidades  
248 productivas incluidas en el estudio. Aunque algunas seroprevalencias de *T. gondii*  
249 reportadas previamente en la zona de estudio han sido mayores (76%-95%), estas

250 poblaciones incluyeron animales de mayor edad (cerdos adultos) (Jiménez-Coello et  
251 al., 2011; Ortega-Pacheco et al., 2013) por lo que es de esperarse que en animales  
252 más jóvenes exista una prevalencia menor, esto se ha observado en otros trabajos  
253 realizados en México donde se ha comparado la prevalencia entre animales jóvenes  
254 y animales adultos, hallándose la prevalencia menor siempre en los grupos de menor  
255 edad. Por ejemplo, Alvarado et al. (2011), reportaron mediante la prueba de  
256 aglutinación modificada (MAT), una prevalencia del 22.5% (20/89) en cerdos de  
257 traspatio y del 16% (89/555) en cerdos criados en explotaciones intensivas en el  
258 estado de Durango; en ese estudio los investigadores describieron una prevalencia  
259 significativamente mayor ( $P<0.009$ ) en cerdos mayores a los 8 meses.  
260 Posteriormente estos mismos autores en 2012 reportaron en Oaxaca una prevalencia  
261 del 17.2%, describiendo prevalencias mayores en animales de más de 9 meses de  
262 edad (40%), en hembras (40%) y en animales provenientes de la zona del Istmo  
263 (33.3%) donde el clima es tropical (Alvarado-Esquivel et al., 2012).

264

265 Pese a que se ha documentado una prevalencia menor en cerdos jóvenes, los  
266 hallazgos de este estudio sugieren que más de la mitad de los individuos se infectan  
267 aun cuando tienen una edad muy corta (30-45 días) al momento del sacrificio.  
268 Posiblemente esto se deba a que el estado de Yucatán cuenta con las condiciones  
269 climáticas idóneas que favorecen la supervivencia del parásito en el ambiente, que  
270 aunado a la amplia diseminación de ooquistes, permiten su transmisión hacia las  
271 diversas especies animales que están expuestas incluyendo a los cerdos.

272

273 Otro aspecto a considerar en el caso de los cerdos, es que son capaces de adquirir  
274 la infección por *T. gondii* aun con dosis infectivas muy bajas (desde 1 ooquiste), por  
275 lo que son muy vulnerables aun en ambientes con poca contaminación con ooquistes  
276 (Dubey 1996). Por otra parte, existen condiciones particulares en cada unidad  
277 productiva, que aunque no fueron objetivo de evaluación en el presente estudio,  
278 pudieron haber influido en la frecuencia de *T. gondii* hallada por municipio, podrían  
279 mencionarse como ejemplos : el tipo de alimento ofrecido a los animales, la  
280 presencia o ausencia de gatos (que potencialmente pueden contaminar el agua, el  
281 suelo, vegetales y frutas que consumen los animales), así como la densidad de  
282 felinos dentro de las unidades productivas, ya que las altas densidades juegan un  
283 papel importante en la alta contaminación del ambiente, presencia de roedores (que  
284 pueden ser consumidos por los cerdos y que potencialmente pueden atraer a los  
285 felinos a las unidades productivas, e inclusive motivar el mantenimiento de los gatos  
286 en las granjas como método de control por depredación), canibalismo entre los  
287 cerdos y en general la implementación de medidas de higiene adoptadas en cada  
288 granja (Restrepo-Isaza, 2006; Tamayo et al., 2011; Mohamed et al., 2012; Ortega-  
289 Pacheco et al., 2013; Mirón, 2014).

290

291 Las condiciones de confinamiento (semi-extensivo), en las que fueron mantenidos los  
292 animales desde el destete hasta el momento del muestreo, también pudieron haber  
293 influido de manera importante en los hallazgos del presente estudio, algunos trabajos  
294 sugieren que los animales que se crían bajo este tipo de sistemas son más propensos  
295 a adquirir la toxoplasmosis, comparados con animales criados en sistemas

296 intensivos, esto posiblemente se deba a que en los sistemas al aire libre los animales  
297 están más expuestos al contacto con el suelo contaminado con ooquistes  
298 esporulados, o tienen mayor acceso al consumo de presas infectadas (como los  
299 roedores), además, no existen restricciones para el contacto entre los gatos u otros  
300 felinos con los cerdos, lo que puede influir directamente en la prevalencia de la  
301 toxoplasmosis en el hato (Bayarri et al., 2012; Kijlstra & Jongert, 2008). Finalmente  
302 es necesario señalar que en el presente estudio, aunque 1 de las 10 unidades  
303 productivas fue negativa mediante serología a *T. gondii* (IgG), el tamaño de muestra  
304 en esta unidad no fue suficiente (n=1) para considerarla como libre de infección.

305

306 En lo que respecta al tropismo y la carga parasitaria de *T. gondii* en los cerdos, son  
307 pocos los trabajos que abordan el tema desde un punto de vista cuantitativo, la  
308 mayoría de los trabajos realizados han medido el tropismo en tejidos basándose en  
309 métodos relativos como los bioensayos en ratones, midiendo el número de ratones  
310 positivos por inoculación con diferentes tejidos de animales artificialmente infectados  
311 (Dadimoghaddam et al., 2014; Dubey, 2009; Dubey et al., 1996). En el presente  
312 estudio se realizó la cuantificación absoluta de la carga parasitaria de *T. gondii* en el  
313 tejido cardíaco, lingual y muscular de la pierna de los cerdos pelones mediante una  
314 PCRc, observándose tropismo hacia los tres tejidos evaluados, es importante notar  
315 que aunque se ha reportado mayor tropismo hacia el cerebro, en el presente estudio  
316 no se pudo realizar la cuantificación en dicho tejido debido a restricciones impuestas  
317 por la AMECC en la toma de muestras, sin embargo los hallazgos obtenidos de los  
318 tres tejidos evaluados concuerdan con los estudios de tropismo previos donde se ha

319 descrito afinidad de *T. gondii* por el músculo cardiaco, el músculo esquelético y la  
320 lengua (Lehmann et al., 2003; Pérez et al., 2011), algunos autores sugieren que el  
321 tropismo en estos tejidos probablemente se debe a que en estos tejidos la respuesta  
322 inmune es limitada (Weiss & Kim, 2007).

323

324 Por otra parte, en el presente estudio se pudo observar que no existe diferencia  
325 estadística en la carga parasitaria de los 3 tejidos evaluados en esta población de  
326 cerdos pelones ( $P < 0.05$ ). En este aspecto los presentes hallazgos no coinciden con  
327 las investigaciones previas donde se ha descrito que las mayores cargas parasitarias  
328 se encuentran principalmente en lengua y tejido cardiaco. En un estudio realizado  
329 por Juránková et al. (2014), quienes inocularon de forma artificial a 6 cerdos de 4.5  
330 semanas con 5000 ooquistes de *T. gondii* del aislado CZ-Tiger (genotipo II), estos  
331 investigadores reportaron mediante una PCRc una mayor carga parasitaria en  
332 cerebro correspondiendo a 553.7 parásitos/g en promedio, seguido por tejido  
333 pulmonar 0.3 parásitos/g, tejido cardiaco 2.6 parásitos/g y músculo dorsal 0.6  
334 parásitos/g, en ese estudio se evaluó también el hígado, los riñones, el bazo, las  
335 extremidades anteriores y posteriores (pierna), encontrándose en promedio  $\leq 0.2$   
336 parásitos por gramo de tejido. En otro estudio Opsteegh et al. (2010) trabajaron con  
337 4 cerdos infectados de manera artificial (500,000 ooquistes de la cepa DX de *T.*  
338 *gondii*) y mediante una PCRc que amplificaba una fracción del 259pb *RE (Repeat*  
339 *Element)* reportaron que las mayores cargas del parásito se encontraron en tejido  
340 del cerebro (1234 parásitos/g), seguido por tejido cardiaco (52 parásitos/g), lingual  
341 (44 parásitos/g), músculo del lomo (2 parásitos/g) y diafragma (1 parásitos/g). Los

342 tejidos que no presentaron tropismo fueron los del músculo abdominal, músculos  
343 dorsales y músculos escapulares al no detectarse parásitos en ninguno.

344

345 Aunque la mayoría de los autores concuerda que los quistes tisulares tienen mayor  
346 afinidad por el sistema nervioso central, la lengua y el músculo cardíaco; en los cerdos  
347 infectados se ha observado variaciones en la carga parasitaria entre los diferentes  
348 tejidos (Lehmann et al., 2003; Dubey, 2009; Pérez et al., 2011; Bayarri et al. 2012),  
349 describiéndose además que la distribución de los quistes tisulares en los tejidos  
350 puede estar relacionada con el biotipo de *T. gondii* con el que fueron infectados los  
351 animales, así como la dosis infectante (Dubey, 2010). Aunado a lo ya mencionado,  
352 el tiempo transcurrido desde la infección juega también un papel importante en la  
353 distribución del parásito hacia los diferentes tejidos. En experimentos con roedores  
354 se ha demostrado que la carga parasitaria en los diferentes tejidos puede variar  
355 dependiendo del tiempo transcurrido desde la infección, observándose una carga  
356 parasitaria significativamente mayor en cerebro, hígado y sangre solo al inicio de la  
357 infección, observándose también que la carga parasitaria en corazón, músculo  
358 esquelético y los ojos aumenta y varía conforme avanza el tiempo (días post  
359 infección) (Dadimoghaddam et al., 2014). De este modo, el tiempo transcurrido  
360 desde la infección en los cerdos también podría explicar por qué en el presente  
361 estudio se registró una carga parasitaria sin diferencia estadística entre los tres  
362 tejidos evaluados.

363

364 El CPM es considerado como una opción para consumo en nuestra región,  
365 aprovechándose prácticamente todos los tejidos del animal en la elaboración de  
366 múltiples platillos, que van desde los bien cocidos hasta los de corte gourmet (tipo  
367 gazpacho, con poca o nula cocción). El haber identificado la presencia de *T. gondii*  
368 en los tres tejidos evaluados, indica un riesgo potencial para la salud pública, sobre  
369 todo si los procedimientos de preparación de la carne de los CPM no incluye un  
370 proceso de cocción donde la temperatura interna de la carne alcance los 67°C  
371 (Kijlstra & Jonget, 2008). Los resultados de este estudio ponen de manifiesto la  
372 necesidad de concientizar a la población de la región a consumir platillos de cerdo  
373 pelón en un término bien cocido, a fin de reducir la exposición y riesgo de infección.

374

## 375 **5. Conclusión**

376 La seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en los CPM fue del 53% y 8.6% por  
377 ELISA y PCR, respectivamente. Los resultados de la PCRc demostraron que la  
378 carga parasitaria promedio en los tres tejidos evaluados fue similar ( $P>0.05$ ), por  
379 lo que el consumo de los tres tejidos supone el mismo riesgo a la población para  
380 adquirir la infección.

381

## 382 **6. Perspectivas**

383 En vista de los resultados obtenidos en el presente estudio se sugiere realizar  
384 otros estudios que permitan determinar la tipificación de *T. gondii* en la población  
385 de CPM para identificar los biotipos que están implicados en las infecciones de  
386 esta población de animales para consumo; así mismo, se sugiere realizar la

387 determinación de la carga parasitaria en otros tejidos de interés, como es el caso  
388 del sistema nervioso central u otros tejidos que se consumen habitualmente (por  
389 ejemplo: pulmonar, renal y hepático) y en los cuales se ha documentado tropismo.

390

### 391 **AGRADECIMIENTOS**

392 Se agradece a la fundación Educación Superior-Empresa (FESE) (SIST-PROY:  
393 **CLAVE FMVZ-2014-0010**) y al Fondo Sectorial de Investigación en salud y Seguridad  
394 Social SSA/IMSS/ISSSTE-CONACYT (Clave: **CONACYT-SALUD-2012-01-181060**)  
395 por el financiamiento del proyecto de investigación.

396

397 Se agradece al CONACYT por la beca (304375) en el programa de Maestría del  
398 Posgrado Institucional del CCBA/UADY.

399 Se agradece a la McS. Abril Díaz Aguilar y a la M.V.Z. Gabriela Janett Flota Burgos  
400 por su apoyo durante la colecta y procesamiento de las muestras.

401

### 402 **REFERENCIAS**

403 Alvarado Esquivel, C., Estrada Malacon, S.O., Reyes Hernández, J.A., Trujillo López,  
404 J.I., Villena, I., Dubey, J.P., 2012. High prevalence of *Toxoplasma gondii*  
405 antibodies in domestic pigs in Oaxaca State, México. J Parasitol. 98(6): 1248-  
406 1250.

407 Alvarado Esquivel, C.; García Machado, C., Alvarado Esquivel, D., González Salazar,  
408 A.M., Briones Fraire, C., Vitela Corrales, J., Villena; I. & Dubey, J.P., 2011.

409 Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic pigs in Durango  
410 State, Mexico. J Parasitol. 97: 616–619.

411 Bayarri, S., Gracia, M.J., Lázaro, R., Pérez-Arquillué, C., Herrera, A., 2012.  
412 *Toxoplasma gondii* in meat and food safety implications - A Review, Zoonosis,  
413 Dr. Jacob Lorenzo-Morales (Ed.), ISBN: 978-953-51-0479-7, InTech, DOI:  
414 10.5772/38833.

415 Cencig, S., Colteli, N., Truyen, C., Carlier, Y., 2011. Parasitic Loads in Tissues of  
416 Mice Infected with *Trypanosoma cruzi* and Treated with AmBisome. PLoS Negl  
417 Trop Dis. 6, e1216. DOI:10.1371/journal.pntd.0001216

418 Dadimoghaddam, Y., Daryani, A., Sharif, M., Ahmadpour, E., Hossienikhah, Z., 2014.  
419 Tissue tropism and parasite burden of *Toxoplasma gondii* RH strain in  
420 experimentally infected mice. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 7, 521-  
421 524.

422 Dubey, J.P., 1996. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for  
423 cats. J Parasitol. 82, 957-61.

424 Dubey, J.P., 1998. Refinement of pepsin digestion method for isolation of  
425 *Toxoplasma gondii* from infected tissues. Short communication Vet. Parasitol.  
426 74, 75-77

427 Dubey, J.P., 2009. Toxoplasmosis in pigs-the last 20 years. Vet. Parasitol. 164, 89-  
428 103.

429 Dubey, J.P., 2010. Toxoplasmosis of animals and humans second edition. CRC  
430 Press, USA.

431 Figueroa-Castillo, J. A., Duarte-Rosas, V., Juárez-Acevedo, M., Luna-Pastén, H. &  
432 Correa, D., 2006. Prevalence of *Toxoplasma gondii* Antibodies in Rabbits  
433 (*Oryctolagus cuniculus*) From Mexico. *J. Parasitol.* 92 (2), 394-395

434 Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). “*Fuentes de carne*”.  
435 Consultado el 4 de Junio del 2014. Disponible en:  
436 [http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr\\_sources.html](http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr_sources.html)

437 Galván-Ramírez, M.d.I.L., Troyo, R., Roman, S., Calvillo-Sanchez, C., & Bernal-  
438 Redondo, R., 2012. A systematic review and meta-analysis of *Toxoplasma*  
439 *gondii* infection among the Mexican population. [Research]. *Parasit Vectors.* 5(1),  
440 271.

441 García-Bocanegra, I., Perea-Remujo, J., Almería de la Merced, S., 2011. Current  
442 status of swine toxoplasmosis in Spain: review of recent seroepidemiological  
443 studies. *Suis* 77, 24-31

444 Gauss, C.B.L., Dubey, J. P., Vidal, D., Ruiz, F., Vicente, J., Marco, I., Lavin, S.,  
445 Gortazar, C. & Almería, S., 2005. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild  
446 pigs (*Sus scrofa*) from Spain. *Vet Parasitol.* 131(1–2), 151–156.

447 Gómez-Laguna, J., Hernández-García, M., García-Valverde, R., Moreno-Moreno,  
448 P.J., Luque-Moreno, I., & Astorga-Márquez, R.J., 2011. Estudio de  
449 seroprevalencia de patógenos zoonóticos en el cerdo ibérico. *Suis* 74, 20-28.

450 Hill, D.E., Dubey, J.P., 2013. *Toxoplasma gondii* prevalence in farm animals in the  
451 United States. [Review]. *Int J Parasitol.* 43(2), 107-113.

452 Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) (2010). Programa  
453 de documentación de casos de éxito. “Rescate, conservación y utilización

454 sustentable del Cerdo Pelón Mexicano Sus scrofa en Yucatán”. Fondo  
455 CONACYT-SAGARPA.

456 Instituto para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (INAFED), Secretaría de  
457 Gobernación (SEGOB), 2010. Enciclopedia de los municipios de México.

458 Jiménez-Coello, M., Acosta-Viana, K.Y., Guzmán-Marín, E., Gutiérrez-Ruiz, E.J.,  
459 Rodríguez-Vivas, R.I., Bolio-González, M.E., Ortega-Pacheco, A., 2013.  
460 Presencia de anticuerpos de *Toxoplasma gondii* en cerdos y gatos de traspatio  
461 en una región endémica tropical de México. Tropical and Subtropical  
462 Agroecosystems 16, 89-92

463 Juránková J., Basso W., Neumayerová H., Baláz V., Jánová E., Silder X., Deplazes  
464 P., Koudela B., 2014. Brain is the predilection site of *Toxoplasma gondii* in  
465 experimentally inoculated pigs as revealed by magnetic capture and real-time  
466 PCR. Food Microbiol. 38, 167-170.

467 Kaňková, S., Sulc, J., Nouzová, K., Fajfrlík, K., Frynta, D., & Flegr, J., 2013. Women  
468 infected with parasite *Toxoplasma* have more sons. Naturwissenschaften,  
469 94(2), 122-127.

470 Kijlstra, A., Jongert, E. 2008. Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted  
471 by meat. Int J Parasitol. 38(12):1359-1370.

472 Kompalic-Cristo, A., Frotta, C., Suárez-Mutis, M., Fernandes, O., Britto, C., 2007.  
473 Evaluation of a real-time PCR assay based on the repetitive B1 gene for the  
474 detection of *Toxoplasma gondii* in human peripheral blood. Parasitol Res. 101,  
475 619-625. DOI 10.1007/s00436-007-0524-9

476 Lehmann, T., Grahama, D.H., Dahla, E., Sreekumarb, C., Launerc, F., Cornd, J. L.,  
477 et al., 2003. Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* on a pig farm. Infect  
478 Genet Evol. 3(2), 135–141.

479 López-Morales, J.R., Martínez-Gamba, R., Salinas-Ramos, G., 1999. El cerdo pelón  
480 mexicano antecedentes y perspectivas. Ciencia y Cultura Latinoamericana, S.  
481 A. de C.V. México, DF.

482 Mirón A., 2014. *Toxoplasma gondii*, ficha técnica. Disponible en:  
483 [http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes](http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Parasitos/Toxoplasma%20gondii.pdf)  
484 [%20biologicos/Fichas/Parasitos/Toxoplasma%20gondii.pdf](http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas/Parasitos/Toxoplasma%20gondii.pdf)

485 Mohamed, K., Kodym, P., Maly, M. & Rayah, I.E.L., 2012. Socio-economical risk  
486 factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in rural women at  
487 childbearing age in Sudan. Open Acces Scientific reports 1(10), 1-5. DOI:  
488 10.4172/scientificreports.488

489 Muñoz Hernández, S. & Mondragón Flores, R. (2009). *Toxoplasma gondii* un  
490 patógeno asesino reemergente. Departamento de Bioquímica. Centro de  
491 Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV) IPN. México, DF. Revista  
492 de Educación Bioquímica-UNAM, 28(2), 52-58.

493 Muñoz, M., Liesenfeld, O., & Heimesaat, M.M., 2011. Immunology of *Toxoplasma*  
494 *gondii*. Immunol Res. 240(1), 269-285.

495 Opsteegh, M., Langelaar, M., Sprong, H., Hartog, L.D., Craeye, S.D., Bokken, G.,  
496 Ajzenberg, D., Kijlstra, A., der Giessen, J.V.D., 2010. Direct detection and  
497 genotyping of *Toxoplasma gondii* in meat samples using magnetic capture and  
498 PCR. Int J Food Microbiol. 139, 193–201

499 Ortega-Pacheco, A., Acosta Viana, K. Y., Guzmán-Marín, E., Segura-Correa, J. C.,  
500 Álvarez-Fleites, M., & Jiménez-Coello, M. (2013). Prevalence and Risk Factors  
501 of *Toxoplasma gondii* in Fattening Pigs Farm from Yucatan, Mexico. BioMed  
502 Research International. DOI:10.1155/2013/231497

503 Ortega-Pacheco, A., Acosta-Viana, K.Y., Guzman-Marin, E., Uitzil-Álvarez, B.,  
504 Rodríguez-Buenfil, J.C., & Jiménez-Coello, M. (2011). Infection dynamic of  
505 *Toxoplasma gondii* in two fattening pig farms exposed to high and low cat  
506 density in an endemic region. Vet Parasitol. 175(3–4), 367-371.

507 Pérez, J.E., Villada-Gómez, J.S., Naranjo-Pérez, O.D., Castaño, S.V., 2011. Formas  
508 alternativas de transmisión de *Toxoplasma gondii*. Biosalud 10 (2), 124 -137.

509 Puvanesuaran, V.R., Noordin, R., & Balakrishnan, V., 2013. Genotyping of  
510 *Toxoplasma gondii* Isolates from Wild Boars in Peninsular Malaysia. PLoS One  
511 8(4), 1-4.

512 Restrepo-Isaza, M. 2006. Toxoplasmosis: zoonosis parasitaria. CES Medicina 21(1),  
513 41-48. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=261120985004>.

514 Rivera Fernández, N. & Mondragón Flores, R., 2010. Cistogénesis de *Toxoplasma*  
515 *gondii*\*. Revista de Educación Bioquímica-UNAM 29(1), 13-18.

516 Sierra, V.A., 2002. Programa de conservación genética de una raza en peligro de  
517 extinción. III Simposium Iberoamericano sobre la conservación de los recursos  
518 zoológicos locales y el desarrollo rural sostenible. Montevideo, Uruguay.

519 Suárez, F., Jr., H.A., & Galisteo, A., 1999. Evaluación serológica del *Toxoplasma*  
520 *gondii* en suinos. Rev. investig. vet. Perú 10 (1). Disponible en:  
521 [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BvRevistas/veterinaria/v10\\_n1/toxoplasmag.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BvRevistas/veterinaria/v10_n1/toxoplasmag.htm)

- 522 Tamayo, M.J., Tayupanta, D., Tobar, J., Vacacela, L., Valle, S., Vásconez, D.,  
523 Velasco, J., Villacís, R., & Villafuerte, M., 2011. Programa de control y  
524 prevención de toxoplasmosis en Ecuador. Catedra de salud pública y  
525 epidemiología. Universidad Central del Ecuador.
- 526 Villari, S., Vesco, G., Petersen, E., Crispo, A., & Buffolano, W., 2009. Risk factors for  
527 toxoplasmosis in pigs bred in Sicily, Southern Italy. *Vet Parasitol.* 161(1–2), 1-  
528 8.
- 529 Weiss, L.M. & Kim, K., 2007. Bradyzoite development, in *Toxoplasma gondii*: The  
530 model Apicomplexan: Perspectives and methods. Elsevier. UK. 13, 342-365.  
531

532 **Cuadro 1.** Seroprevalencias de anticuerpos IgG anti *T. gondii* por municipio de origen  
 533 en una muestra de cerdo pelón mexicano naturalmente infectados.

<b>Municipio</b>	<b>N</b>	<b>(+)</b>	<b>(-)</b>	<b>%</b>
<i>Teya</i>	20	14	6	70
<i>Caucel</i>	13	6	7	46
<i>Conkal</i>	1	0	1	0
<i>Tetiz</i>	7	3	4	43
<i>Dzununcan</i>	9	3	6	33
<i>Halachó</i>	7	2	5	29
<i>Hunucmá</i>	9	4	5	44
<i>Kanasin</i>	6	4	2	67
<i>Sucilá</i>	8	6	2	75
<i>Kinchil</i>	1	1	0	100
<b>Total</b>	<b>81</b>			<b>53</b>

534

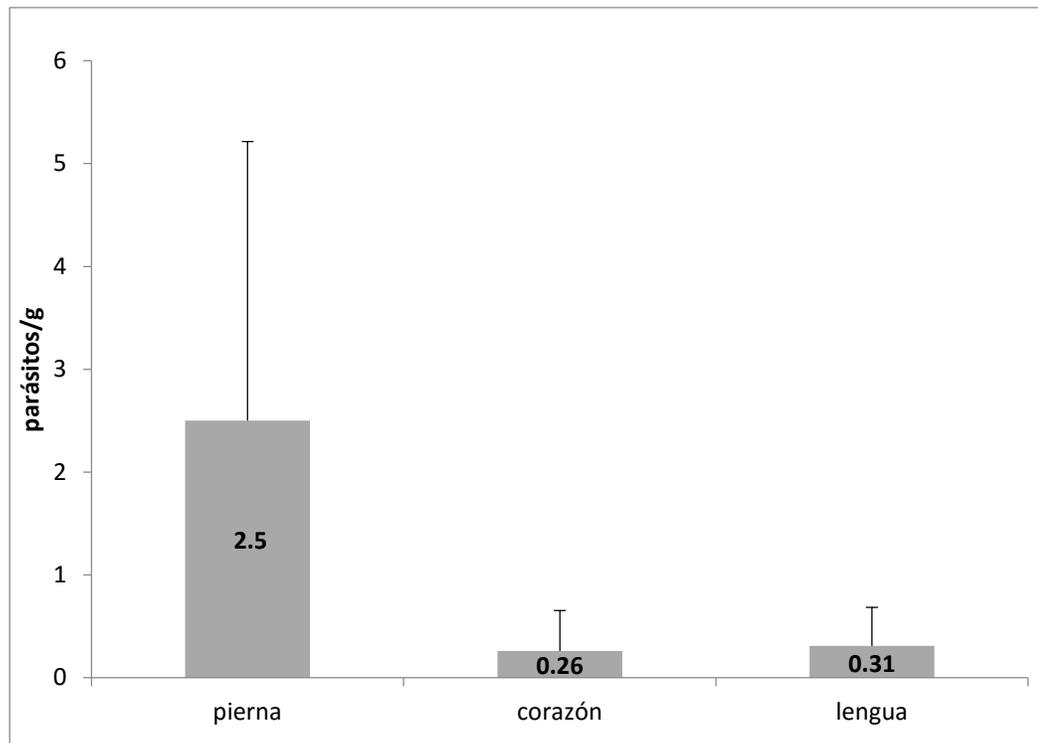
535 **Cuadro 2.** Casos positivos a *Toxoplasma gondii* mediante PCRc (gen B1) en una  
 536 población de cerdo pelón mexicano naturalmente infectados, carga parasitaria  
 537 hallada por tejidos y valores Ct (ciclo umbral, por sus siglas en inglés *cycle threshold*).

# cerdo	Pierna		Corazón		Lengua	
	parásitos/g	Ct	parásitos/g	Ct	parásitos/g	Ct
1	0.456	38.22				
2	N/E	---	0.009	40.12		
3	5.580	35.34	N/E	---	N/E	---
4			N/E	---	0.741	38.41
5	N/E	---	0.712	35.68	0.140	37.53
6					0.052	38.87
7	1.471	37.37	0.064	37	N/E	---

538 N/E= no evaluados, espacios en blanco corresponden a resultados negativos.

539 **Cuadro 3.** Resultados del control interno (GAPDH) y abundancia media de *T. gondii*  
 540 (parásitos/g) por tejidos con su desviación estándar y prueba de Wilcoxon (InfoStat  
 541 2016e) en una población de cerdo pelón mexicano naturalmente infectados.  
 542 MP= tejido muscular de la pierna, C= tejido cardiaco, L= tejido lingual.

Tejido analizado	<i>n</i>	n (control interno +)	Positivos <i>T. gondii</i>	Positivos (%)	$\bar{X}$ abundancia taquizoitos/g	Wilcoxon	p
Pierna	81	54	3	5.5	2.5±2.71	MP-C	0.0714
Corazón	81	58	3	5.1	0.26±0.39	C-L	0.9999
Lengua	81	56	3	5.3	0.31±0.37	L-MP	0.2806



543

544 **Figura 1.** Estimación de la carga parasitaria de *Toxoplasma gondii* mediante PCRc  
545 (gen B1) en 3 tejidos de cerdo pelón mexicano naturalmente infectados del estado  
546 de Yucatán.