

Búsqueda de *Toxoplasma gondii* (Eucoccidiorida: Sarcocystidae) en roedores silvestres de la península de Yucatán, México

Search for *Toxoplasma gondii* (Eucoccidiorida: Sarcocystidae) in wild rodents of the Yucatan Peninsula, Mexico

Marco Torres-Castro^{1,5}, José Dib-Márquez¹, J. Alonso Panti-May², Alejandro Suárez-Galaz¹, Henry Noh-Pech¹, Erendira Estrella³, Wilson Moguel-Chin³, Javier Sosa-Escalante⁴, Silvia Hernández-Betancourt³

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue detectar ADN de *Toxoplasma gondii* en muestras de músculo esquelético y de riñón recolectados de pequeños roedores silvestres, capturados en 10 localidades de la península de Yucatán, México (estados de Campeche, Quintana Roo y Yucatán) en 2018-2019. Se capturaron 127 roedores pertenecientes a siete especies. A todos ellos se les tomó un fragmento de músculo esquelético y de riñón para la extracción de ADN genómico. La identificación de *T. gondii* se realizó por medio de PCR anidada dirigida a un fragmento del gen *Bl* del parásito. La especie de roedor con el mayor número de individuos capturados fue *Heteromys gaumeri* (n=39). La PCR no identificó ADN de *T. gondii* en los órganos evaluados.

Palabras clave: infección, roedores, silvestres, *Toxoplasma gondii*, toxoplasmosis, zoonosis

¹ Laboratorio de Enfermedades Emergentes y Reemergentes, Centro de Investigaciones Regionales «Dr. Hideyo Noguchi», Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, México

² Laboratorio de Zoonosis y otras Enfermedades Transmitidas por Vector, Centro de Investigaciones Regionales «Dr. Hideyo Noguchi», Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, México

³ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, México

⁴ Laboratorio DIMYGeN, Mérida, México

⁵ E-mail: antonio.torres@correo.uady.mx

Recibido: 23 de septiembre de 2021

Aceptado para publicación: 5 de abril de 2022

Publicado: 29 de junio de 2022

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

ABSTRACT

The aim of this study was to detect *Toxoplasma gondii* DNA in skeletal muscle and kidney samples collected from small wild rodents, captured in 10 locations in the Yucatan Peninsula, Mexico (Campeche, Quintana Roo and Yucatan states) in 2018-2019. In total, 127 rodents of seven species were captured. A fragment of skeletal muscle and kidney was taken from all of them for genomic DNA extraction. The identification of *T. gondii* was carried out by nested PCR directed to a fragment of the *B1* gene of the parasite. The rodent species with the highest number of captured individuals was *Heteromys gaumeri* (n=39). The PCR did not identify *T. gondii* DNA in the organs evaluated.

Key words: infection, rodents, wild, *Toxoplasma gondii*, toxoplasmosis, zoonotic diseases

INTRODUCCIÓN

Toxoplasma gondii es un parásito protozoo intracelular obligado. Es agente causal de la toxoplasmosis, enfermedad zoonótica reemergente que tiene una distribución mundial y que, en individuos inmunocompetentes, cursa generalmente asintomática o con sintomatología muy leve; sin embargo, su importancia radica en la transmisión vertical en mujeres embarazadas que ocasiona alteraciones o malformaciones en el feto o abortos espontáneos (Tenter *et al.*, 2000; Grandía *et al.*, 2013). En individuos inmunocomprometidos afecta principalmente a los órganos del sistema nervioso central, ocasionando signos de focalización neurológica como desorientación, cefalea, trastornos del habla, etc. (Barba-De la Torre *et al.*, 2011). En México, los casos de toxoplasmosis son más frecuentes en habitantes de regiones con climas tropicales o subtropicales debido a las condiciones de alta temperatura y humedad que permiten el mantenimiento de los ooquistes infectantes en el ambiente (Hernández-Cortazar *et al.*, 2015). En este contexto, se ha sugerido que el calentamiento global tiene un papel determinante en la distribución, extensión y presencia de la enfermedad en regiones no endémicas (Robert-Gangneux y Darde, 2012).

Se considera que hasta un tercio de la población humana de adultos tiene evidencia de respuesta inmune (inmunoglobulinas [Ig]) contra *T. gondii* (Hernández-Cortazar *et al.*, 2015), con grandes variaciones en las frecuencias de anticuerpos entre habitantes de distintas regiones, dependiendo de las condiciones climáticas, higiene personal o comunitaria, los hábitos alimenticios, calidad de agua para consumo, tipo y método de crianza del ganado, entre otros (Tenter *et al.*, 2000; Barba-De la Torre *et al.*, 2011; Palmezano-Díaz *et al.*, 2015). La infección con *T. gondii* puede adquirirse a cualquier edad, por lo que la implementación de medidas preventivas es necesaria para limitar la transmisión, sobre todo en regiones donde la infección es endémica (Barba-De la Torre *et al.*, 2011).

En México, la infección es endémica, habiéndose reportado tasas de anticuerpos contra *T. gondii* entre 1 y 50%, llegando hasta 64% en los estados del Golfo de México y de las costas del Océano Pacífico (Hernández-Cortazar *et al.*, 2015). Específicamente, en el estado de Yucatán se han descrito frecuencias de IgG del 55% y del 20% para IgM en mujeres con abortos espontáneos (Vado-Solís *et al.*, 2013).



Figura 1. Mapa de la península de Yucatán, México, mostrando los sitios de captura (puntos rojos) de los roedores utilizados en la presente investigación. Las áreas verdes corresponden a la extensión (área municipal) del municipio al cual pertenece el sitio de captura. Los sitios están numerados según el orden cronológico de las capturas

Toxoplasma gondii es capaz de parasitar a un gran número de hospederos, entre ellos los intermediarios como el humano, y definitivos que son los felinos domésticos y silvestres³³. La infección activa se ha reportado en alrededor de 200 especies de hospederos vertebrados, mamíferos y aves. No obstante, los más importantes son los gatos domésticos (*Felis catus*) por ser las fuentes principales de infección para el humano (Tenter *et al.*, 2000; Mimica *et al.*, 2015; Khademvatan *et al.*, 2017).

El ciclo de transmisión de *T. gondii* es diverso y complejo porque puede transmitirse por diferentes mecanismos y vías. En este sentido, para la salud pública, la vía más importante es el consumo accidental de quistes tisulares en carne cruda o mal cocida o por consumo de fuentes de agua contaminada con ooquistes liberados en el ambiente

(Hernández-Cortazar *et al.*, 2015; Palmezano-Díaz *et al.*, 2015). Así mismo, la transmisión del parásito puede ocurrir de hospederos finales a hospederos intermediarios y viceversa, así como entre hospederos intermediarios sin la presencia necesaria de hospederos finales (Tenter *et al.*, 2000). Los pequeños roedores son relevantes en el ciclo de transmisión, dado que los gatos se infectan al consumir este tipo de animales con infecciones activas (Dubey *et al.*, 2006; Dabritz *et al.*, 2008). Igualmente, se ha demostrado que la circulación de roedores con anticuerpos contra el parásito es un factor importante para el contagio de los hospederos finales, al constituir una fuente de alimento para ellos (Navarro *et al.*, 2015). Ante esto, el objetivo del presente estudio fue detectar ADN de *T. gondii* en músculo esquelético y riñón recolectados de pequeños roedores silvestres capturados en la península de Yucatán, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de Captura

Los sitios de captura se distribuyeron en los tres estados que conforman la península de Yucatán, México: Campeche, Quintana Roo y Yucatán (Figura 1). Estos fueron seleccionados por su cercanía a caminos pavimentados o en buen estado (fácil acceso), disponibilidad de energía eléctrica y agua corriente y con zonas extensas de vegetación silvestre (conservadas sin manipulación o aprovechamiento).

- Sitio 1. Comisaría de Molas (20°47'54.5" N, 89°37'56.9" W), perteneciente al municipio de Mérida, Yucatán. Se ubica en la reserva ecológica *Cuxtal*. Clima cálido-subhúmedo con una temperatura media de 26 °C y precipitación pluvial de 850 a 1100 mm (Torres-Castro *et al.*, 2014; Sosa-Escalante *et al.*, 2017).
- Sitio 2. Comisaría de Dzununcán (20°51'31.7" N, 89°38'28" W), ubicada también en la reserva *Cuxtal*, Mérida, Yucatán. Tiene las mismas condiciones medioambientales (clima, temperatura media y precipitación pluvial media) que Molas (sitio 1). La vegetación dominante en ambos sitios es de selva baja caducifolia (Sosa-Escalante *et al.*, 2017).
- Sitio 3. Rancho Santa Rosa (21°08'54.4" N, 87°54'37.8" W), ubicado en el municipio de Tizimín, Yucatán. Tiene una temperatura media de 25.8 °C y precipitación pluvial de 1200 mm. La mayor parte del municipio está ocupado por pastos, forrajes y árboles maderables (INAFED, 2021a).
- Sitio 4. Municipio de Hunucmá (21°02'10.26" N, 89°53'00.6" W), Yucatán. Clima cálido semiseco con lluvias en verano, temperatura media de 26 °C y precipitación pluvial de 1200 mm. La vegetación dominante es la selva baja caducifolia (INAFED, 2021b).
- Sitio 5. Municipio de Sotuta (20°35'45.15" N, 89°0'33.96" W), Yucatán. Clima cálido subhúmedo con lluvias en verano, temperatura media de 24 °C y precipitación pluvial de 1100 mm. La vegetación dominante es la selva baja caducifolia (INAFED, 2021c).
- Sitio 6. Municipio de Dzemul (21°12'50.8" N, 89°19'39.2" W), Yucatán. Clima cálido-semiseco con lluvias en verano, temperatura media de 26.3 °C y precipitación pluvial de 1200 mm. La mayor parte de su territorio está dedicada al cultivo de henequén (*Agave fourcroydes*) y agricultura de temporal (INAFED, 2021d).
- Sitio 7. Eco-hotel '*Julie Jungle*' (20°50'54" N, 86°52'34" W), ubicado en el municipio de Puerto Morelos, Quintana Roo. Clima cálido subhúmedo con lluvias en verano, con temperatura media de 24 °C (centro) y de 28 °C (este) y con precipitación pluvial variada de 1000 (centro) a 1500 mm (este). La mayor parte de la vegetación está compuesta por selva mediana subperennifolia conservada (INEGI, 2017).
- Sitio 8. Centro recreativo ecoturístico '*Balam Nah*' (19°28'35.77" N, 88°4'2.07" W), ubicado en el municipio de Felipe Carrillo Puerto, Quintana Roo. Clima subhúmedo con lluvias en verano, con temperaturas medias de 24.6-28.4 °C y precipitación pluvial de 1322 mm. El tipo dominante de vegetación es similar a la del sitio 7 (INEGI, 2017).
- Sitio 9. Localidad de David Gustavo Gutiérrez Ruiz (18°53'44.85" N, 88°42'16.19" W), ubicado en el municipio de Bacalar, Quintana Roo. Clima cálido subhúmedo con lluvias en verano, con temperatura media de 24-28 °C. La mayor parte de su extensión está cubierta por selva con vegetación hidrófila y pastizales (INEGI, 2017).
- Sitio 10. Localidad de Zoh Laguna (18°35'36.45" N, 89°25'1.52" W), ubicada en el municipio de Calakmul, Campeche. Clima cálido subhúmedo con lluvias en ve-

rano con distintos subtipos. En la región de la biosfera y la fracción colindante con el municipio de Escárcega domina el clima cálido subhúmedo con lluvias en verano de media humedad (72% de la superficie regional). Calakmul ha sido descrito como predominantemente selva mediana subperennifolia con porciones de selva alta perennifolia, selva baja subperennifolia, sabanas y vegetación de hidrófitas (Galindo-Leal, 1999).

Lineamientos Bioéticos

La captura y el procesamiento de los animales se realizaron con aprobación del Comité de Bioética del Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CCBA) de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY) (Acta CB-CCBA-I-2018-001), Mérida, México. Para el procesamiento de los roedores se consideraron los lineamientos establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 que contiene las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio (<https://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/062ZOO.PDF>). Además, se consideraron los estatutos de la *American Society of Mammalogists* para el uso de animales silvestres en investigación (Sikes *et al.*, 2016) y los protocolos de bioseguridad descritos por el Centro de Prevención y Control de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos de América (Mills *et al.*, 1995; Mauldin *et al.*, 2016).

Captura de Roedores

Se realizó un periodo de captura de tres noches consecutivas en cada sitio de estudio. Las capturas fueron en septiembre (sitios 1 y 2) y noviembre (sitio 3) de 2018, y en enero (sitio 4), marzo (sitios 5 y 6), agosto (sitio 7) y septiembre (sitios 8, 9 y 10) de 2019. En cada lugar se colocaron 280 trampas Sherman (7.5 x 23 x 9 cm) distribuidas en transectos lineales (aproximadamente 5 m entre trampas) para cubrir la mayor parte de la superficie con vegetación conservada. Las

trampas se inspeccionaron durante las mañanas de los días de muestreo, substituyendo con una vacía aquellas con captura y colocadas en el mismo punto. Las trampas fueron cebadas con una mezcla de esencia artificial de vainilla y semilla de girasol o avena y se posicionaron en lugares protegidos de la luz solar y el calor.

Identificación y Manejo de los Roedores

Los roedores capturados fueron trasladados a una estación de campo (armada en el interior de cada sitio de estudio) para su identificación y procesamiento. Para la identificación de las especies se empleó la guía «Mamíferos de Centroamérica y del Sureste de México» de Reid (2009). Adicionalmente, se crearon bases digitales de datos (Microsoft Excel®) para depositar la información y obtener las frecuencias de captura por especie y por sitio de estudio.

Los animales fueron insensibilizados, anestesiados y eutanasiados previo a la toma de muestras biológicas. La insensibilización y anestesia se realizaron con isoflurano (Sofloran® Vet, PiSA®; México) y la eutanasia por dislocación cervical (Medina-Pinto *et al.*, 2019). Posteriormente, se realizó una necropsia para la recolección aséptica de un fragmento de músculo estriado y otro de riñón que se depositaron en microtubos para microcentrífuga de 1.8 ml, embebidos en etanol al 96% para su conservación y traslado al Laboratorio de Enfermedades Emergentes y Reemergentes (LEER) del Centro de Investigaciones Regionales «Dr. Hideyo Noguchi» (CIR), UADY.

Extracción y Viabilidad de ADN

Todos los fragmentos colectados de órganos se lavaron con agua destilada durante mínimo 5 min para retirar el exceso de etanol que interfiere con la calidad del proceso. Para la extracción del ADN total se empleó el kit comercial QIAamp DNA Mini Kit® (Qiagen®; Alemania) siguiendo las especificaciones del protocolo «DNA Purification

from liquids and fluids». Los productos obtenidos fueron evaluados con un espectrofotómetro (NanoDrop-2000®, Thermo Scientific®; EUA) para conocer su pureza y concentración. Consecutivamente, se depositaron a 4 °C hasta su empleo en las reacciones moleculares.

La viabilidad del ADN extraído se valoró a través de la amplificación de un fragmento del gen que codifica para la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH). Para lo cual se emplearon los oligonucleótidos (sentido: 5'-CTTTGGTATCGTGGAAGGAAGTTC-3' y antisentido: 5'-GTAGAGGCAGGGATGATGTTCT-3') y el control interno (Control GAPDH RNA) proporcionados en el RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit® (Thermo Scientific™; EUA). Las extracciones de ADN que presentaron el tamaño de banda deseado (496 pares de bases [pb]) fueron utilizados en la reacción para la identificación de ADN de *T. gondii*.

Detección de ADN de *T. gondii*

Para la detección molecular de ADN de *T. gondii* se realizó una PCR anidada de punto final con la finalidad de aumentar la sensibilidad y especificidad de la prueba (Campo-Portacio *et al.*, 2014). La reacción se dirigió a la amplificación de un fragmento de 560 pb del gen *Bl* del parásito. Para la primera etapa de la reacción se utilizaron los oligonucleótidos Pml/S1 5'-TGTTCTGTCCTATCGCAACG-3' (sentido) y Pml/AS1 5'-ACGGATGCAGTTCCTTTCTG-3' (antisentido). En la segunda etapa se usaron los oligonucleótidos Pml/S2 5'-TCTTCCAGACGTGGATTTTC-3' (sentido) y Pml/AS2 5'-CTCGACAATACGCTGCTTGA-3' (antisentido) (Sroka *et al.*, 2009).

El volumen final de los reactivos empleados en ambas etapas de la PCR anidada fue de 25 µl conformado de: 2.5 µl de PCR Buffer 5X, 2.5 mM de MgCl₂, 0.5 µl de dNTP's, 0.2 µM de cada oligonucleótido, 1U µl de Taq ADN polimerasa (Fermentas®;

EUA), 13.3 µl de agua ultrapura y 5 µl (53.2-246.5 ng/µl) de ADN templado. Se utilizaron las siguientes condiciones en el termociclador: desnaturalización inicial a 95 °C por 3 min, seguido de 35 ciclos de 30 s a 95 °C para desnaturalización, 30 s a 64.2 °C para hibridación y 45 s a 72 °C para elongación; concluyendo con un ciclo de 5 min a 72 °C para elongación final. Estas condiciones fueron utilizadas igualmente para la segunda etapa de la reacción.

En todas las reacciones se incluyó un control positivo, que consistió en ADN de *T. gondii* identificado en animales infectados de estudios previos conducidos en el LEER, y un control negativo que consistió en una mezcla de los reactivos de las reacciones más agua de grado biología molecular (sin ADN templado).

RESULTADOS

Se capturaron 127 roedores pertenecientes a siete especies. En el Cuadro 1 se presentan las familias, especies y el número total de individuos capturados por especie y por sitio de estudio. La especie con el mayor número de individuos capturados fue *Heteromys gaumeri* con 39 (se capturó por lo menos un individuo en cada sitio de estudio), seguida de *Peromyscus yucatanicus* con 35. Las especies *Reithrodontomys gracilis*, *Mus musculus* y *Rattus rattus* tuvieron el número menor de especímenes capturados con dos. El sitio con el número mayor de roedores capturados fue el 5 (Sotuta) con 30, seguido del sitio 10 (Zoh Laguna) con 16. En los sitios 5, 6 (Dzemul), 7 (Julie Jungle) y 10 se capturó el mayor número de especies distintas con cuatro.

Todas las extracciones de ADN presentaron la banda correspondiente al control de la enzima GAPDH. No se encontró evidencia de ADN de *T. gondii* en alguno de los órganos evaluados (músculo esquelético y riñones) (Figura 2).

Cuadro 1. Familias, especies y número de roedores capturados por sitio de estudio en la península de Yucatán, México

Familia	Especie	Sitios de estudio ¹										Roedores capturados (n)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Heteromyidae	<i>Heteromys gaumeri</i>	2	7	4	1	7	1	3	1	3	10	39
Cricetidae	<i>Ototylomys phyllotis</i>	3	0	1	10	7	9	5	0	0	0	35
	<i>Peromyscus yucatanicus</i>	1	1	0	2	3	3	6	10	2	0	28
	<i>Reithrodontomys gracilis</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2
	<i>Sigmodon toltecus</i>	0	0	0	0	12	0	0	3	0	4	19
Muridae	<i>Rattus rattus</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	2
	<i>Mus musculus</i>	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2
Total		6	8	5	13	30	15	15	14	5	16	127

¹ 1. Molas; 2. Dzununcán; 3. Rancho Santa Rosa; 4. Hunucmá; 5. Sotuta; 6. Dzemu; 7. Julie Jungle; 8. Balam Nah; 9. David Gustavo; 10. Zoh Laguna

DISCUSIÓN

Varias investigaciones han descrito que los roedores sinantrópicos y otros micromamíferos son protagonistas de los ciclos de transmisión de agentes etiológicos, como *Leptospira* spp, *Rickettsia* spp y *Trypanosoma cruzi*, que impactan de forma negativa en la salud pública y animal de la península de Yucatán (Reyes-Novelo *et al.*, 2011; Torres-Castro, 2017; Haro *et al.*, 2021; Pantimay *et al.*, 2021). Sin embargo, los estudios realizados con roedores silvestres capturados en ambientes conservados o con poca actividad antropogénica son escasos. Aunado a que, hasta donde los autores reconocen, no existen trabajos previos realizados con roedores capturados en Campeche o Quintana Roo que hayan intentado detectar la infección con *T. gondii* (Hernández-Cortazar *et al.*, 2015). En este contexto, y para contribuir con la comprensión de la cadena epidemiológica de *T. gondii* en la región, se decidió evaluar la infección activa con *T. gondii* en muestras de músculo esquelético

y riñón colectadas de pequeños roedores silvestres en ambientes naturales de la península de Yucatán.

A nivel internacional, los pequeños roedores han sido implicados como hospederos intermediarios de *T. gondii*, principalmente en países en vías de desarrollo (Araújo *et al.*, 2010; Khademvatan *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2019) y en áreas con poblaciones numerosas de felinos (hospederos finales), sobre todo gatos domésticos o ferales, ya que los pequeños roedores y otros animales insectívoros representan uno de los mecanismos de transmisión más relevantes (por ser presas habituales u ocasionales) para estos hospederos finales que a su vez diseminan al ambiente ooquistes de *T. gondii*, perpetuando el ciclo de transmisión y afectando a otros hospederos susceptibles como los humanos (DeFeo *et al.*, 2002; Dabritz *et al.*, 2008; Jittapalapong *et al.*, 2011; Machaëová *et al.*, 2016; Sroka *et al.*, 2019; Dubey *et al.*, 2021). En relación con esto, se indica que los roedores pueden llegar a representar dos terceras partes de la dieta de felinos silvestres, de-

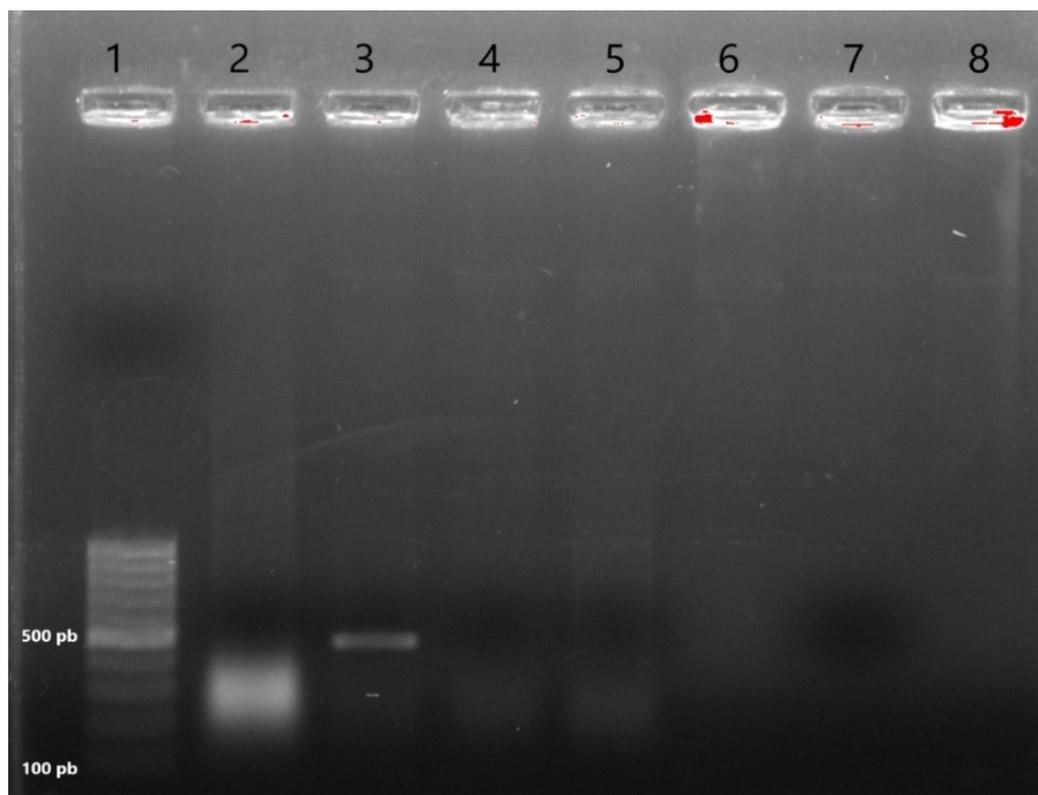


Figura 2. Gel de agarosa mostrando los productos negativos de PCR. Carril 1: marcador de peso molecular de 100 pares de bases (pb); carril 2: producto negativo; carril 3: control positivo de 560 pb; carriles 4-8: productos negativos

pendiendo de factores como su densidad poblacional, estación del año y presencia de otras presas como aves pequeñas (Dabritz *et al.*, 2008).

Las evidencias, obtenidas con herramientas de diagnóstico molecular de la infección activa con *T. gondii* en animales capturados en ambientes urbanos o suburbanos de Yucatán, han sido establecidas previamente. Animales como los roedores sinantrópicos *M. musculus* y *R. rattus* (Torres-Castro *et al.*, 2016a) y zarigüeyas *Didelphis virginiana* (Torres-Castro *et al.*, 2016b) han presentado frecuencias de infección de 5.3% (10/187) y 76.9% (10/13), respectivamente; hallazgos que difieren totalmente con los resultados de esta investigación. En lo relacionado con animales de ambientes silvestres de la misma

región, también se tuvo evidencias de la infección con *T. gondii* en murciélagos (11.6%, 8/69), incluyendo especies como *Artibeus jamaicensis*, *Glossophaga soricina* y *Chiroderma villosum* (Torres-Castro *et al.*, 2019a). En cadáveres de animales silvestres recolectados en carreteras, se describió la presencia de ADN de *T. gondii* en órganos como riñón y músculo esquelético de una ardilla (*Sciurus yucatanensis*), un coati (*Nasua narica*) y un grison mayor (*Galictis vittata*) (Torres-Castro *et al.*, 2019b).

No obstante lo anterior, este trabajo no es el primero que no logra establecer la presencia de ADN de *T. gondii* en tejidos colectados de roedores capturados en Yucatán. Previamente, Torres *et al.* (2016)

no encontraron evidencia del parásito en muestras de encéfalo tomadas de *M. musculus* y *R. rattus* (0/228) capturados en distintas localidades. Resultados similares exponen Herrmann *et al.* (2012) en 69 roedores *Microtus arvalis* capturados en Brandenburg, Alemania, con ausencia de infección en pulmón y corazón, y Saki y Khademvatan (2014) en muestras de cerebro, músculo e hígado de seis ejemplares *M. musculus* capturados en Irán. Recientemente, Krijger *et al.* (2020) reportaron la ausencia de infección en cerebros recolectados de roedores de las especies *Apodemus sylvaticus*, *Micromys minutus*, *M. arvalis*, *M. musculus*, *Ondatra zibethicus* y *R. rattus*.

Se asume que los pequeños roedores y otros mamíferos se infectan con *T. gondii* por diferentes vías y mecanismos, como la vía congénita (vertical), el canibalismo (Murphy *et al.*, 2008) y principalmente, por el consumo de alimentos o agua contaminados con ooquistes del parásito (Marshall *et al.*, 2004; Dabritz *et al.*, 2008; Thomasson *et al.*, 2011; Sroka *et al.*, 2019). No obstante, existen algunos factores que pueden explicar la ausencia de ADN de *T. gondii* en los órganos de los roedores utilizados en este trabajo. Uno de ellos es la baja o nula circulación de hospederos finales (felinos) en los sitios de estudio, lo que puede limitar considerablemente la circulación del parásito (Dabritz *et al.*, 2008). Aunque es difícil de aseverar, es importante señalar que, durante los días de captura, no se observaron gatos silvestres, domésticos o ferales. En relación con esto, Dabritz *et al.* (2008) describen que, en los sitios de captura de su investigación, tampoco se observaron felinos por lo que la contaminación ambiental o de las fuentes de alimento con ooquistes de *T. gondii* es limitada, contrario a lo que sucede en áreas con altas densidades de felinos como los sitios urbanizados (ciudades y otros asentamientos urbanos).

Otro factor pudo ser los efectos limitados antropogénicos en los sitios de captura,

ya que la alta perturbación de los ambientes está relacionada con la amplia distribución de los ooquistes y la transmisión activa de *T. gondii* en hospederos susceptibles, sobre todo en mamíferos pequeños (Gennari *et al.*, 2015). Adicionalmente, la falta de evidencia de ADN de *T. gondii* en los roedores silvestres sugiere que, dentro del ciclo silvestre de transmisión, estos animales no son la principal fuente de contagio, sino otros pequeños mamíferos como ardillas (Pinedo *et al.*, 2019), murciélagos (Torres-Castro *et al.*, 2019a), aves (Pinedo *et al.*, 2019) e incluso otros mamíferos medianos (Torres-Castro *et al.*, 2019b).

Aunque especulativa, otra de las causas que se puede relacionar con los resultados negativos, es la limitada cantidad de ooquistes del parásito en los órganos evaluados. Vujanija *et al.* (2011) indicaron que la prueba de PCR resulta negativa en órganos con pocos ooquistes de *T. gondii*, esto debido a la pequeña cantidad (25 µg) de tejido que se emplea en la extracción de ADN genómico. No obstante, la técnica de PCR para la identificación de *T. gondii* tiene valores elevados de sensibilidad y especificidad (Vujanija *et al.*, 2011; Saki y Khademvatan, 2014), por lo que su empleo en investigación y diagnóstico está ampliamente recomendado.

En relación con los tejidos evaluados, se decidió trabajar con músculo esquelético y riñón debido a que han sido previamente empleados en la detección de la infección con *T. gondii* en animales silvestres de la región (Torres-Castro 2019b); sin embargo, debido a la amplia cantidad de órganos que este parásito puede invadir, se recomienda realizar una nueva captura de roedores silvestres para incluir otros órganos como cerebro, corazón, hígado, linfonódulos, bazo y pulmón (Richini-Pereira *et al.*, 2016). Otra recomendación es aplicar pruebas serológicas en pequeños roedores de Yucatán para determinar la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* y verificar que estos animales han estado expuestos (o no) al parásito y, de esta forma, ampliar el panorama sobre su participación en el ciclo

epidemiológico de *T. gondii*. En relación con esto, Pinedo *et al.* (2019) reportaron frecuencias de anticuerpos contra *T. gondii* en roedores (*Rattus* spp) capturados en un zoológico de Lima, Perú.

CONCLUSIONES

- Se capturaron 127 pequeños roedores de siete especies en 10 localidades de la península de Yucatán, México.
- La especie con el mayor número de individuos capturados fue *Heteromys gaumeri*.
- No se encontró ADN de *T. gondii* en los órganos evaluados (riñón y músculo esquelético).

Agradecimientos

A las personas que permitieron utilizar las instalaciones de los sitios de estudio. El trabajo de campo fue financiado por el proyecto «Análisis y evaluación de los probables vectores y reservorios del virus del Ébola en México», CONACYT-251053, apoyado por el Fondo Sectorial de Investigación para la Educación.

LITERATURA CITADA

1. Araújo JB, da Silva AV, Rosa RC, Mattei RJ, da Silva RC, Richini-Pereira VB, et al. 2010. Isolation and multilocus genotyping of *Toxoplasma gondii* in seronegative rodents in Brazil. *Vet Parasitol* 174: 328-331. doi: 10.1016/j.vetpar.2010.08.039
2. Barba-De la Torre KY, Acevez-Pérez M, Díaz-Jiménez D. 2011. Toxoplasmosis. *Rev Med MD* 3: 78-84.
3. Campo-Portacio DM, Discuviche-Rebolledo MA, Blanco-Tuirán PJ, Montero-Pérez YM, Orozco-Méndez KE, Assia-Mercado YM. 2014. Detección de *Toxoplasma gondii* por amplificación del gen B1 en carnes de consumo humano. *Infectio* 18: 93-99. doi: 10.1016/j.infect.2014.05.001
4. Dabritz HA, Miller MA, Gardner IA, Packham AE, Atwill ER, Conrad PA. 2008. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in wild rodents from central coastal California and a review of *T. gondii* prevalence in rodents. *J Parasitol* 94: 675-683. doi: 10.1645/GE-1342.1
5. DeFeo ML, Dubey JP, Mather TN, Rhodes RC 3rd. 2002. Epidemiologic investigation of seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cats and rodents. *Am J Vet Res* 63: 1714-1717. doi: 10.2460/ajvr.2002.63.1714
6. Dubey JP, Bhaiyat MI, Macpherson CN, de Allie C, Chikweto A, Kwok OC, et al. 2006. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in rats (*Rattus norvegicus*) in Grenada, West Indies. *J Parasitol* 92: 1107-1108. doi: 10.1645/GE-902R.1
7. Dubey JP, Murata FHA, Cerqueira-Cézar CK, Kwok OCH, Su C. 2021. Epidemiological significance of *Toxoplasma gondii* infections in wild rodents: 2009-2020. *J Parasitol* 107: 182-204. doi: 10.1645/20-121
8. Galindo-Leal C. 1999. La Gran Región de Calakmul, Campeche: prioridades biológicas de conservación y propuesta de modificación de la Reserva de la Biosfera. Reporte final a World Wildlife Fund - México. México DF. 40 p.
9. Gennari SM, Ogrzewalska MH, Soares HS, Saraiva DG, Pinter A, Nieri-Bastos FA, et al. 2015. *Toxoplasma gondii* antibodies in wild rodents and marsupials from the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 24: 379-382. doi: 10.1590/S1984-29612015045
10. Grandía GR, Entrena GÁ, Cruz HJ. 2013. Toxoplasmosis en *Felis catus*: etiología, epidemiología y enfermedad. *Rev Inv Vet Perú* 24: 131-149.
11. Haro P, Trasviña-Muñoz E, May-Concha I, López-Valencia G, Monge-Navarro F, Herrera-Ramírez C, Mercado-Rodríguez JA, et al. 2021.

- Historical spatial distribution of zoonotic diseases in domestic, synanthropic, and wild animals in the Mexican territory of the Yucatan Peninsula. *J Trop Med* 2021: 8699455. doi: 10.1155/2021/8699455
12. **Hernández-Cortazar I, Acosta-Viana KY, Ortega-Pacheco A, Guzmán-Marín E, del S, Aguilar-Caballero AJ, Jiménez-Coello M. 2015.** Toxoplasmosis in Mexico: epidemiological situation in humans and animals. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 57: 93-103. doi: 10.1590/S0036-46652015000200001
 13. **Herrmann DC, Maksimov P, Maksimov A, Sutor A, Schwarz S, Jaschke W, Schliephake A, et al. 2012.** *Toxoplasma gondii* in foxes and rodents from the German Federal States of Brandenburg and Saxony-Anhalt: seroprevalence and genotypes. *Vet Parasitol* 185: 78-85. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.10.030
 14. **[INEGI] Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2017.** Anuario estadístico y geográfico de Quintana Roo 2017. [Internet]. Disponible en: https://www.datatur.sectur.gob.mx/ITxEF_Docs/QROO_ANUARIO_PDF.pdf
 15. **[INAFED] Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal. 2021a.** Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México. Estado de Yucatán. Tizimín. [Internet]. Disponible en: <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM31yucatan/municipios/31096a.html>
 16. **[INAFED] Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal 2021b.** Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México. Estado de Yucatán. Hunucmá. [Internet]. Disponible en: <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM31yucatan/municipios/31038a.html>
 17. **[INAFED] Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal. 2021c.** Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México. Estado de Yucatán. Sotuta. [Internet]. Disponible en: <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM31yucatan/municipios/31026a.html>
 18. **[INAFED] Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal. 2021d.** Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México. Estado de Yucatán. Dzemul. [Internet]. Disponible en: <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM31yucatan/municipios/31026a.html> Accessed 11 Aug 2021
 19. **Jittapalapong S, Sarataphan N, Maruyama S, Hugot JP, Morand S, Herbreteau V. 2011.** Toxoplasmosis in rodents: ecological survey and first evidences in Thailand. *Vector-Borne Zoonot Dis* 11: 231-237. doi: 10.1089/vbz.2009.0238
 20. **Khademvatan S, Foroutan M, Hazrati-Tappeh K, Dalvand S, Khalkhali H, Masoumifard S. et al. 2017.** Toxoplasmosis in rodents: a systematic review and meta-analysis in Iran. *J Infect Public Health* 10: 487-493. doi: 10.1016/j.jiph.2017.01.021
 21. **Krijger IM, Ahmed AAA, Goris MGA, Cornelissen JBWJ, Groot Koerkamp PWG, Meerburg BG. 2020.** Wild rodents and insectivores as carriers of pathogenic *Leptospira* and *Toxoplasma gondii* in The Netherlands. *Vet Med Sci* 6: 623-630. doi: 10.1002/vms3.255
 22. **Machaëová T, Ajzenberg D, Žáková A, Sedlák K, Bártová E. 2016.** *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wild small mammals: seroprevalence, DNA detection and genotyping. *Vet Parasitol* 223: 88-90. doi: 10.1016/j.vetpar.2016.04.018
 23. **Marshall PA, Hughes JM, Williams RH, Smith JE, Murphy RG, Hide G. 2004.** Detection of high levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in natural urban populations of *Mus domesticus*. *Parasitology* 128: 39-42. doi: 10.1017/s0031182003004189
 24. **Mauldin MR, Doty JB, Nakazawa Y, Emerson GL, Carroll DS. 2016.** The importance of mammalogy, infectious

- disease research, and biosafety in the field. *Manter* 2016: 3. doi: 10.13014/K27P8W9Z
25. **Medina-Pinto RA, Torres-Castro MA, Medina-Pinto RA, Bolio-González ME, Rodríguez-Vivas RI. 2019.** Natural *Cysticercus fasciolaris* infection in rodents from a rural area in Yucatan, Mexico. *Vet Mex* 6: 12-21. doi: 10.22201/fmvz.24486760e.2019.2.590
 26. **Mills JM, Childs JE, Ksiazek TG, Peters CJ. 1995.** Methods for trapping and sampling small mammals for virologic testing. Atlanta, USA: US Department of Human Health & Human Services. 61p.
 27. **Mimica F, Muñoz-Zanzi C, Torres M, Padilla O. 2015.** Toxoplasmosis, zoonosis parasitaria prevalente en Chile: recuento y desafíos. *Rev Chil Infectol* 32: 541-549. doi: 10.4067/S0716-101820-15000600008
 28. **Murphy RG, Williams RH, Hughes JM, Hide G, Ford NJ, Oldbury DJ. 2008.** The urban house mouse (*Mus domesticus*) as a reservoir of infection for the human parasite *Toxoplasma gondii*: an unrecognised public health issue? *Int J Environ Heal Res* 18: 177-185. doi: 10.1080/09603120701540856
 29. **Navarro MD, Chávez VA, Pinedo VR, Muñoz DK. 2015.** Factores de riesgo asociados a la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en mamíferos del Orden Carnivora y primates mantenidos en cautiverio. *Rev Inv Vet Perú* 26: 497-508. doi: 10.15381/rivep.v26i3.11175
 30. **Panti-May JA, Torres-Castro MA, Hernández-Betancourt SF. 2021.** Parasitos zoonóticos y micromamíferos en la península de Yucatán, México: contribuciones del CCBA-UADY. *Trop Subtrop Agroecosyst* 24: 1-11.
 31. **Palmezano-Díaz JM, Plazas-Rey LK, Rojas-Carvajal D. 2015.** Infección por toxoplasma: panorama actual. *Spei Domus* 11: 47-56. doi: 10.16925/sp.v11i22.1154
 32. **Pinedo VR, Chávez VA, Muñoz DK, Gonzáles-Viera O, Casas AE, Abad-**
 - Ameri D, et al. 2019.** Detección de anticuerpos y factores de riesgo asociados con *Toxoplasma gondii* en animales silvestres en un parque zoológico. *Rev Inv Vet Perú* 30: 883-901. doi: 10.15381/rivep.v30i2.16069
 33. **Reid F. 2009.** A field guide to the mammals of America Central and Southeast México. 2nd ed. USA: Oxford University Press. 435 p.
 34. **Reyes-Novelo E, Ruíz-Piña H, Escobedo-Ortegón J, Rodríguez-Vivas I, Bolio-González M, Polanco-Rodríguez A, et al. 2011.** Situación actual y perspectivas para el estudio de las enfermedades zoonóticas emergentes, reemergentes y olvidadas de la península de Yucatán, México. *Trop Subtrop Agroecosyst* 14: 35-54.
 35. **Richini-Pereira VB, Marson PM, Silva RC, Langoni H. 2016.** Genotyping of *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis* spp. in road-killed wild mammals from the Central Western Region of the State of São Paulo, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 49: 602-607. doi: 10.1590/0037-8682-0270-2016
 36. **Saki J, Khademvatan S. 2014.** Detection of *Toxoplasma gondii* by PCR and mouse bioassay in rodents of Ahvaz district, southwestern Iran. *BioMed Res Int* 2014: 383859. doi: 10.1155/2014/383859
 37. **Sikes RS, the Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists. 2016.** Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education. *J Mammal* 97: 663-688. doi: 10.1093/jmammal/gyw078
 38. **Sosa-Escalante JE, García-Gil G, Aguilar-Cordero W de J. 2017.** Modificación del programa de manejo de la zona sujeta a conservación ecológica reserva Cuxtal, Yucatán, México. Mérida, Yucatán, México: Centro para la Gestión de la Sustentabilidad. 165 p.

39. **Sroka J, Szymanska J, Wojcik-Fatla A. 2009.** The occurrence of *Toxoplasma gondii* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks from east Poland with the use of PCR. *Ann Agric Environ Med* 16: 313-319.
40. **Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. 2000.** *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol* 30: 1217-1258. doi: 10.1016/S0020-7519(00)00124-7
41. **Robert-Gangneux F, Dardé ML. 2012.** Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin Microbiol Rev* 25: 264-296. doi: 10.1128/CMR.05013-11
42. **Sroka J, Karamon J, Wójcik-Fatla A, Dutkiewicz J, Biliska-Zajac E, Zajac V, et al. 2019.** *Toxoplasma gondii* infection in selected species of free-living animals in Poland. *Ann Agr Env Med* 26: 656-660. doi: 10.26444/aaem/114930
43. **Thomasson D, Wright EA, Hughes JM, Dodd NS, Cox AP, Boyce K, et al. 2011.** Prevalence and co-infection of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in *Apodemus sylvaticus* in an area relatively free of cats. *Parasitology* 138: 1117-1123. doi: 10.1017/S0031182-011000904
44. **Torres-Castro MA, Gutiérrez-Ruiz E, Hernández-Betancourt S, Peláez-Sánchez R, Agudelo-Flórez P, Guillermo-Cordero L, Puerto F. 2014.** First molecular evidence of *Leptospira* spp in synanthropic rodents captured in Yucatan, Mexico. *Rev Med Vet-Toulouse* 165: 213-218.
45. **Torres MA, Medina DN, Panti JA, Hernández SF, Noh HR, Puerto FI. 2016.** Ausencia de evidencia molecular de *Toxoplasma gondii* en cerebros de roedores capturados en Yucatán, México. *Rev Colomb Cienc Anim* 9: 12-17.
46. **Torres-Castro MA, Medina-Espinosa DN, Panti-May JA, Hernández-Betancourt SF, Noh-Pech HR, Yeh-Gorocica AB, Gutiérrez-Ruiz EJ, et al. 2016a.** First molecular evidence of *Toxoplasma gondii* in synanthropic rodents (*Mus musculus* and *Rattus rattus*) captured in Yucatan, Mexico. *Rev Med Vet-Toulouse* 167: 250-255.
47. **Torres-Castro M, Noh-Pech H, Puerto-Hernández R, Reyes-Hernández B, Panti-May A, Hernández-Betancourt S, Yeh-Gorocica A, et al. 2016b.** First molecular evidence of *Toxoplasma gondii* in opossums (*Didelphis virginiana*) from Yucatan, Mexico. *Open Vet J* 6: 57-61. doi: 10.4314/ovj.v6i1.8
48. **Torres-Castro MA. 2017.** ¿Son los roedores sinantrópicos una amenaza para la salud pública de Yucatán? *Rev Biomed* 28: 179-186. doi: 10.32776/revbiomed.v28i3.566
49. **Torres-Castro M, Muñoz-Dueñas D, Hernández-Betancourt S, Bolio-González M, Noh-Pech H, Peláez-Sánchez R, Sosa-Escalante J, et al. 2019a.** Infección con *Toxoplasma gondii* (Eucoccidiorida: Sarcocystidae) en murciélagos de Campeche y Yucatán, México. *Rev Biol Trop* 67: 633-642. doi: 10.15517/rbt.v67i3.35147
50. **Torres-Castro MA, Medina-Pinto RA, Noh-Pech HR, Puerto FI, Rodríguez-Vivas RI. 2019b.** Molecular identification of *Toxoplasma gondii* in roadkill wild animals in Yucatan, Mexico. *Vet Méx* 6. doi: 10.22201/fmvz.244867-60e.2019.1.511
51. **Vado-Solís IA, Suárez-Solís V, Jiménez-Delgadillo B, Zavala-Velázquez JE, Segura-Correa JC. 2013.** *Toxoplasma gondii* presence in women with spontaneous abortion in Yucatan, Mexico. *J Parasitol* 99: 383-385. doi: 10.1645/GE-3189.1
52. **Vujanica M, Iovovic V, Kataranovski M, Nikolice A, Bobic B, Klun I, et al. 2011.** Toxoplasmosis in naturally infected rodents in Belgrade, Serbia. *Vector-Borne Zoonot Dis* 11: 1209-1211. doi: 10.1089/vbz.2010.0119
53. **Wang X, Dong L, Zhang L, Lv Y, Li Q, Li H. 2019.** Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* from wild rodents in Sichuan Province, Southwestern China. *Iran J Parasitol* 14: 106-110.