

35  
2ej



**Universidad Nacional Autónoma de México**

**Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán**

**DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE  
Toxoplasma gondii EN CARNE DE  
CABALLO POR MEDIO DE UNA  
PRUEBA BIOLÓGICA**



**T E S I S**

Que para obtener el título de:

**QUIMICA FARMACEUTICA BIOLÓGICA**

**P r e s e n t a :**

**GUILLERMINA DEL CARMEN GUADALUPE NUÑEZ PASTEN**

**Director: M.V.Z. Juan Pablo Martínez Labat**



**V N A M**

**Cuautitlán Izcalli, Edo. de México 1987**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# I N D I C E

	PAGINA
RESUMEN . . . . .	1
INTRODUCCION. . . . .	3
OBJETIVOS . . . . .	42
MATERIAL Y METODO . . . . .	43
RESULTADOS. . . . .	48
DISCUSION . . . . .	51
CONCLUSIONES. . . . .	53
BIBLIOGRAFIA. . . . .	54

## RESUMEN

La toxoplasmosis humana ha adquirido en la actualidad una gran importancia, debida a la alta frecuencia con la que se presenta, y por las variadas repercusiones que origina.

Se ha comprobado que una de las fuentes principales de infección para el humano es el consumo de carne cruda o insuficientemente cocida de los animales de abasto. Por este motivo se decidió realizar una investigación para demostrar la presencia del Toxoplasma gondii en la carne de caballo y mostrar la utilidad que presenta la prueba biológica de inoculación en ratones como técnica de diagnóstico.

Se procesaron un total de 40 muestras de carne de caballo, recién sacrificados en el rastro de equinos, ubicado en la calzada Ermita Ixtapalapa, delegación Ixtapalapa en México Distrito Federal. No se determinó la raza, el sexo, la edad y el lugar de origen de estos animales.

Por medio de la prueba biológica de inoculación en ratones se encontró que sólo 5 muestras de carne de caballo resultaron positivas por el hallazgo de Toxoplasma gondii en cada una de ellas. Se obtuvo entonces un 12.5% de prevalencia del parásito en la especie-

estudiada; sin embargo el método de diagnóstico utilizado no proporcionó un dato exacto sobre la incidencia de la infección, una de las razones para desconfiar de esta prueba es la dificultad para la localización del parásito en los cortes histológicos con las técnicas tintoriales rutinarias (tinción de Giemsa y tinción de hematoxilina y eosina), por lo tanto para conocer la verdadera incidencia de la toxoplasmosis en caballos es necesario efectuar pruebas inmunológicas las cuales son más precisas y confiables.

## INTRODUCCION

La toxoplasmosis representa una de las parasitosis más difundidas en el mundo y ataca tanto a los humanos como a los animales; el agente responsable del padecimiento es el Toxoplasma gondii, descubierto en el año de 1908 por Nicolle y Manceaux, el cual puede invadir cualquier órgano o tejido donde es capaz de producir múltiples lesiones y el padecimiento puede adoptar una gran variedad de manifestaciones clínicas (6, 37, 41).

Se trata de una enfermedad cosmopolita, con variaciones de un lugar a otro; la infección casi desconocida en las regiones frías aparece con gran frecuencia en las zonas tropicales y en los climas húmedos más que en los secos. No presenta variaciones en su frecuencia con relación a las épocas del año, ni por períodos anuales. La incidencia de la infección subclínica detectada a través de la investigación de anticuerpos aumenta con la edad, con variaciones en distintas partes del mundo (20, 37). Los anticuerpos aparecen con igual frecuencia en ambos sexos. Se sabe por estudios epidemiológicos que la infección fluctúa de un 20 a 80% en las diversas poblaciones estudiadas. Encuestas realizadas en nuestro medio para conocer la dispersión de la infección han dado resultados semejantes a los encontrados por otros investigadores (8, 20, 37).

## GENERALIDADES

La clasificación del Toxoplasma gondii es la siguiente:

Subreino:	Protozoa
Phylum:	Apicomplexa
Clase:	Sporozoea
Subclase:	Coccidia
Orden:	Eucoccidiida
Suborden:	Eimeriina
Familia:	Sarcocystidae
Subfamilia:	Toxoplasmatinae
Género:	<u>Toxoplasma</u>
Especie:	<u>Toxoplasma gondii</u> (39)

Los félidos ocupan un lugar singular en la historia natural - del Toxoplasma gondii, ya que además de ser hospedadores definitivos con una etapa sexual del parásito en su intestino, son también-hospederos intermediarios con una fase parasitaria tisular, extraen-térica y asexual que ocurre simultáneamente con la fase enteropite-lial. Los félidos son por consiguiente, hospedadores completos, - tanto definitivos como intermediarios. Por otra parte el parásito- posee una asombrosa falta de especificidad por el hospedero interme- diario, encontrándose en diversas especies de animales incluyendo -

el hombre, en los que el parásito tiene una fase exclusivamente extraintestinal (34, 38, 39).

El toxoplasma gondii es un parásito intracelular obligado por lo que no ha sido posible cultivarlo en medios sintéticos; el parásito se ha cultivado y conservado por períodos prolongados en cultivo de tejidos vivos, tales como huevos embrionarios de pollo y los medios hísticos, en los que se multiplica intracelularmente y da lugar a formaciones pseudoquisticas (7, 13, 37).

El parásito se puede encontrar por algún tiempo extracelular, en forma libre, en los líquidos orgánicos de las especies infectadas como humos acuoso, humor vítreo, leche, lágrimas, líquido ganglionar, orina, saliva, etc. (7, 37).

El Toxoplasma gondii se puede transmitir a los animales de laboratorio por diferentes vías como la transcutánea, cutánea, peritoneal, vaginal, nasal, siendo adecuados como animales de experimentación el ratón, conejo, rata, cobayo y criceto sirio (7).

La resistencia del Toxoplasma gondii frente a las influencias externas es relativamente grande. En los órganos de los animales muertos, por lo menos conservan su vitalidad durante 3 días a 20°C y en el cerebro a 4°C, durante 10-20 días.

Son muy resistentes al frío, congelados con glicerina soportan temperaturas de  $-70^{\circ}\text{C}$  durante 6 meses. En exudado peritoneal sin diluir se conservan vivos a la temperatura de laboratorio durante 18 días, a  $3-5^{\circ}\text{C}$  durante 32 días, entre  $-6$  y  $-8^{\circ}\text{C}$  durante 7 días, en exudado diluido al 10% a  $20^{\circ}\text{C}$  viven 7 días, a  $6^{\circ}\text{C}$  viven 10, a  $4^{\circ}\text{C}$  viven 14. A la temperatura de  $50^{\circ}\text{C}$  sucumben en 15 minutos y a  $55^{\circ}\text{C}$  en 5 minutos. Rápidamente desecados en exudado peritoneal o sustancias similares resisten por lo menos 30 minutos. Su resistencia frente a desinfectantes es relativamente grande, el fenol al 0.25% a la temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$  los destruye en 6 días; la formalina al 1% a los 20-25 minutos y el cloraseptol al 1% en 4 minutos (7, -17).

Los taquizoitos (trofozoitos de rápida multiplicación que se observan en las infecciones agudas) son menos resistentes que los bradizoitos (trofozoitos de multiplicación lenta que son observados en la forma crónica), según han demostrado numerosas investigaciones. La sustancia cerebral intacta conservada en caldo de carne a la temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$  es infectante todavía 6 semanas más tarde y suspensiones cerebrales en el mismo medio 24 días. Los bradizoitos mantenidos en tripsina al 1% siguen vivos durante 6 horas y los taquizoitos solamente 3 horas. Ambas formas parasitarias sometidas a la acción del jugo digestivo pierden igualmente su infecciosidad a las 3 horas y a los pocos minutos respectivamente (7).

Los ensayos in vitro han demostrado que los taquizoitos situados en jugo estomacal con pH de 1.1, 3.1, 3.2, 3.6 hasta 3.7 mueren entre los 20-20 minutos y los bradizoitos al cabo de dos horas y media (7).

#### EPIDEMIOLOGIA.

La transmisión de la toxoplasmosis es variada. En primer lugar se puede considerar la transmisión fecal de ooquistes esporulados, que realiza principalmente el gato doméstico, aunque también - los félidos en general, con los cuales los hospederos se pueden infectar por la ingestión o aspiración de ooquistes, como lo muestra un reporte de un reciente brote de toxoplasmosis que ocurrió en personas que frecuentaban un establo de caballos, los datos epidemiológicos sugirieron que la inhalación de partículas de polvo acarreado ooquistes, fué el método de transmisión (35, 40).

La eliminación del parásito hacia el exterior, a partir de un organismo infectado, se realiza por medio de la orina, saliva, secreciones nasales, oculares y vaginales, la leche y las heces (7, - 8, 35), lo que puede constituir una fuente de contagio cuando hay - infecciones externas a través de la piel, por las mucosas de los - ojos, nariz y vagina.

El hombre también se infecta al comer carne y órganos crudos o insuficientemente cocidos. En lo que respecta a los animales la transmisión puede ocurrir por necrofagia o por los hábitos carnívoros de algunos animales; afortunadamente las formas proliferativas son destruidas por el jugo gástrico, pero los quistes son un poco más resistentes (7, 9, 29, 34).

Otros alimentos animales en los que se ha encontrado el parásito son la leche y los huevos (9).

Un mecanismo de infección muy importante es la vía transplacentaria, la cual puede provocar toxoplasmosis congénita (37).

En ocasiones puede llevarse a cabo la transmisión de Toxoplasma por medio de otros parásitos tales como pulgas, piojos, garrapatas y chinches, al poco tiempo de haberse alimentado con un animal infectado a través de la picadura que hace contacto con sus deyecciones (7).

Las transfusiones sanguíneas se pueden considerar como una posible forma de transmisión, así como el trasplante de órganos y la contaminación con material de necropsia de animales de laboratorio, las mordeduras de los animales y el coito (9, 35).

El curso de la infección depende de muchos factores, tales como receptividad natural de la especie animal en cuestión y de su capacidad de reacción, sobre la que influyen diversas circunstancias, su constitución y la capa de Toxoplasma gondii, y de modo decisivo, la cuantía de dosis infectante inicial, así como las posibles reinfecciones. Pequeñas cantidades de Toxoplasma en general, dan lugar a infecciones latentes, mientras que las dosis altas originan agudas y pueden pasar hacia las formas crónicas.

La gran difusión del Toxoplasma en la naturaleza y por lo tanto la facilidad de transmisión a las más diversas especies de animales y al hombre, están favorecidas por la peculiar biología de los parásitos, la escasa especificidad por el hospedero, la posibilidad de localizarse en distintos órganos, su eliminación, su gran resistencia a los factores externos de la naturaleza y sus amplias posibilidades de infección (5, 7, 9, 10, 19).

#### MORFOLOGIA.

El parásito presenta varias formas a lo largo de su ciclo biológico.

a) ooquistes. Los ooquistes que aparecen en las heces de los gatos infectados son ovales, lisos, con pared doble, de color verde

claro cuando están vivos. Miden de 11-15  $\mu\text{m}$  por 9-11  $\mu\text{m}$ . Cuando han esporulado contienen esporoquistes ovales, de 6 por 8  $\mu\text{m}$ , cada uno con 4 esporozoitos encurvados, de 2 por 8  $\mu\text{m}$  y un cuerpo residual citoplásmico (32, 35).

b) esquizontes. Los esquizontes, que contienen los merozoitos bipolares y un cuerpo residual, se desarrollan dentro de las células epiteliales del intestino delgado. La microgametocitos presentan un núcleo compacto y gránulos citoplásmicos se encuentran en las células epiteliales del intestino delgado del gato (32).

Los trofozoitos de Toxoplasma gondii presentan dos variantes: los taquizoitos y los bradizoitos.

c) taquizoitos. Los taquizoitos son las formas proliferativas, las cuales se multiplican intracelularmente en casi todo tipo de células tienen forma de arco o de media luna que mide de 4 a 7  $\mu\text{m}$  de longitud por 2 a 5  $\mu\text{m}$  de ancho, el núcleo es prominente, la observación con un microscopio electrónico pone de manifiesto la presencia de varios organelos como son: aparato de Golgi, retículo endoplásmico y mitocondrias, peculiares son además el conoide y los toxonemas. La célula hospedadora que contiene numerosos taquizoitos, se llama pseudoquiste, cuando esta célula se llena de parásitos se rompe y los libera, penetrando posteriormente en células no infectadas (7, 32, 35).

d) bradizoitos. Los bradizoitos en oposición a los taquizoitos se dividen lentamente y su estructura difiere ligeramente de los taquizoitos, en que su núcleo esta situado hacia el extremo posterior, mientras que el núcleo del taquizoito es de localización central. Durante la fase crónica de la infección se enquistan. La forma quística tiene una membrana delgada elástica que encierra miles de bradizoitos y puede medir hasta 90  $\mu\text{m}$  (35, 39).

#### CICLO BIOLÓGICO.

El ciclo biológico del Toxoplasma gondii consiste en dos fases, la fase enteroepitelial y la fase extraintestinal o generalizada (Fig. 1). La fase enteroepitelial ocurre en los felinos y da como resultado la formación de ooquistes, los cuales son eliminados con las heces (32, 39).

Antes de 1970 estaba incompleto el conocimiento del ciclo biológico, con la identificación del estado fecal del Toxoplasma gondii en el gato, como ooquiste coccidiano, se ha logrado profundizar en este aspecto (39).

De manera concurrente se produce la fase extraintestinal, donde los organismos se propagan por vía hematogena o linfática y son responsables de la forma generalizada o sistémica de la toxoplasmo-

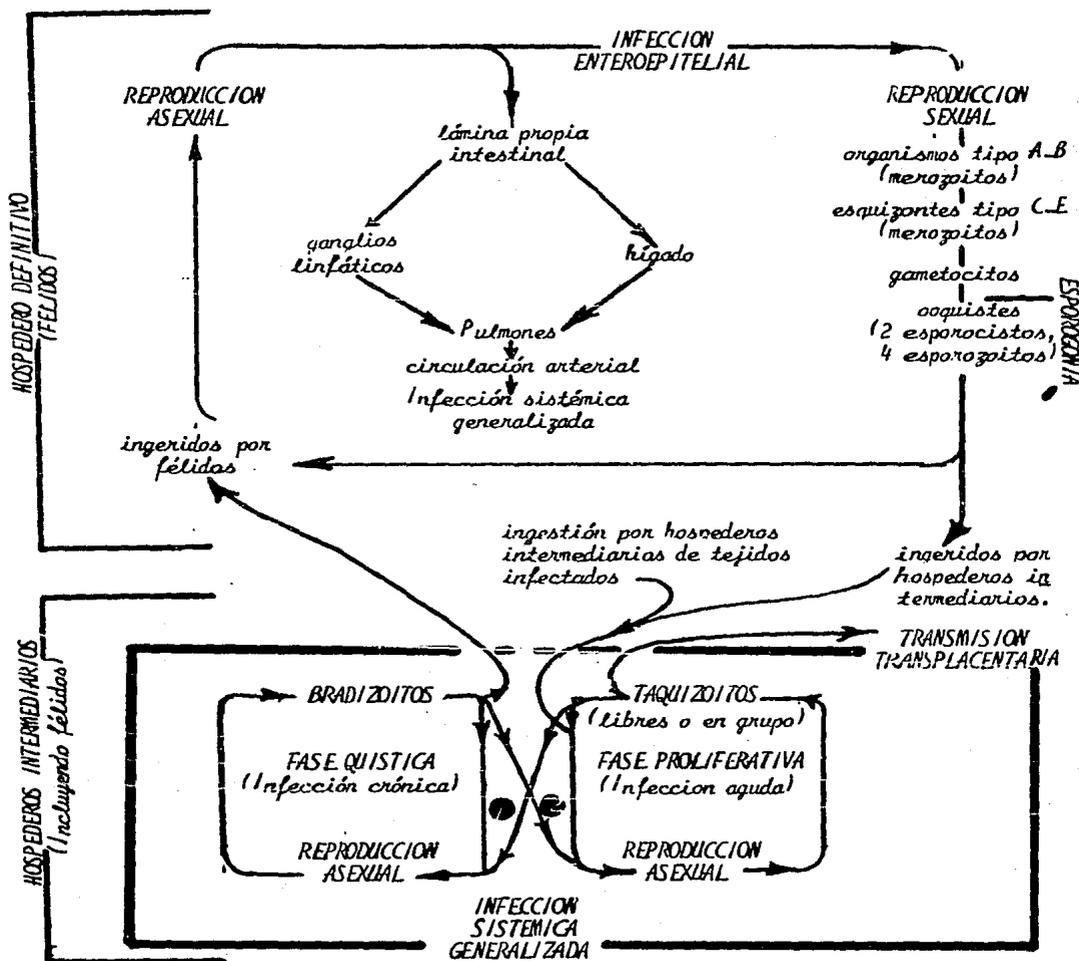


Fig 1. Ciclo biológico del *Toxoplasma gondii*. 1. La formación de quistes usualmente coincide con el desarrollo de la inmunidad. 2. Cuando la inmunidad declina o — cuando hay inmunosupresión, la infección crónica se puede convertir en aguda. (34).

sis. Esta es la forma más familiar de la enfermedad que ocurre en los hospederos intermediarios y también en los felinos.

Fase enteroepitelial. Esta fase se ha estudiado intensamente en gatos infectados por la ingestión de ooquistes esporulados (contaminación fecal de los alimentos) o por la ingestión de bradizoitos enquistados en tejidos de algún hospedero intermediario como pueden ser los roedores, ovinos, porcinos, caprinos, bovinos, equinos, etc. Se ha podido establecer que la administración por vía digestiva de taquizoitos no produce en ningún caso la subsiguiente eliminación de ooquistes (28, 34, 39).

Después de la ingestión, la acción de las enzimas del estómago y del intestino, disuelven la pared de los ooquistes y quistes, posteriormente los parásitos penetran en las células del epitelio intestinal del gato y se inicia la formación de nuevas generaciones. Se conocen cinco formas multiplicativas, designadas como tipo A, B, C, D y E, que varían en su forma de reproducción y se suceden. La tipo A aparece de 12-18 horas después de la ingestión y es la forma multiplicativa más pequeña, esto es evidente por los grupos de dos o tres organismos encontrados en el yeyuno, se divide por endodigonia (el parásito progenitor divide su núcleo en una primera etapa, después de replica el conoide y otras estructuras y posteriormente por una gemación interna se individualizan dos parásitos hijos). El

tipo B aparece de 12 a 54 horas después de la infección tiene un núcleo localizado centralmente y prominentes nucleólos, se divide por endodiogenia y endopoligenia (es una gemación interior múltiple que origina decenas de microorganismos). El tipo C se produce de 24 a 54 horas después de la infección y se divide por esquizogonia (reproducción intracelular en la cuál el esquizonte divide su núcleo varias veces, cada núcleo replica su conócide y estructuras para finalmente individualizarse como merozoito), son alargados y tienen núcleo subterminal. El tipo D aparece de 32 horas a 15 días después de la infección, se divide por endodiogenia, esquizogonia y por separación simple de merozoitos de la masa nuclear. Las formas del tipo D son más pequeñas que las del tipo C. El tipo E se divide por esquizogonia y este aparece de 3 a 15 días después de la infección y se parece al tipo D. Se ha indicado que esto es un tanto confuso, pues los tipos representan un grupo secuencial y las tres formas de división ocurren simultáneamente (28, 34, 35, 39).

Cuando aparecen los merozoitos tienen la capacidad de transformarse en gametocitos. Esto sucede al final del intestino delgado, es común en el ileón de 3 a 15 días después de la infección, donde los que tienen características masculinas evolucionan hasta microgametocitos y los que tienen femeninas lo hacen hasta macrogametocitos. El macrogametocito madura dentro de alguna célula del intestino delgado convirtiéndose en macrogameto, equivalente al ovu

lo; el microgametocito da origen a 6 microgametos, cada uno con un núcleo haploide. El macrogameto es fecundado por el microgameto y así se origina el ooquiste, posteriormente los ooquistes destruyen las células hospedadoras para quedar libres y posteriormente poder ser eliminados con las heces (34, 39).

Los ooquistes no son infectivos al principio de la eliminación pero lo son al madurar y esporular, lo que se logra en condiciones adecuadas de humedad, oxigenación y temperatura, desarrollando dos esporoblastos en 9-12 horas, los esporoquistes en 21 a 28 horas y los esporozoitos en 2 a 4 días. Los ooquistes resistentes permanecen infectantes hasta 12 meses en condiciones favorables (32, 34).

El período prepatente varía según la fase que ha causado la infección, en el caso de haber ingerido bradizoitos el período de prepatencia es de 3 a 5 días; después de ingerir ooquistes esporulados el período de prepatencia en los gatos es de 21 a 24 días (28, 34, 35, 39).

Generalmente la producción de ooquistes dura 14 días y los gatos infectados pueden eliminar millones de ooquistes en una sola evacuación. El cese de la producción de ooquistes es en general concurrente con el desarrollo de la inmunidad hacia Toxoplasma

gondi. (34).

Fase extraintestinal o generalizada. El parásito inicia el ciclo extraintestinal cuando el hombre u otro hospedero intermedio ingieren ooquistes esporulados o carne de animales que contienen bradizoitos. En la lámina propia del intestino se desarrollan los taquizoitos, que proligeran rápidamente. Los taquizoitos o formas proliferativas son llevados por los vasos linfáticos y la circulación venosa a los pulmones y al corazón desde donde pueden ser diseminados a la circulación arterial, también se difunden de célula a célula y son diseminados por macrófagos, linfocitos y otras células, además de circular como formas libres. Las formas libres desaparecen al poco tiempo, encontrándose los taquizoitos sólo en las células nucleadas, en las que se desarrolla rápidamente hasta destruirlas, los taquizoitos pueden invadir células nucleadas de cualquier tejido, pero parasitan preferentemente a las del sistema muscular y nervioso. Se multiplican en las células por endodigenia y endopoligenia y se forman acúmulos citoplasmáticos que se denominan pseudoquistes o colonias terminales. Al estallar la célula parasitada los taquizoitos pueden infectar nuevas células. Este período de proliferación corresponde a la fase aguda de la toxoplasmosis. El número de parásitos por célula puede llegar hasta un centenar y desde el punto de vista médico es importante hacer notar que en esta fase el parásito es vulnerable a los fármacos (34, 39).

A medida que se desarrolla la inmunidad del hospedero, empiezan a aparecer las formas de resistencia del parásito, o sea los verdaderos quistes con membrana propia. Los quistes pueden observarse una semana o dos después de la infección.

Cada quiste según su tamaño, puede contener desde centenares hasta miles de bradizoitos. La localización de los quistes es de preferencia en el cerebro, corioretina y músculos (diafragma y miocardio). Los quistes persisten en el organismo animal durante años o toda la vida del hospedero. El cerebro constituye un refugio especial para los quistes debido posiblemente al hecho de que está protegido contra los anticuerpos.

Los quistes tienen gran importancia en la epidemiología; los bradizoitos dentro de los quistes no son accesibles a los fármacos actualmente en uso. Si la inmunidad disminuye, los bradizoitos son capaces de iniciar una renovación de taquizoitos y proliferar (34, 39).

#### PATOGENIA.

Todas las formas evolucionan como estado infeccioso. Debido principalmente a la capacidad del parásito de invadir los tejidos, existen diversas formas clinopatológicas de toxoplasmosis que se

pueden clasificar así:

### I.- Toxoplasmosis congénita.

a) Fetal. Se observa de 1 a 2 de cada 1000 embarazos. A diferencia de la toxoplasmosis del adulto, la toxoplasmosis congénita es una enfermedad grave, que muchas veces es mortal, cuya gravedad varía en función de la edad del feto en el momento de la infección, y de la protección brindada por los anticuerpos maternos (6, 8, 16).

Durante la parasitemia de la mujer embarazada, la placenta se convierte en la estación de paso de la infección, donde el parásito produce lesiones necróticas inflamatorias y de esta manera los microorganismos pasan a la circulación fetal. Cuando esto se produce en las primeras semanas del embarazo (6-12), generalmente el embrión es destruido y al producirse el aborto sólo se encuentra líquido en la cavidad; en los cortes histológicos se pueden identificar los parásitos, tanto en el epitelio vellosa necrótico como en la decidua (tejido membranoso de la mucosa uterina que se expulsa después del parto). Si la infección transplacentaria se produce después del cuarto mes, el feto puede sufrir graves lesiones en diversos órganos y tejidos; sin embargo dichas lesiones son especialmente aparentes en el sistema nervioso central y pueden matarlo antes de que nazca (9, 37).

Madres que poseen anticuerpos contra Toxoplasma gondii antes del embarazo no transmiten la infección a el producto, debido a la capacidad de los anticuerpos maternos para proteger al feto in utero. Hecho inmunológico semejante ocurre en las madres que dan a luz un niño con toxoplasmosis, al no repetir esta desastrosa experiencia - en futuros embarazos.

De conformidad con las consideraciones anteriores los requerimientos teóricos para que la toxoplasmosis prenatal tenga lugar serían: 1) que la madre adquiriera la toxoplasmosis después de la concepción; 2) que el parásito provoque lesiones en la placenta que favorezcan su paso a la circulación fetal y 3) que los anticuerpos maternos no alcancen a proteger al feto in utero y de esta manera - los parásitos se diseminen a órganos y a los tejidos fetales (9, - 37).

La forma y gravedad de las lesiones en la toxoplasmosis prenatal se relacionan en parte con la época del embarazo en que tiene lugar la infección intrauterina; de esta manera, cuando la infección ocurre tempranamente el producto puede nacer muerto como resultado de la gravedad de las lesiones, nacer prematuramente o mostrar la enfermedad completamente desarrollada desde el nacimiento.

b) Infantil. La toxoplasmosis congénita infantil presenta -

una tetralogía clinocopatológica caracterizada por hidrocefalia o microcefalia, calcificaciones cerebrales, corioretinitis y convulsiones, lo que demuestra que las lesiones siempre están localizadas de preferencia en el sistema nervioso central; puede haber también hepatitis con ictericia del recién nacido, hepatoesplenomegalia y signos de insuficiencia hepática (8, 9, 37).

En el examen postmortem el encéfalo aparece arrugado, como si se hubiera contraído y los vasos se notan prominentes; en los cortes en serie se observa dilatación del sistema ventricular y la corteza puede estar reducida a un margen delgado y discontinuo donde los focos de necrosis distorsionan los límites entre sustancia gris y blanca. Es característica la presencia de gránulos amarillos de calcificación distrofica tanto en la corteza cerebral como en el tejido subependimario alrededor de los ventrículos (37).

Microscópicamente las lesiones corresponden a la meningoencefalitis, caracterizada por áreas granulomatosas, focos de necrosis, calcificaciones y formación de pseudoquistes. Las áreas encefálicas generalmente interesadas son la corteza, sustancia blanca subcortical, núcleos caudado y lenticular, mesencéfalo, protuberancia, bulbo y médula espinal. Pueden ser especialmente intensas las lesiones alrededor de los ventrículos, donde las paredes están recubiertas de exudado o por granulomas endependimarios. Los gránulos pue-

den ser de tamaño microscópico y consistir solamente en un cúmulo de células epitelioides y linfocitos, o pueden corresponder a grandes áreas de necrosis central con infiltración celular visible solamente en la periferia. Los parásitos intracelulares y libres generalmente son numerosos, aunque a veces se reconocen con dificultad. Cantidades variables de calcio también están presentes (8, 9, 37).

Las lesiones encefálicas se inician con una vasculitis aguda-seguida de necrosis e infiltración por células mononucleares, células plasmáticas y ocasionalmente eosinófilos. A medida que continúa la necrosis se deposita calcio y tiene lugar la organización; sin embargo, el descubrimiento de las calcificaciones encefálicas a los rayos X sólo raramente ocurre en el recién nacido, pero debido a que su crecimiento es relativamente rápido pueden hacerse evidentes a las ocho semanas de vida.

Los pseudoquistes representan el resultado de la multiplicación parasitaria intracelular y generalmente se encuentran en los márgenes de las áreas de necrosis y alrededor de ellos no hay reacción inflamatoria (8, 9, 37, 41).

La corioretinitis generalmente no se observa sino hasta algunos meses después del nacimiento, aún cuando la infección se adquiere in utero. La lesión puede aparecer en cualquier lugar de la re-

tina, pero más comúnmente se observa en la región de la mácula. La regla es que sea bilateral. La corioretinitis se caracteriza por edema, focos de necrosis, reacción celular inflamatoria y desorganización de la retina y el coroides; en períodos tardíos puede observarse aumento del tejido glial en las áreas interesadas. El tejido de granulación puede invadir el vítreo (37).

La hidrocefalia se relaciona con la obstrucción del agujero - de Monroe, del acueducto de Silvio o de ambos a la vez, debido a la endodermatitis granulomatosa provocada por el Toxoplasma (37).

La microcefalia es el resultado de la atrofia encefálica consecutiva a la gran destrucción del tejido nervioso central por el - proceso meningoencefalítico de naturaleza toxoplásmica.

La llamada fiebre ganglionar, quizá la forma más frecuente de la toxoplasmosis en infantes, corresponde a la infección del sistema ganglionar linfático por el parásito como expresión de la parasitemia (37).

La toxoplasmosis postnatal incluye una variedad de síndromes - asociados a una diversidad de lesiones, dentro de las cuales pueden encontrarse neumonitis, hepatitis, encefalitis y corioretinitis.

c) Del adulto. Es la tercera forma de toxoplasmosis congénita y se observa cuando el individuo ha adquirido por vía transplacentaria los parásitos, los cuales se enquistan y permanecen así durante muchos años. La enfermedad se manifiesta cuando por varias circunstancias disminuye la resistencia del individuo y los parásitos se activan (9).

## II.- Toxoplasmosis adquirida.

Después de la infección y la invasión de los ganglios linfáticos regionales el parásito es transportado por la sangre a diversos órganos donde tiene lugar la multiplicación intracelular. La parasitemia dura varias semanas, con la producción de anticuerpos se forman quistes en varios tejidos, los pacientes son asintomáticos.

La enfermedad sintomática que se presenta sólo en una pequeña fracción de los infectados fluctúa desde una linfadenopatía benigna hasta una infección aguda y a menudo mortal.

La forma clínica más común es la ganglionar que puede presentarse como una linfadenopatía febril o afebril, pueden estar afectados uno o más ganglios, la linfadenopatía es prominente en la región cervical, pero el aumento de tamaño de los ganglios también puede ocurrir en la región axilar e inguinal.

Microscópicamente la lesión ganglionar consiste en una hiperplasia linfoide y sinusoidal. Los folículos hiperplásicos muestran límites imprecisos debido a la hiperplasia histocitaria de los sinusoides limitantes de los folículos. La infiltración en la cápsula puede ser prominente.

La forma linfadenítica o ganglionar es semejante a la monocleosis infecciosa por lo que en ocasiones es necesario recurrir a un diagnóstico diferencial, sin embargo es muy difícil encontrar a los parásitos en los cortes histológicos de los ganglios linfáticos aún en pacientes en los que se han encontrado en otros órganos (8, 9, 41).

Las lesiones pulmonares consisten en neumonitis que afecta a los alvéolos por acumulación de fibrina, plasma, células alveolares descamadas. Los pseudoquistes pueden aparecer en las células alveolares, en los tabiques intraalveolares y aún en el endotelio vascular. Este proceso debe diferenciarse de tuberculosis o histoplasmosis micronódular.

En el miocardio los parásitos se localizan en el interior de las fibras musculares, provocando una miocarditis generalmente importante que debe ser diferenciada de la enfermedad de chagas y de histoplasmosis.

También se pueden observar casos de miositis del músculo esquelético, que puede imposibilitar al paciente para trabajar.

Puede aparecer corioretinitis la cual usualmente es focal, con acumulación de exudado entre la esclerótica y la retina, desprendimiento de esta última y la ceguera (8, 9, 41).

Un paciente puede desarrollar una o más de estas afecciones. Los síntomas más frecuentes en las infecciones agudas son: fiebre, erupción maculopapilar, malestar, mialgia, artralgia.

Se ha observado un número creciente de casos de toxoplasmosis, en pacientes con defectos en el sistema inmune o que reciben tratamiento inmunodepresivo. La enfermedad en estos pacientes es en general grave y muchas veces mortal (27, 37).

#### INMUNIDAD.

La infección por Toxoplasma gondii da por resultados la producción de anticuerpos de tipo IgA, IgG e IgM, que pueden demostrarse con facilidad mediante las técnicas de hemaglutinación, fijación del complemento, inmunofluorescencia indirecta y con la prueba del colorante de Sabin y Feldman. La simple presencia de anticuerpos no resulta suficiente para proteger, como lo demuestra el parásito-

para resistir en presencia de cifras altas de anticuerpos.

Trabajos recientes han demostrado que la capacidad de los macrófagos para destruir trofozoitos infectantes esta muy aumentada si primero se expone a los parásitos a la acción de anticuerpos y del complemento. Este mecanismo puede ser una de las vías por las cuales se reduce el número de parásitos en el hospedero infectado (27). Se ha demostrado que el parásito puede multiplicarse sólo hasta cierto límite dentro de los macrófagos, antes de que las células del hospedero sean destruidas y que cuando esto ocurre, los trofozoitos extracelulares se ponen en contacto con los anticuerpos y pueden ser destruidos con mayor eficacia por los macrófagos (13, 27, 35).

La inmunidad mediada por células se encuentra también involucrada en la protección contra Toxoplasma gondii, debido a que la hipersensibilidad y sus análogos in vitro, como la producción del factor de la inhibición de la migración (MIF) aparecen temprano en la toxoplasmosis y sólo habrá protección de la infección con organismos vivos. También se produce interferón y puede demostrarse que los macrófagos activados matan o inhiben la multiplicación del parásito, lo cual podría reducir de manera eficaz la masa de parásitos. En dicha inmunidad celular, la activación de macrófagos quizá este afectada por la acción del antígeno sobre los linfocitos T específicamente sensibilizados, los cuales a su vez, producen linfocitos

nas que activan a macrófagos (13, 27).

Es necesaria la presencia de un sistema inmunológico intacto para la protección contra el Toxoplasma gondii debido a que la inmunosupresión para el control del rechazo de los trasplantes o de las neoplasias puede dar por resultado toxoplasmosis activa. Este fenómeno puede producir la eliminación de linfocitos sensibilizados previamente, limitando una infección inaparente a la incapacidad del hospedero con inmunosupresión para montar una respuesta protectora adecuada a una nueva infección (27, 35).

#### PREVENCION.

Las medidas prácticas para prevenir la toxoplasmosis consisten en cocer cuidadosamente los alimentos y vigilar que no se contaminen con heces de gato (25).

Las recomendaciones para la prevención de la toxoplasmosis en la gente, especialmente en las embarazadas son las siguientes:

1. Conocimiento de la carne a temperatura por arriba de 60°C con destrucción de los quistes tisulares.
2. Cuidar al manejo de la carne, teniendo presente el peligro de

la infección por lesiones en las manos o al probar los alimentos, así como por vía conjuntival.

3. Lavarse las manos con agua y jabón después de tocar la carne.
4. Las frutas y las verduras pueden ser contaminadas con ooquistes resistentes; debe insistirse en el lavado mecánico cuidadoso.
5. Los sujetos seropositivos al Toxoplasma gondii, no deben ser usados como donadores de órganos para transplantes.
6. Es importante vigilar las transfusiones de sangre en los pacientes inmunodeficientes o con terapia inmunosupresora.
7. El adiestramiento del personal médico y de laboratorio y la educación sanitaria, son necesarios para disminuir los riesgos y daños de la toxoplasmosis.
8. Alejar a los gatos o tenerlos en lugares donde no existan roedores. Alimentar a los gatos con comida especial anhidra.
9. Limpiar diariamente las cajas de arena de los gatos, desinfectandolas con agua hirviente, lavarse perfectamente las manos al terminar.

10. Usar guantes cuando se maneja basura y tierra que pueda estar contaminada con ooquistes.
11. Evitar la presencia de gatos de origen desconocido, enfatizando esto para las mujeres embarazadas.
12. Controlar el número de cucarachas, moscas, etc. y evitar su contacto con los alimentos (25, 34, 35, 39, 43).

#### DIAGNOSTICO,

Los signos clínicos al no ser específicos no dan las bases para un diagnóstico correcto; por lo tanto se dispone de métodos directos e indirectos.

##### I.- Diagnóstico directo.

a) El diagnóstico directo se logra mediante el examen microscópico que demuestra la presencia del parásito.

Las preparaciones que generalmente se examinan son tejidos tomados de biopsia o necropsia, esputo, líquido peritoneal, líquido cefalorraquídeo, orina, exudado vaginal, etc. Se preparan extensiones por impresión del tejido o líquido sospechosos y se fijan con -

alcohol metílico posteriormente se tiñen con colorante de Giemsa. -  
Con este colorante se tiñe de rojo el núcleo y el citoplasma de -  
azul (14, 22, 33).

La comprobación y el diagnóstico correcto de los parásitos -  
son difíciles a consecuencia de su escaso número en las formas cró-  
nicas y latentes, siendo más fácil cuando aparecen grandes cantida-  
des en los casos agudos o subagudos (14, 31, 38).

b) Inoculaciones diagnósticas. Se realizan cuando se intere-  
sa aislar al microorganismo; se utilizan animales de laboratorio -  
(ratones o cobayos), el material de inoculación dependerá de las -  
circunstancias; pueden usarse secreciones, líquidos tisulares o te-  
jidos tomados de biopsia o en una necropsia. Es necesario eliminar  
la contaminación bacteriana con antibióticos. La vfa de inocula- -  
ción puede ser subcutánea o intraperitoneal, cada una tiene su uso,  
por ejemplo la intraperitoneal cuando no hay contaminación bacteria  
na, en tejido subcutáneo cuando si la hay. La inoculación intraperi  
toneal es la más adecuada para el fin que se persigue pues el Toxo -  
plasma se reproduce en el líquido ascítico o gran velocidad (7).

Una parte de animales inoculados se sacrifican de los 5 a los  
6 días y el resto al cabo de 3 a 4 semanas, procediendo en todos -  
a abrir la cavidad abdominal.

El líquido ascítico producido se someterá a exámen microscópico. El cerebro de los animales puede ser objeto de estudio histopatológico o bien se preparan a partir de él extensiones en las que se investigue la presencia de Toxoplasma gondii (2, 24, 31, 38).

## II.- Diagnóstico indirecto.

Los métodos puestos en práctica para conseguir el diagnóstico indirecto se basan en la detección de anticuerpos específicos, que se forman como reacción de defensa en los individuos infectados. Actualmente se dispone de varias pruebas, unas de las más empleadas son: la del colorante de Sabin y Feldman, inmunofluorescencia indirecta, hemaglutinación indirecta y la de fijación del complemento.

La prueba del colorante de Sabin y Feldman se basa en que los parásitos vivos en presencia de anticuerpos y un factor accesorio (semejante al complemento probablemente properdina) no se tiñen de azul de metileno. Los parásitos no expuestos al anticuerpo se tiñen rápidamente.

Muchos laboratorios de diagnóstico han suspendido la realización de esta prueba por la dificultad que existe en la obtención del suero que contiene el factor accesorio. Sin embargo es el procedimiento más práctico para confirmar el diagnóstico (7, 20, 31, 34, - 35).

La prueba de inmunofluorescencia indirecta es un método fácil de realizar, sensible y seguro. Los títulos de anticuerpos IgG medidos son paralelos con los de la prueba del colorante de Sabin y - Feldman; generalmente se hacen presentes a las dos semanas de la infección, alcanzan títulos de  $\geq 1:1000$  o más en 6-8 semanas y luego disminuyen gradualmente en meses o años con valores persistentes entre 1:4 a 1:64 sin embargo, el nivel de anticuerpos séricos no guarda correlación ninguna con la gravedad del padecimiento (8, 20, 34, 39).

La prueba de anticuerpos fluorescentes IgM, permite diagnosticar las infecciones recientes, hasta cinco días, a partir de la infección. La presencia de IgM en recién nacidos es un indicio seguro de infección prenatal; sin embargo, este método puede ser negativo en pacientes con inmunodeficiencias, o toxoplasmosis aguda y en algunos casos toxoplasmosis ocular aislada; puede también haber positivas falsas en sujetos con factor reumatoide.

La prueba de hemaglutinación indirecta se hace positiva en 7-10 días y los títulos permanecen altos por varios años. No se recomienda su uso en caso de toxoplasmosis congénita en donde frecuentemente es negativa; por otro lado, los reactivos disponibles actualmente no son de calidad uniforme, por ello, han logrado reemplazar a la prueba de inmunofluorescencia de la rutina diagnóstica- (8, 34, 39).

La prueba de fijación del complemento se hace positiva más tardíamente que la prueba de inmunofluorescencia indirecta y los títulos declinan antes, aunque pueden permanecer positivos por varios años; su utilidad principal radica en usarla conjuntamente con otros métodos cuando se intenta confirmar la existencia de una infección aguda (8, 20, 34, 39).

La presencia de títulos positivos en cualquiera de las pruebas serológicas, establece el diagnóstico de la infección por Toxoplasma. Las pruebas del colorante de Sabin y Feldman o inmunofluorescencia negativas realizadas en suero sin diluir, excluyen tal diagnóstico (8, 34).

#### TRATAMIENTO.

Los quistes tisulares son resistentes a los antimicrobianos disponibles en la actualidad. Son diversos los medicamentos activos contra los trofozoitos de Toxoplasma gondii.

a) La pirimetamina (daraprim) antagonista del ácido fólico, compuesto liposoluble que se absorbe fácilmente por el tubo digestivo, aparentemente penetra al interior de las células y su concentración en el líquido cefalorraquídeo es equivalente a 10-25% de la concentración plasmática. Para el tratamiento de la toxoplasmosis-

generalizada grave, el primer día se recomienda en adultos 100-200-mg. es decir 4-8 tabletas de 25 mg divididos en tres dosis en los días siguientes, se administran 50 mg (2 tabletas) diariamente, durante 2-3 semanas. En niños, el primer día se usarán 2 mg/kg y en los días siguientes 1 mg/kg, sin pasar de 25 mg diarios. En los recién nacidos se ha propuesto usar el medicamento con intervalo de 4-5 días. Este producto puede producir una depresión en la médula ósea, cuyas complicaciones más serias son la trombocitopenia, leucopenia y anemia. Por esta razón se recomienda practicar al paciente una biometría hemática de control dos veces por semana. Adicionalmente se puede prescribir ácido fólico 2-10 mg por día y levadura de cerveza en tabletas, con el fin de reducir la toxicidad potencial de la pirimetamina (5, 10, 35, 39).

b) Las sulfamidas cuya acción experimental contra el toxoplasma se ha comprobado en ratón y conejo. Los compuestos más recomendables son la sulfadiazina o la mezcla de trisulfapirimidina (con partes iguales de sulfadiazina, sulfamerazina y sulfametazina). En adultos se usan dosis de 75-100 mg/kg/día, por vía oral dividida en cuatro partes, después de una carga medicamentosa inicial con 50-75 mg/kg. En los niños se aplicarán 100-150 mg/kg/día, divididos en cuatro porciones, después de 75-100 mg de carga inicial. Con esta dosificación se alcanzan niveles plasmáticos de 10 y 15 mg/dl; este fármaco puede producir cristaluria, hematuria y reacciones alérgicas di-

versas. En general las sulfamidas se administran junto con la pirimetamina obteniéndose un efecto terapéutico sinérgico; la combinación esta indicada en pacientes inmunodeficientes o con formas graves de toxoplasmosis, la duración aproximada del tratamiento se ha estimado en alrededor de un mes (34, 39).

Se ha reportado que los ooquistes que se eliminan con las heces de los gatos pueden disminuir con una combinación de sulfadiazina 120 mg/kg pirimetamina 1 mg/kg. Sin embargo se ha encontrado que la pirimetamina en conjunción con sulfadiazina son de desagradable sabor para los gatos.

También se ha demostrado que la inyección intramuscular de 2-mg/kg de pirimetamina con 100 mg/kg de sulfadiazina inhiben la eliminación de ooquistes (20, 34).

c) La clindamicina es un antibiótico que ha demostrado actividad contra la toxoplasmosis aguda y crónica en ratón y reduce la producción de ooquistes en gatos infectados. Los ooquistes de los gatos a los que se les administra alguno de los fármacos antes mencionados esporulan normalmente pero han sido infectivos en ratón (34).

d) La espiamicina (rovamicina) es un antimicrobiano menos ac

tivo que las sulfamidas o pirimetamina, aunque tiene la ventaja de su inocuidad, tolerancia excelente, alta concentración tisular placentaria y ausencia de teratogenicidad, por lo cual se ha empleado exitosamente en el tratamiento de la toxoplasmosis aguda en las embarazadas. Se inicia con dosis de 2 g/día, durante un mes; después con intervalos de 15 días, se repite el tratamiento hasta el parto (5, 10).

Otros compuestos que se han usado en la quimioterapia de la toxoplasmosis son la diaminodifenilsulfona, lincomicina, monesin (26).

La vacunación de la población con cepas de baja virulencia probablemente sería eficaz para establecer la protección contra Toxoplasma gondii; pero debido a que la mayor parte de las personas adquieren protección adecuada después de la infección natural, este procedimiento al parecer no tiene utilidad alguna, excepto en las mujeres sin infección previa en la época del embarazo con el fin de prevenir la transmisión intrauterina de Toxoplasma gondii (24, 42).

#### TOXOPLASMOSIS EN CABALLOS.

La infección por Toxoplasma gondii en animales se ha comprobado en todo tipo de áreas geográficas en unas 200 especies de mamife

ros. Además muchas especies de aves albergan también al parásito, por lo que se puede afirmar que casi todas las especies de animales homeotermos son susceptibles, aunque en diferentes grados (13, 29, 45).

La demostración del parásito en la carne de los animales de abasto, es de interés especial en salud pública, puesto que este alimento cocido insuficientemente es una de las fuentes principales de la infección humana (20, 29, 44, 45).

A causa de la posibilidad de que la carne de caballo sea una fuente de infección para el humano también como los félidos y otras especies en zoonosis, se han hecho investigaciones de la incidencia de la infección, detectada a través de la presencia de anticuerpos específicos en varios países (1, 39).

Los reportes de los sueros de caballos estudiados para detectar la presencia del parásito, sugieren que la infección puede estar más extendida de lo que a menudo se cree en estos animales (12).

Evidencias serológicas de la presencia del Toxoplasma gondii, han sido encontradas en el norte de California en un 14% de 105 caballos examinados (12, 39) y en un 20% de 1240 caballos de varias partes de USA por la prueba de hemaglutinación indirecta (36). En-

41.5 % de 200 caballos de Texas, por la prueba de inmunofluorescencia indirecta (21). En 9% de 238 caballos de Ontario (12), y en el condado de Georgia por la prueba del colorante de Sabin y Feldman, durante un brote de toxoplasmosis humana (40). Otros estudios han revelado la presencia de anticuerpos en caballos de la India aunque en menor escala que los que han sido reportados en otros animales domésticos (12).

Por otra parte se ha probado que esta es una de las especies de animales más resistentes para desarrollar toxoplasmosis clínica, como lo demuestran estudios que se han realizado al administrarles alimento contaminado con ooquistes (2).

La toxoplasmosis en caballos es similar a la que se produce en el hombre y en otras especies de animales, siendo comunmente asintomática, mientras que la forma clínica es reconocida solo esporádicamente (15).

En los casos encontrados de toxoplasmosis aguda, los caballos presentaron ataxia (pérdida de la coordinación de los movimientos musculares debido a la lesión del sistema nervioso y no a debilidad de los músculos y bajo el reflejo de las pupilas) (11).

La arquitectura de las lesiones producidas en los casos de -

toxoplasmosis en caballos no tiene notables diferencias a las descritas en el sistema nervioso central de otras especies afectadas.- La distribución de las lesiones son importantes de mencionar: Numerosas lesiones fueron observadas en la médula, bilateralmente y a todos los niveles, aunque aparecen ser más numerosos en la región torácica y lumbar.

Las lesiones en la sustancia blanca son ligeras y generalmente son redondas y ovales y miden de 2 a 7 mm. Aunque también se han encontrado lesiones en los ganglios basales, se consideran leves en relación a los encontrados en médula (11).

En general, las infecciones agudas o subagudas producen algunas lesiones vícerales y en adición alteraciones en el sistema nervioso central (11). En dos caballos se encontraron daños en los tejidos, la localización y magnitud de las lesiones sugieren que son el resultado de una ruptura múltiple de quistes de Toxoplasma gondii constituyendo una reactivación de la infección crónica (11).

Investigadores han reportado encefalomiелitis equina en caballos debidas a un protozoario semejante al Toxoplasma gondii (3, 4, 18).

Sin embargo, el protozoario invade intensivamente las neuro--

nas y el quiste tiene propiedades de tinción diferentes a los del Toxoplasma gondii (18). La toxoplasmosis fué posteriormente descartada por que no se detectaron anticuerpos contra Toxoplasma gondii.

Organismos con estructuras y ciclos de vida similares a Toxoplasma gondii han sido reportados (Hammondia hammondi, Sercocystis muris) (23, 30, 36). Estos agentes producen bajos niveles de anticuerpos y algunos producen reacción cruzada para Toxoplasma gondii.

Como en los humanos la incidencia de la infección aumenta con la edad de los equinos, como lo demuestra una encuesta serológica - en donde se encontró una tasa del 2% en animales de un año, del 18% en los de 2 años y del 38% en los de 12 años (36).

Algunos investigadores han observado que los factores ambientales tales como la lluvia, temperatura o altitud pueden afectar la distribución de la toxoplasmosis. La prevalencia de la infección parece ser mayor en las áreas tibias y húmedas que en las frías y secas (36).

De esta forma pueden estar relacionadas las condiciones de la tierra para favorecer la supervivencia de los ooquistes esporulados. La posibilidad de que las condiciones climatológicas influyan en los índices de la infección por Toxoplasma gondii en caballos se sugiere por los altos índices en las áreas donde la humedad es alta,-

además se encontraron índices más altos en las regiones frías y lluviosas que en las secas y calientes. Sin embargo hay variaciones - en los índices que indica que la prevalencia de la toxoplasmosis, - probablemente esta influenciada por la fuente de infección común - que tienen los caballos donde son mantenidos, como puede ser la presencia de ooquistes esporulados que pueden estar contaminando la - pastura y las bebidas de estos animales etc. (36).

## OBJETIVOS

## a) Objetivo terminal:

Determinar la presencia de Toxoplasma gondii en carne de caballo.

## b) Objetivos específicos:

Demostrar que el consumo de carne de caballo cruda o mal cocida, puede constituir una forma de transmisión de la toxoplasmosis.

Determinar la utilidad de la prueba biológica de inoculación en ratones como técnica de diagnóstico de esta especie.

## MATERIAL Y METODO

## MATERIAL.

(Procesamiento de la muestra a inoculación diagnóstica).

- a) 120 ratones blancos.
- b) 40 muestras recientes de tejido muscular de caballo (diafragma).
- c) Solución salina isotónica (0.9%).
- d) Tripsina (0.25%).
- e) Antibióticos (penicilina y estreptomycin).
- f) Acetato de cortisona (5.0 mg).

## TECNICA.

(Procesamiento de la muestra e inoculación diagnóstica).

1. El primer paso del proceso es obtener tejido muscular (10g) - de diafragma de un caballo recién sacrificado. La finalidad, es la comprobación de la presencia de los parásitos en los - productos obtenidos inoculando por vía intraperitoneal a los - animales de laboratorio (ratones).

2. Cuando el tejido muscular ha sido finamente "picado" (10g) - hay que homogenizar el tejido, lo cual se consigue suspendiéndolo en solución salina (100 ml), conteniendo tripsina (0.25%) durante una hora a temperatura ambiente con agitación constante, usando un agitador magnético.
3. Para el aislamiento del parásito, hay que eliminar los desechos constituidos por el tejido conectivo y partículas musculares, filtrando la mezcla a través de dos gasas.
4. El material filtrado se centrifuga durante 15 minutos a 2500-rpm.
5. El sobrenadante es descartado.
6. El sedimento es lavado una vez con solución salina.
7. El sedimento es suspendido en solución salina.
8. Se centrifuga durante 10 minutos a 3000 rpm. (los pasos 5, 6, 7 y 8 son repetidos dos veces más para remover la tripsina).
9. El sobrenadante es descartado y el sedimento es resuspendido en 3 ml. de solución salina conteniendo 100 U/ml de antibióticos (penicilina y estreptomycin).

10. A la mezcla anterior se le agrega 5.0 mg de cortisona.
11. El producto obtenido es inoculado intraperitonealmente en un grupo de 3 ratones.
12. Uno de los ratones inoculados se sacrifica a los 5-6 días y los otros dos a las 6 semanas.
13. Se procede a abrir la cavidad abdominal en todos los ratones.
14. Se realizan improntas de líquido peritoneal.
15. Las improntas de líquido peritoneal se fijan con alcohol metílico.
16. Posteriormente se procede a teñir con el colorante de Giemsa. Con este colorante, se tiñe de rojo el núcleo, y el citoplasma de azul.
17. Se realiza el examen microscópico con el objetivo de inmersión.

**MATERIAL.**

(Estudio histológico).

- a) Formol.
- b) Alcohol metílico de 70°, 80°, 90°, alcohol absoluto.
- c) Parafina.
- d) Grenetina.
- e) Solución colorante de Giemsa.
- f) Solución colorante de hematoxilina.
- g) Solución colorante de eosina.

**TECNICA.**

(Estudio histológico).

1. De los ratones sacrificados se obtienen también los cerebros.
2. Se fijan varios días (3-4 días) en formol. (si se controlan acertadamente las condiciones químicas y físicas del fijador se consigue limitar las modificaciones estructurales más graves, a fin de que las condiciones morfológicas de las estructuras observadas sean lo más semejante posible al estado vivo).
3. Posteriormente con el uso de un aparato histokinett marca Max bath modelo E7606, se lleva a cabo una deshidratación pasando

la muestra por diferentes concentraciones de alcohol metílico (70°, 80°, 90°, absoluto), aclarando después con xilol o benceno. Después la muestra se infiltra en parafina.

4. Se incluye la muestra en parafina.
5. Se hacen cortes del pequeño bloque de parafina que lleva incluido el tejido, con la ayuda de un microtomo modelo 820 marca Spencer de American Optical Corporation.
6. Las secciones del bloque se meten en un baño de flotación, - que contiene agua y grenetina, esta última permite a las secciones adherirse al portaobjetos.
7. Se lleva a cabo el montaje del corte en un portaobjetos.
8. El portaobjetos se coloca en una platina térmica, que elimina la parafina del portaobjetos.
9. Posteriormente se procede a colorear con la tinción de hematoxilina y eosina.
10. Se realiza el exámen microscópico.
11. En caso de detectarse material sospechoso se debe hacer una - segunda tinción del tejido con colorante de Giemsa que resulta ser específico para observar los parásitos en cuestión.

## RESULTADOS

Se inocularon 3 ratones por cada muestra de carne de caballo. Un ratón de cada grupo se sacrificó en la primera semana con el fin de realizar una impronta de su líquido peritoneal, para buscar la presencia de taquizoitos los cuales representan la fase aguda de la toxoplasmosis; del mismo ratón se obtuvo su cerebro y se hicieron cortes histológicos para realizar comparaciones con los cerebros de los ratones que se sacrificarían posteriormente. Una vez que transcurrieron 6 semanas se sacrificaron los ratones restantes y se realizaron improntas de su líquido peritoneal y cortes histológicos del cerebro de cada uno. En los cortes histológicos se buscaron lesiones o la presencia de quistes, los cuales representan la fase crónica de la toxoplasmosis.

Los resultados que se obtuvieron son los siguientes:

Las observaciones realizadas a las improntas de líquido peritoneal de los ratones sacrificados a los 6 días mostraron la presencia del parásito en 5 de 40 laminillas. En las improntas de los ratones sacrificados a las 6 semanas solo 4 resultaron positivas (Tabla No. 1).

TABLA No. 1. TABLA DE RESULTADOS.

No. DE MUESTRA						
	IMPRONTA	CORTE HISTOLOGICO Zona de inflamación. Parásito	IMPRONTA	CORTE HISTOLOGICO Zona de inflamación. Parásito	IMPRONTA	CORTE HISTOLOGICO Zona de inflamación. Parásito
29	-	-	-	-	-	-
15	+	-	-	+	+	+
16	-	-	-	+	+	+
27	-	-	-	+	+	+
31	+	-	+	+	+	+
34	-	-	-	-	-	-
36	-	-	-	+	+	+
37	+	-	-	+	+	+
39	+	-	-	+	+	+
40	-	+	-	-	-	-
60. D I A . . . . . 6a. S E M A N A .						

ACOTACIONES:  
+ : Positivo  
- : Negativo

El exámen realizado a 120 cortes histol6gicos de cerebro de -  
rat6n mostr6 que en 103 laminillas el tejido presentaba apariencia-  
normal, sin embargo en los 17 cortes restantes, se observaron zonas  
de inflaci6n local, lo que di6 el indicio de que se encontraba pre-  
sente el parásito; revisando minuciosamente cada uno de estos cor-  
tes histol6gicos se logr6 encontrar que en 4 de ellos el parásito -  
estaba presente en forma de taquizoito y s6lo en uno de ellos en -  
forma de quiste conteniendo en su interior bradizoitos, representan-  
do la fase aguda y la fase cr6nica de la toxoplasmosis respectiva-  
mente (Tabla No. 1).

Considerando que se examinaron un total de 40 muestras de -  
músculo esquelético de caballo (diafragma) y que solamente 5 de -  
ellas resultaron positivas (muestras No. 15, 27, 31, 37, 39) por el  
hallazgo del Toxoplasma gondii en cada una, se obtiene entonces un-  
12.5%, de prevalencia de este parásito en la especie estudiada.

## DISCUSION

El resultado obtenido (12.5%) de prevalencia en la especie estudiada, indica que el parásito no es particularmente frecuente en este tipo de carne o que la prueba no tiene mucha eficacia para detectarlo.

La identificación del Toxoplasma gondii en los cortes histológicos de cerebro de ratón se logró apoyándose en las características morfológicas que presenta el microorganismo.

La razón por la cual no se encontró el parásito en algunas laminillas de cortes histológicos que mostraban zonas de inflamación, probablemente se deba a que la inflamación observada tenga otra etiología.

Cuando un parásito se localiza en un corte histológico, pero no se logra encontrar el corte histológico perteneciente a un ratón del mismo grupo, es decir, inoculado con la muestra, probablemente se deba a que el corte no se realizó en la zona en que se encontraba el parásito.

Algunos ratones pertenecientes a los que se sacrificarían 6 semanas después de la inoculación (No. 15C, 27C, 31B, 39C), murieron antes del tiempo estipulado (2 semanas) seguramente a consecuen-

cia de la infección aguda y por lo tanto en el exámen de los cortes histológicos se encontró el parásito en forma de taquizoito pues no llegó a enquistarse.

Fueron varios los factores que pudieron haber afectado los resultados, como es el hecho de no saber la edad con que contaba cada caballo, el alimento que se les proporcionaba, su relación con otros animales, su raza, el lugar de procedencia (cualquier parte de la República Mexicana) etc. Por otra parte, aunque surge la posibilidad de que los ratones utilizados en este experimento hayan contraído la infección antes de realizar la prueba es mínima, esto no descarta la posibilidad de que pudieron haberse infectado antes, ya que durante un tiempo estuvieron expuestos a un medio adverso al que originalmente se desarrollaron. También se debe de considerar que los ratones tenían diferentes edades y en ocasiones diferente alimentación, estos elementos probablemente hayan influido en la respuesta inmune. Por lo tanto controlando estos factores, se podrían tener resultados más precisos.

La existencia de la infección subclínica en caballo fue confirmada en este experimento. Este hallazo es importante pues mucha de esta carne es utilizada para el consumo de algunos de los habitantes de la ciudad de México, lo cual constituye un riesgo de contraer la infección si no es cocida adecuadamente.

## CONCLUSIONES

Con la prueba biológica de inoculación diagnóstica se logró - determinar la presencia de Toxoplasma gondii en un 12.5% de muestra de carne de caballo.

El hallazgo de Toxoplasma gondii en carne de caballo es de interés espacial en la salud pública, puesto que este tipo de carne - insuficientemente cocida puede constituir una fuente de infección humana. También existe la posibilidad de que los empleados del rastro adquieran la infección por la manipulación de la carne.

Con la prueba biológica de inoculación en ratones la toxoplasmosis no se puede determinar a menos que se observen los parásitos, esto le confiere desventajas para su uso rutinario pues se presentan dificultades para localizar el parásito, tanto por su tamaño pequeño, como por la poca diferenciación que se presenta con las estructuras vecinas. Esta técnica también resulto ser laboriosa, tardada y costosa. Por lo tanto para conocer la verdadera incidencia de toxoplasmosis en caballos es necesario efectuar otro tipo de pruebas como las serológicas, las cuales son más precisas y confiables, aunque también presentan desventajas como la dificultad de conseguir antígeno para realizarlas y su alto costo.

## BIBLIOGRAFIA

1. Al-Khalidi Nahad W. y Dubey J.P. Prevalence of Toxoplasma gondii infection in horses. J. Parasitol., Vol. 65, Núm. 2, 1979, pp - 331.
2. Al-Khalidi Nahad W., Weisbrode S.E. y Dubey J.P. Pathogenicity of Toxoplasma gondii oocyst to ponies. Am. J. Vet. Res., Vol. - 41, Núm. 9, pp 1549 - 1551.
3. Beech Jill y Dodd D.C. Toxoplasma-like encephalomyelitis in the horse. Vet. Path., Vol. 11, Núm. 1, 1974, pp 87 - 96.
4. Beech Jill. Equine Protozoan encephalomyelitis. VM/SAC. Vol. 69, Núm. 12, 1974, pp 1562 - 1556.
5. Biagi F. Enfermedades parasitarias. 2a. ed., Ed. La Prensa Médica Mexicana, Méx. 1982., 376 p.
6. Blood D. Ch, Henderson J.A. Radostits O.M. y Arundel J.H. Medicina veterinaria. 5a. ed., Ed. Interamericana, Méx., 1982, 1008 p.
7. Borchert A. Parasitología Veterinaria. 3a. ed., Ed. ACRIBIA, Zaragoza, 1975. 745 p.

8. Brown W. H. Parasitología Clínica. 4a. ed., Ed. Interamericana, Méx., 1981, 320 p.
9. Correa P., Arias-Stella J., Pérez Tamayo R. y Carbonell L. M. - Texto de Patología. 2a. ed., Ed. La Prensa Médica Mexicana, - Méx., 1975, 1162 p.
10. Corrada B. T. La Toxoplasmosis problema de la Salud Pública. - Avances y Perspectivas. Bol. Med. Hosp. Infant. Méx., Vol. 40, Núm. 7, 1983 pp. 353 - 362.
11. Cusick P.K., Donald M.S., Hamilton D.P. y Hardenbrook H. J. - Toxoplasmosis in two horses. JAVMA., Vol. 164, Núm. 1, 1974, - pp. 77 - 80.
12. Chhabra M.B. y Gautam D.P., Antioodies to Toxoplasma gondii in equids in north India. Equine Vet. J., Vol. 12, Nfm. 3, 1980, - pp. 146 - 148.
13. Chinchilla M., Guerrero M.O. y Solano E., Lack of multiplication of Toxoplasma in macrophages of rats in vitro. J. Parasitol. Vol. 68, Núm. 5, 1982, pp. 952 - 955.
14. Davidsohn I. y Henry B.J. Diagnóstico Clínico por el Laboratorio. 6a. ed., Ed. Salvat editores, Barcelona, 1983, 1484 p.

15. Davis J.W. y Anderson R.C. Enfermedades Parasitarias de los Mamíferos Salvajes. Ed. ACRIBIA, Zaragoza, 1983, 428 p.
16. Delgado García G., Toxoplasmosis y Enfermedades Mentales. Rev. Cub. Med. Trop. Vol. 31, 1979, pp. 127 - 131.
17. Dubey J.P., Effect of Freezing on the Infectivity of Toxoplasma cysts to cats. JAVMA. Vol. 165. Núm. 6, 1974, pp. 534 - 536.
18. Dubey J.P., Davis G.W., Koestner A. y Kiryu K., Equine encephalomyelitis due to a protozoan parasite resembling Toxoplasma gondii. JAVMA., Vol. 165, Núm. 3, 1974, pp. 249 - 255.
19. Dutra G., Renato L. y Coutinho G.S. Isolation of Toxoplasma from the soli during an outbreak of toxoplasmosis in a rural area in brazil. J. Parasitol., Vol. 68, Núm. 5, 1982, pp. 866-868.
20. Elizondo M. y Rangel B.Y., Algunas consideraciones sobre la Toxoplasmosis Humana. Semana Médica de México., 1979, pp. 32-35.
21. Eugster A.K. y Joyce J.R., Prevalence and diagnostic significance of Toxoplasma gondii antibodies in horses. VM/SAC., Vol. 71, Núm. 10, 1976, pp. 1469 - 1473.

22. Faust E. Parasitología Clínica. Ed. Salvat editores, Barcelona 1979. 740 p.
23. Fayer R. y Frenkel J.K., Comparative infectivity for calves of oocysts of feline coccidia: Besnoitia, Hammondia, Cystoisospora Sarcocystis and Toxoplasma. J. Parasitol. Vol., 65, Núm. 5, - 1979, pp. 756 - 762.
24. Flynn R. J. Parasites of Laboratory Animals. Ed. The Iowa State University Press. AMESS. Iowa USA., 1973., 884 p.
25. Frenkel J.K. y Ruiz A. Endemicity of Toxoplasmosis in Costa Rica Transmission between cats, soil, intermediate hosts and humans. Am. J. Epidemiol. Vol. 113, Núm. 3, 1981, pp. 254-268.
26. Frenkel J.K. y Smith D.D. Inhibitory effects of monesin on shedding of Toxoplasma oocysts by cats. J. Parasitol., Vol., 68, - Núm. 5. 1982. pp. 851 - 855.
27. Fudenberg H.H., Stites D.P., Caldwell J.L. y Wells J.V. - Inmunología Clínica. 4a. ed. Ed. El Manual Moderno S.A., Méx., 1983. 824 p.
28. Llorente L.V., Martínez F.A. y García D.J. Caracterización de la cepa V - 1 de Toxoplasma gondii (sporozoa), II inoculación en hospederos definitivos. Rev. Ib. Parasitol. Vol. 43. 1983, pp. 15-24.

29. Mc Colm A.A. y Hutchinson W.M. The prevalence of Toxoplasma gondii in meat animals and cats in central Scotland. Ann. Trop. Med. Parasitol. Vol. 75, Núm. 2, 1981, pp. 157 - 164.
30. Melhorn H. y Frenkel J.K. Ultrastructural comparison of cysts and zoites of Toxoplasma gondii, Sarcocystis muris, and Hammondia hammondi in skeletal muscle of mice. J. Parasitol., Vol. 66, Núm. 1, 1980, pp. 59 - 67.
31. Nemeséri L. y Holló F. Diagnóstico Parasitológico Veterinario. Ed. ACRIBIA, Zaragoza, 1965, 303 p.
32. Olsen O.W. Parasitología animal. Vol. 1. Ed. AEDOS, Barcelona, 1977, 284 p.
33. Overdule J.P., Cornelissen A.W. y Hoenderboom J.M. Separation of isospora, Toxoplasma gondii cyst and cystozoites from mouse brain tissue by continuos. Parasitol. Vol. 83, 1981, pp 103-108.
34. Pratt P.W. Feline medicine 3a. ed., Ed. American Veterinary Publications, INC. Sta. Barbara California, 1983, 687 p.
35. Quiroz R. H. Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los animales domésticos. Ed. Limusa, Méx., 1984, 876 p.

36. Riemann H.P., Smith A.T., Stormont C., Ruppanner R., Bchymer -  
D.E. Suzuki Y. et al. Equine toxoplasmosis: a survey for -  
antibodies to Toxoplasma gondii in Horses. Am. J. Vet. Res., -  
Vol. 36, Núm. 12, 1975, pp. 1797 - 1800.
  
37. Salas M.M. y Salas A.M. Principales procesos patológicos como-  
causa de muerte en el recién nacido. Ed. La Prensa Médica Mexi-  
cana, Méx., 1981. 203 p.
  
38. Smith T.D., Conant F.N., Willett P.H., Beard W.J., Amos B.D., -  
Larsh E.J. and et al. Microbiología de Zinsser. 4a. ed., Ed. -  
Hispanoamericana, Méx., 1971. 1551 p.
  
39. Soulsby E.J.L. Helminths, arthropods and protozoona of domesti-  
cated Animals. 7a. ed., Ed. Lea & Febiger, Filadelfia, 1982. -  
809 p.
  
40. Teutsch S.M., Juranek D.D., Sulzer A. et al Horse stable toxo-  
plasmosis. JAYMA, Vol. 174, Núm. 11, 1979, p. 1203.
  
41. Villegas G.J., Fastag de Sh. A. y Villegas S.R. Toxoplasmosis.  
Características anatomoclínicas e identificación morfológica -  
del parásito mediante técnicas de impregnación argéntica. Bol.  
Med. Hosp. Infant. Vol. 34, Núm. 2, 1977, pp. 473 - 486.

42. Walderland H. y Frenkel J.K. Live and killed vaccines against-toxoplasmosis in mice. J. Parasitol., Vol. 69, Núm. 1, 1983, - pp. 60 - 65.
43. Walderland H., Pfefferkorn E.R. y Frenkel J.K. Temperatura-Sensitive mutants of Toxoplasma gondii: pathogenicity and persistence in mice. J. Parasitol. Vol. 69, Núm. 1, 1983, pp. 171 - 175.
44. Watson W.A. Toxoplasmosis in human and veterinary medicine. - Vet. Rec., Vol. 91, 1972, pp. 254 258.
45. Katsube Y. Hagiwara T., Ueda K. Miyahama H., Imaizumi K., Hanaki T, et al. Studies on toxoplasmosis, I Isolation of Toxoplasma gondii from muscles of humans, dogs and cats. Japan J. Med. - Sci. Biol., Vol. 29, 1967, pp. 413 - 419.