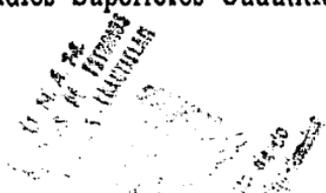


37
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán



DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE Toxoplasma gondii
EN BOVINOS POR MEDIO DE UNA PRUEBA BIOLÓGICA

T E S I S

Que para obtener el título de
Química Farmacéutica Bióloga
p r e s e n t a

MARIA ELIZABETH OLVERA HERRERA

Director de tesis: M.V.Z. Pablo Martínez Labat



Cuautitlán Izcalli, Edo. Méx.

1988

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

I N D I C E

RESUMEN

CAPITULO PRIMERO

Introducción.

Agente etiológico	1
Morfología.....	1
Ciclo biológico.....	2
Epidemiología.....	4
Patogenia.....	7
Cuadro clínico.....	9
Lesiones.....	11
Diagnóstico de laboratorio.....	13
Diagnóstico diferencial.....	15
Infección en los animales.....	17
Repercusiones económicas.....	20
Tratamiento.....	21
Objetivos.....	25

CAPITULO SEGUNDO

Material y método.....	26
Método para el aislamiento de <u>Toxoplasma</u>	27

CAPITULO TERCERO

Resultados.....	29
Discusión.....	29

CAPITULO CUARTO

Conclusiones.....	32
Anexos I y II	
Bibliografía	

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con la finalidad de determinar la presencia de Toxoplasma gondii en la carne de bovinos y de esta manera determinar su relación con la adquisición de la toxoplasmosis por los humanos.

Como técnica de diagnóstico se utilizó la inoculación intraperitoneal de carne de bovino (diafragma) que previamente fue digerida artificialmente en tripsina.

Se obtuvieron cuarenta muestras de diafragma de bovino en los rastros de Ferrería y Ecatepec, cada muestra se inoculó en tres ratones respectivamente, uno de estos ratones fue sacrificado después de un periodo de incubación de cinco días y los dos ratones restantes se sacrificaron seis semanas después de la inoculación. Después de sacrificar a los ratones se obtuvieron improntas de exudado peritoneal, y de sus cerebros se realizaron cortes histológicos seriados.

Para la identificación y diferenciación del parásito se utilizó la tinción de hematoxilina y eosina para los cortes histológicos y el colorante de Giemsa para las improntas de exudado peritoneal. Los cortes histológicos que resultaron sospechosos se tiñeron posteriormente con la técnica de Giemsa.

De los cortes histológicos obtenidos, sólo en dos de ellos se identificó el parásito. Estas dos muestras positivas representan un 5% de positividad en la prueba, este resultado no es determinante ya que la prueba utilizada requiere del apoyo de pruebas más sensibles y menos laboriosas como podrían ser las pruebas serológicas. Apesar de lo anterior por los resultados encontrados se concluye entonces que el consumo o manejo de la carne de bovino representa un vehículo para la adquisición de la toxoplasmosis.

CAPITULO PRIMERO

Agente etiológico

La toxoplasmosis es una infección altamente difundida que afecta al hombre y a los animales, causada por el protozooario Toxoplasma gondii el cual fue descubierto por Nicolle y Manceaux en el año de 1908, en un pequeño roedor del norte de África (Ctenodactylus gondii).

Estos autores le llamaron Toxoplasma gondii, tomando en cuenta su forma (toxo en griego significa arco) y el nombre científico del roedor en el que fue descubierto, para asignar género y especie (8,11,18 y 28).

Filogenéticamente dentro del género Toxoplasma se agrupan los parásitos que pertenecen al Phylum Protozoa, Subphylum Apicomplexa - Clase Sporozoa; Subclase Coccidia; Orden Eucoccidia, Suborden Eimeriina. Se reconoce una especie única, Toxoplasma gondii, y todas las cepas son antigénicamente similares (Levine, 1970) (8)

El hospedero definitivo natural del parásito es el gato y otros felinos (puma, ocelote, lince, leopardo y tigrillo) (8,30,37,47y53)

La infección es muy prevalente en humanos, así como en bovinos, ovinos, caprinos, y roedores; además de otras especies animales, los cuales son hospederos intermediarios (2,8,44,45 y 54)

Morfología.

Toxoplasma gondii es un parásito estrictamente intracelular tiene aspecto de media luna de tres a siete micrometros de largo por dos a tres de ancho, se tiñe con Wright, Giemsa y otros colorantes; se observa citoplasma azul con un núcleo central rojo. Presenta una forma proliferativa el taquizoíto o trofozoíto y una forma quística.

El taquizoíto presenta en su porción anterior el llamado complejo apical, compuesto de una envoltura externa en un sistema integrado por veintidos microtúbulos submembranosos que dan movimiento en espiral a lo largo y ancho de la célula y cuyo grado de intensidad varía; además presenta, toxonemas, microporo, anillos polares y el conoide; tiene un solo núcleo y carece de órganos de locomoción. Posee una-

Posee una estructura compleja que lo hace capaz de una variedad de movimientos como extensión, rotación y retracción (8y9). Recientemente se ha observado que además de estos movimientos posee otro que se presenta durante la penetración a la célula del hospedero y que consiste en un movimiento de tipo rotatorio pero muy lento y se cree que la naturaleza fibrilar de los elementos espirales está involucrada en dicha motilidad (30).

En nuevos estudios se ha localizado una sustancia de naturaleza lítica en la superficie de la parte externa de la célula a lo que se le ha llamado "factor de penetración", así como a la presencia de ciertas arrugas espirales en dirección contraria a la parte aguda de la célula, la cual se presenta durante la invasión activa del Toxoplasma gondii (30 y 40). Este proceso se ha caracterizado por la destrucción de la membrana plasmática de la célula del hospedero, la falta de agregación de microfilamentos en el citoplasma al sitio de entrada y una deficiencia en su respiración (39).

El quiste de Toxoplasma puede medir hasta 100 micrometros, es esférico y en tejido muscular es alargado; tiene una pared fina y elástica de naturaleza argirófila, que, aunque dotada de cierta resistencia, se rompe si se somete a una fuerte presión. No se conoce con precisión el origen de la pared quística, ya que se ignora cuáles son las aportaciones respectivas del hospedero y del mismo parásito. En las células lesionadas no se observa afectado el núcleo, y se desarrolla tanto intra como extracelularmente, según le convenga dadas las condiciones del medio; y éste a diferencia del trofozoito no puede ser destruido con el medio ácido del estómago (42 y 54).

Ciclo biológico.

El ciclo biológico de Toxoplasma gondii consiste en dos fases, la fase enteroepitelial y la fase sistémica o generalizada (7). La fase enteroepitelial se lleva a cabo en el intestino delgado del gato, el cual se infecta al ingerir quistes esporulados o carne de a

animales con quistes que contienen bradizoítos (7,8 y 35).

Cuando la infección ocurre al ingerir un quiste, la disolución de éste se lleva a cabo con la ayuda de enzimas proteolíticas del estómago; esto origina que se liberen los bradizoítos, que estaban contenidos en el quiste, y así pueden penetrar en las células epiteliales del intestino. El parásito una vez que ha penetrado inicia la producción de numerosas generaciones asexuadas de A a E (anexo 1) y una gametogonia de la que se forman el macro y el microgametocitos, que son el gameto femenino y masculino respectivamente, después de esto se lleva a cabo la fertilización y se origina el ooquiste (7,8 y 17).

Una vez ocurrida la fecundación, pueden ocurrir dos cosas, que el ooquiste sea excretado y esporulado en las heces, o de no ocurrir la esporulación los ooquistes pueden permanecer a temperatura ambiente por uno o cuatro días, en la materia fecal recién eliminada sin ser infectantes (7). La esporulación se lleva a cabo en uno o más días de acuerdo con la temperatura, humedad y aereación ambientales. Durante la esporulación el ooquiste condensa su citoplasma, para formar los esporoblastos, de los cuales surgen dos esporozoítos, que al madurar forman cada uno de ellos cuatro esporozoítos, (7 y 8).

Los ooquistes pueden permanecer infectivos por más de un año en suelo húmedo y son altamente resistentes a los desinfectantes químicos (7,8 y 35).

Los felinos son importantes en la historia natural de Toxoplasma gondii ya que además de ser hospederos definitivos, son también hospederos intermediarios con un ciclo parasitario extraentérico y asexual, que ocurre simultáneamente con la fase enteroepitelial (7).

En el hombre u otro hospedero intermediario, el ciclo extraintestinal se inicia cuando se ingieren ooquistes esporulados o carne de animales que contienen bradizoítos (27 y 29).

En la lámina propia del intestino los taquizoítos proliferan rápidamente, de donde son llevados por ganglios linfáticos a la circulación venosa y a los pulmones. desde donde pueden ser diseminados por la circulación arterial a diferentes órganos, así como por lin-

focitos y granulocitos, o bien pueden circular como formas libres. Ya en esta situación pueden ocurrir dos cosas, si hay una adecuada respuesta inmunitaria, los anticuerpos específicos contra Toxoplasma acaban por destruir las formas libres o extracelulares, obligando al parásito a protegerse, el músculo esquelético y cardíaco son especialmente favorecidos (7).

Si el mecanismo inmunitario no responde adecuadamente, ya dentro de la célula parasitada los taquizoitos se multiplican por endodigenua, hasta que la célula estalla y se liberan los taquizoitos y pueden infectar así nuevas células; este período corresponde a la forma aguda de la enfermedad (7 y 32).

En los mamíferos incluyendo al hombre, las rutas de infección son las mismas que en los felinos, con la adición de la vía transplacentaria (7).

Consultar anexo 1.

Epidemiología.

Epidemiológicamente se considera a la toxoplasmosis como una zoonosis parasitaria con una amplia gama de hospederos potenciales en la naturaleza (2,5,45 y 54).

En estudios serológicos se muestra que la infección humana fluctúa de un 60 a 80% en diversas poblaciones. En México, la encuesta serológica practicada en 1966 por Varela y Roch, demostró una frecuencia de infección del 38.5%, siendo los Estados de Durango, Guanajuato, Guerrero, Morelos, Nuevo León, Puebla, Queretaro, Quintana Roo, Sinaloa, Tabasco, Veracruz y Yucatán, los más afectados con una frecuencia entre el 30 y 40% de la población y el más alto riesgo se presenta en embarazadas y niños nacidos de madres con antecedente de aborto, desnutrición intrauterina, prematuridad, crecimiento deficiente y algunos más sugestivos que presentan alteraciones hepáticas, neurológicas y del globo ocular (8,15,47 y 53).

La toxoplasmosis se transmite principalmente por ingestión de oocistos diseminados en los lugares donde los ratos defecan como: jardines, patios, azotea, pastizales, etc. por la ingestión de quistes (conteniendo la forma de bradizoito), en carnes o vísceras -

cuando se consumen crudas o mal cocidas; a través de la placenta - cuando la madre presenta la infección asintomática o no diagnóstica, la cual constituye la forma más común de transmisión entre mamíferos, y es de vital importancia para el hombre por las alteraciones y secuelas que produce en el feto (4,7,26,27 y 37).

En México, Roch encontró que de cada 1000 recién nacidos 19 tienen anticuerpos contra Toxoplasma, lo cual revela infecciones neonatales o al menos la presencia de altos títulos en la madre y por tanto, riesgo de transmisión transplacentaria. Si se toma en cuenta que aproximadamente hay 350 000 partos en esta ciudad, de acuerdo con los datos mencionados habrá cada año entre 2800 y 6650 niños con riesgo potencial de sufrir toxoplasmosis neonatal (4).

Los felinos son de fundamental importancia en la epidemiología, porque eliminan con sus heces ooquistes que al esporular en el medio externo, son sumamente resistentes a los factores físicos y químicos. Los gatos se infectan a su vez al ingerir pájaros, ratones, o carne de otros animales con quistes conteniendo bradizoítos. En algunos países la ausencia relativa de Toxoplasma se ha visto relacionada con la ausencia o presencia de gatos, ya que en ciertas regiones en donde estos animales son muy frecuentes, y sus heces se distribuyen en las casas y alrededor de éstas, la frecuencia de anticuerpos contra el parásito es relativamente elevada en los niños mientras que en las zonas urbanas donde la carne se consume cruda o poco cocida la cual tiene la posibilidad de estar contaminada con bradizoítos la frecuencia de la infección en los adultos es elevada (1,7,19,26,27,30,47 y 50). En ciertos lugares donde la carne cruda es muy apreciada y existe la creencia de que "es buena para la salud" de los niños pequeños, la infección es frecuente en ellos (8,11 y 51)

En las poblaciones donde se ingiere la carne de res cruda, molida, bajo la forma de carne tártara, es elevada la frecuencia de infección (32,44,51 y 54).

Reportes adicionales han demostrado la presencia de Toxoplasma gondii en la carne de cerdo, específicamente de diafragma, la cual comúnmente es utilizada en la preparación de salchichas y embutidos y chorizos; la frecuencia de la enfermedad se asocia a la cos-

tumbre que se tiene de comer este tipo de carne en hamburguesas y sandwiches, sobre todo en Francia (35,46 y 54).

La toxoplasmosis usualmente ocurre de manera individual, aunque se han visto casos de formas endémicas. En los estudios hechos por Magaldi en la Universidad de Sao Paulo se describe una epidemia causada por el consumo de hamburguesas, donde se utilizó para el estudio tanto el diagnóstico clínico como el serológico, encontrando cuadros de toxoplasmosis con síntomas principales de linfadenopatía y fiebre; concluyendo en éste que la carne utilizada estaba contaminada y además pobremente cocida. Otro caso fué detectado en una vecinda en Brasil donde las condiciones higiénicas eran muy deficientes y la presencia de gatos, ratas y piojos eran muy elevada, y, por tanto estos se encargaron de diseminar al parásito por todas las viviendas (7,20 y 35).

La adquisición de la toxoplasmosis por animales herbívoros, parece ser causada por los animales domésticos, gatos, o directamente por moscas y cucarachas; se sugiere que los moluscos pueden actuar también como vectores, al ser ingeridos por otros animales en el momento en que estos se encuentran pastando. (7,8,22, 35,47 y 51).

La posibilidad de que Toxoplasma gondii se transmita por artrópodos hematófagos, ha sido estudiada, pero se han obtenido resultados positivos sólo en las garrapatas (42 y 54).

Se conocen casos de infección humana debido a las lesiones producidas por agujas contaminadas, transfusiones sanguíneas (de sangre completa, plaquetas o leucocitos), lo cual es extraordinariamente frecuente sobre todo en los medios hospitalarios y, aún más en la actualidad se han encontrado tejidos y órganos transplantados que contienen los trofozoitos (1,8,33,35,53 y 54)

Por otro lado los trofozoitos pueden permanecer vivos por algunas horas o días en las secreciones corporales, líquido ascítico, orina, lágrimas, saliva, leche, ya sea humana o de animales (leche bronca) y de esta manera llegar hasta el hospedero susceptible (8,35,47 y 54).

Se ha señalado que existe una relación entre la manipulación de carne y la presencia de seropositividad. En una encuesta sero

lógica entre 144 empleados y obreros de un matadero de belo Horizonte Brasil, se encontró una prevalencia del 72% comprobándose - la tasa más alta (92%) entre los inspectores de carne y la más - baja (60%) entre los obreros de los corrales.

También se ha encontrado una frecuencia de infección mayor entre las amas de casa, que manipulan la carne en la cocina, que en la población en general.

Este hecho podría explicarse por la contaminación de las manos y la consiguiente infección por vía bucal (7).

Patogenia

Toxoplasma gondii es un parásito que ataca la mayor parte de los órganos con predilección por los sistemas nervioso central y reticuloendotelial. En la infección aguda, después de la invasión de la célula, el parásito se multiplica dentro de ella y termina destruyendola. Tiende a estimular la producción de exudado seroso en las cavidades orgánicas, necrosis en las zonas invadidas y pequeños focos de consolidación (5 y 18). Se estima que una exotoxina potente es la causante de las lesiones granulomatosas que caracterizan a la enfermedad (5).

El grado de alteraciones patológicas en la enfermedad, depende del poder proliferativo del parásito, el número de células destruidas y de la resistencia o hipersensibilidad del sujeto. Cuando por parte del hospedero existe una resistencia natural, inmunidad natural o adquirida, el parásito se enquistando dando origen a la forma crónica o asintomática de la enfermedad. El quiste empieza a crecer ocasionando una compresión y destrucción de los tejidos parasitados (48). La persistencia de los quistes dependerá de la respuesta inmune del hospedero, mientras esta sea estable, se mantendrá la forma quística. De haber una alteración o deficiencia inmunitaria, se corre el riesgo de una reactivación de la enfermedad; la enfermedad es particularmente grave y mortal en pacientes debilitados con inmunodeficiencia celular, niños leucémicos o adultos con linfomas, en pacientes con órganos de transplan-

te bajo terapia inmunosupresora, también debe considerarse la enfermedad de Hodgkin que se acompaña siempre, de deficiencia inmunitaria (8,37 y 44).

En relación a las infecciones prenatales, el feto puede ser invadido siguiendo la vía de una placentitis inicial, la cual puede producir reabsorción fetal o aborto, y si el feto llega a término puede nacer muerto o afectado de toxoplasmosis congénita (5).

Existen varias teorías acerca de la manera en que *Toxoplasma* puede colonizar el feto, la primera, una parasitemia debida a una infección reciente, y se acepta que los trofozoítos atraviesan la placenta e invaden al feto; o bien que un leucocito infectado pueda atravesar la placenta y entrar a la circulación fetal, otra manera sería que el parásito penetre a través de una rotura o lesión en la placenta (32,33 y 54).

Por otro lado cuando la madre sufre una toxoplasmosis crónica, y existen quistes endo y miometriales, se cree en la posibilidad, de que el quiste, por la presión que ejerce el feto sobre el útero durante el embarazo, se rompe y libera los parásitos, los cuales pueden llegar al feto e infectarlo (37 y 54).

El grado en que la infección materna por *Toxoplasma gondii* afecta al producto, varía notablemente como consecuencia de diversos factores entre los que se pueden considerar los siguientes : a) intensidad de la infección y b) momento de la gestación en que se afecta al producto (8,35,37 y 47). Si la infección se produce durante el período de organogénesis, y no muestra la intensidad suficiente para provocar el aborto, el producto puede llegar a término del embarazo con malformaciones del sistema nervioso central, con la fusión de ambos hemisferios, hipoplasia del cerebelo, microcefalia, y fetopatías en general (22,35,47 y 53). Si esto sucede durante el segundo trimestre del embarazo, pueden producirse malformaciones congénitas, aborto espontáneo o niños con la forma subclínica de la enfermedad (8,35,47 y 49). Si la enfermedad se instala al final del embarazo, pueden presentarse partos prematuros, formas sistémicas y generalizadas de la enfermedad o niños aparentemente normales pero con las formas quísticas crónicas de las mismas (8,37,47 y 53). En México el -

61% de los niños afectados presentan las alteraciones clínicas, - con mortalidad del 6%, mientras que el resto es detectado en perinatología o neonatología como infección subclínica (47).

Cuadro clínico.

Se ha clasificado a la toxoplasmosis en dos formas importantes:

- a) toxoplasmosis congénita.
- b) toxoplasmosis adquirida.

La toxoplasmosis congénita a diferencia de la toxoplasmosis adquirida, es un enfermedad grave y muchas veces mortal (35,47 y 49)

Las primeras descripciones sobre la toxoplasmosis congénita y su diagnóstico clínico, se hicieron sobre la base de la presencia de la clásica triada sindrómica de esta modalidad clínica de la enfermedad, dada por corioretinitis, hidrocefalia y calcificaciones cerebrales. Actualmente se ha demostrado que estas manifestaciones de la enfermedad pueden no presentarse en su totalidad o inclusive, estar ausentes en el momento del nacimiento (3, 8,35,37,47 y 49).

Las manifestaciones de la enfermedad toxoplásmica que afectan al feto corresponden a la intensidad y localización de las lesiones necróticas o inflamatorias del encefalo o del ojo (3,42 y 53) Durante las primeras horas, o incluso los primeros días, el recién nacido es aparentemente normal, posteriormente los signos - más frecuentes son: nistagmo, hiperreflexia, sopor, alteraciones en el ritmo respiratorio y cardíaco; ictericia, hepatomegalia, alteraciones hematológicas, esplenomegalia y finalmente trastornos oculares que no siempre son detectados tempranamente (8,10,-37,47 y 53).

Las manifestaciones de la toxoplasmosis en la edad adulta pueden corresponder a un proceso adquirido o bien a la agudización de la infección congénita que permaneció durante mucho tiempo - sin expresión clínica, consisten fundamentalmente en adenomeg~~al~~

lia, fiebre, fatiga y malestar no claramente definido; ocasionalmente se presentan alteraciones miocárdicas, pericárdicas o neurológicas, lesiones exantemáticas y congestión faringoamigdalina (8, 10, 37, 47 y 53).

Aun cuando los signos anteriormente citados, pueden presentarse en forma separada, algunos pacientes presentan todos o la mayoría de ellos; sin embargo, lo habitual es que predominen aquellos que se refieren a determinado aparato o sistema, y en orden de frecuencia las manifestaciones corresponden a: 1) aparato digestivo (hígado). 2) sistema nervioso central. 3) aparato respiratorio. 4) Globo ocular.

Aparato digestivo: el crecimiento de la glándula hepática acompañado o no de ictericia, y aumento del volumen del bazo, es el dato que aparece primeramente (53).

Sistema nervioso central; convulsiones, temblores de grupos musculares, hiperreflexia, alteraciones en los movimientos oculares, trastornos en la deglución, rigidez de nuca, somnolencia, sopor y coma (53).

Aparato respiratorio: además de períodos de apnea de origen central, se observa disnea, cianosis, arritmia cardíaca y taquicardia (53).

Globo ocular: las lesiones coriorretinianas generalmente son subclínicas y difíciles de diagnosticar, y se han detectado sólo después de episodios agudos de toxoplasmosis congénita (37 y 53). En todos los casos que se sospeche de toxoplasmosis, es necesario investigar si existen alteraciones en la integridad visual del enfermo. La toxoplasmosis retiniana aguda adquirida es unilateral, a diferencia de la enfermedad congénita que tiende a ser bilateral (42 y 51).

Se debe insistir en el señalamiento de que tanto en la toxoplasmosis congénita como en la adquirida, las formas clínicas latentes con quistes localizados en distintos tejidos, y positividad sérica con títulos bajos, resulta ser la variedad clínica más frecuente de la enfermedad; siendo a veces totalmente imposible determinar si la contaminación se produjo pre o postparto (37 y 42).

Lesiones

Sistema nervioso central: las lesiones encefálicas de la enfermedad ocasionada por Toxoplasma gondii difieren si la infección es crónica o aguda.

La enfermedad crónica se caracteriza por la presencia de hidrocefalia por obstrucción del acueducto de Silvio; la dilatación de el sistema ventricular conduce a grados variables de atrofia cerebral, que puede ser tan acentuada que el cerebro aparece como membrana transparente llena de líquido. El tejido residual muestra abundantes calcificaciones (5 y 53).

Microscópicamente, se encuentran numerosos quistes conteniendo bradizoitos, y se observan dispersos entre sales cálcicas precipitadas; algunos de los quistes se agrupan y están envueltos por gruesas bandas de tejido conjuntivo (53).

La enfermedad aguda se caracteriza por la ausencia de dilatación del sistema ventricular,; si existen lesiones macroscópicas se caracterizan por necrosis hemorrágica de tamaño variable; aunque en algunos casos no se observan alteraciones en el tejido cerebral. En la observación microscópica se detecta la presencia de "grupos" de taquizoitos, es frecuente también encontrar quistes con abundantes bradizoitos sin reacción inflamatoria circulante (53).

Las lesiones no necesariamente se localizan en cerebro y tronco cerebral, a menudo se extienden a todo lo largo de la médula espinal hasta la cola de caballo (53).

Hígado: la enfermedad aguda se caracteriza por degeneración de los hepatocitos que puede llegar a la necrosis, pérdida de la arquitectura, proliferación de las células de Kupffer; la imagen histológica es semejante a la que proporciona la hepatitis viral (34 y 53).

Páncreas: de estar implicado, la infección aguda presenta una extensa necrosis grasa, necrosis de células acinosas (34).

Intestino: se ha citado la presencia de úlceras duodenales, en algunos casos son muy aparentes, engrosándose el segmento intestinal afectado hasta dos o tres veces a causa de las hemorragias y

edema (34).

Miocardio: al igual que en el hígado, la infección crónica en miocardio se manifiesta por la presencia de pequeños focos de fibrosis. El proceso agudo muestra zona de infiltrado por linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos que rodean fibras musculares con diversos grados de degeneración que puede llegar a la necrosis; la observación cuidadosa de cortes de miocardio permite localizar fibras miocárdicas aumentadas de volumen por la presencia de abundantes parásitos en su citoplasma (53).

Glándulas suprarrenales; la enfermedad de larga evolución en las cápsulas suprarrenales se manifiesta por la necrosis masiva del órgano; microscópicamente se observa la presencia de abundantes "grupos" de parásitos y precipitación de sales cálcicas. En la enfermedad aguda se muestran características en todo semejantes a las observadas en la necrosis hepatosuprarrenal de etiología herpética. Las suprarrenales presentan numerosas zonas congestivas que microscópicamente corresponden a necrosis del tejido; en el tejido lesionado y en el tejido normal, es posible identificar "grupos" de taquizoitos (53).

Ganglios linfáticos: la imagen histopatológica de los ganglios linfáticos afectados por la infección de Toxoplasma gondii es tan característica que permite afirmar el diagnóstico; las alteraciones más frecuentemente observadas son las siguientes: Hiperplasia folicular reactiva, con numerosos grupos de células epiteloides localizadas en las zonas corticales y paracorticales (34 y 53)

La presencia de pseudoquistes toxoplásmicos, en las biopsias aólicas resultan muy frecuentes (37).

Globo ocular: en el estudio oftalmoscópico del fondo de la retina suele mostrar lesiones en diferentes estadios evolutivos; aparecen manchas de color blanco amarillento, las lesiones recientes se encuentran como copos de algodón con bordes poco precisos; las lesiones menos recientes son de color blanquecino de límites muy nítidos salpicadas de grumos de pigmento, también puede observarse edema retiniano en el área macular y peripapilar; después de la muerte de las células ganglionares de la retina ocurre la de generación retrógrada de varias fibras con atrofia segmentaria -

del nervio óptico (24,35,37,51 y 53).

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico habitualmente es difícil, por la variedad de sín tomas clínicas que puede adoptar y porque los métodos que dan certeza en el diagnóstico (demostración de trofozoitos en el tejido afectado y aislamiento del parásito en líquidos corporales) no son aplicables a la práctica clínica (47).

Existen varios métodos de diagnóstico:

Demostración directa: el diagnóstico de toxoplasmosis depende de la demostración del parásito en sangre total, fracción leucocitaria, médula ósea, líquido cefalorraquídeo, o en los exudados de las cavidades serosas mediante la tinción con colorantes ordinarios como Giemsa o Wright; cuando se observa en el estadio libre, el citoplasma es azul y el núcleo se aprecia irregular de color rojo púrpura, que ocupa una quinta o cuarta parte de la célula. El núcleo se encuentra cerca del extremo redondeado del parásito-- (12 y 18).

Cortes histológicos: el parásito se puede demostrar en cortes microscópicos de ganglio linfático, ojo, encéfalo, etc., teñidos con el método de PAS y con tinción argéntica de Grocott (19).

Si bien es cierto que los quistes de Toxoplasma gondii tienen apetencia por numerosos colorantes, en ocasiones es muy difícil su localización, tanto por su pequeño tamaño, como por la poca diferenciación que presenta con las estructuras vecinas,; sin embargo la impresión argéntica de Grocott permite resaltar en negro los quistes o "grupos" de Toxoplasma gondii, cuando se contrasta con verde brillante la estructura que circunda al parásito (8,42 y 53).

Inoculación en animales: la inoculación intraperitoneal en el ratón es lo más utilizado y el parásito puede ser aislado de los tejidos infectados, tales como el diafragma, ganglios linfáticos retina, líquidos corporales, sangre total; muestras de carne digerida por enzimas, etc.,

El aislamiento de trofozoitos en el exudado peritoneal del ratón confirma la infección aguda o la infección generalizada recurrente, también se pueden detectar quistes en el cerebro y otros órganos del ratón (12,14, 42 y 47).

Método de tinción de Sabin y Feldman: consiste en una reacción citoplásmica en la que los anticuerpos, en presencia de un factor accesorio, ejercen un efecto citotóxico sobre los parásitos, que puede ser demostrado por la adición de un colorante vital, como el azul de metileno alcalino que adicionado a una suspensión de toxoplasmas vivos se colorean intensamente en azul, pero si previamente se mezclaban los toxoplasmas vivos con el suero de un paciente que presente anticuerpos, éstos permanecían incoloros (37, 42 y 47).

Se considera el método de elección entre las pruebas disponibles, tiene un gran valor en la infección aguda, se trata de una prueba sensible y específica de la existencia de anticuerpos anti-toxoplasma tanto en el hombre como en los animales.

Sus inconvenientes son: la necesidad de contar con un antígeno constituido por toxoplasmas vivos, lo que obliga al mantenimiento de una cepa de Toxoplasma por resiembra continua en ratón, lo que resulta caro y no exento de riesgos.

Requiere el llamado "factor accesorio", que es un componente del suero humano, que solo se halla presente en uno de cada 100 donadores, y el cual una vez separado de los glóbulos rojos, debe de conservarse a temperatura muy baja (42).

Intradermorreacción: basada en una reacción cutánea tardía se hace positiva a los pocos meses de infección por el Toxoplasma (pero más tarde que las pruebas serológicas) y, probablemente la positividad se mantiene por toda la vida (42).

En la actualidad ha perdido vigencia por sus frecuentes falsos resultados positivos y negativos, por lo que se usa solamente en encuestas epidemiológicas y siempre con ciertas reservas (37 y 42)

Prueba de hemaglutinación indirecta: la prueba es sensible y específica, pero dá una débil reacción cruzada con Besnoitia fel-lisoni. Se ha utilizado para estudios seroepidemiológicos y di-

agnóstico. La prueba parece presentar ciertas deficiencias para detectar anticuerpos en la fase aguda de la enfermedad, no se recomienda su uso en casos de toxoplasmosis congénita (8 y 42).

Fijación de complemento: prueba muy específica y relativamente sensible. Los anticuerpos que fijan complemento se forman más tarde que los de otras pruebas, los títulos son relativamente bajos, y descienden rápidamente. Los resultados son positivos exclusivamente en las infecciones agudas, la prueba es de utilidad si se utiliza antígeno soluble (8 y 42).

Inmunofluorescencia indirecta: es una prueba sensible, tiene la ventaja de que se trabaja con toxoplasmas muertos, lo que permite tener la seguridad de que no ocurran accidentes en el personal técnico que las realiza. Comparado con el método de tinción, tiene muchas ventajas, el punto final es nítido y evita el recuento de parásitos teñidos y no teñidos además de que no se requiere el factor accesorio. La sensibilidad de la prueba es análoga a la del método de tinción (8,37 y 42).

Prueba de anticuerpos fluorescentes IgM: Permite diagnosticar la infección reciente. La presencia de IgM en recién nacidos es un indicio seguro de infección prenatal; sin embargo, este método puede ser negativo en pacientes con inmunodeficiencia o toxoplasmosis aguda y en algunos casos de toxoplasmosis ocular aislada; puede haber también positivos falsos en sujetos con factor reumatoide o anticuerpos antinucleares (8).

Recientemente se han utilizado diferentes métodos como ELISA, el radioinmunoanálisis y la aglutinación que parecen alentadores por su rapidez y versatilidad. La prueba de ELISA tiene una sensibilidad de hasta 80% en toxoplasmosis congénita (8).

Diagnóstico diferencial

En el diagnóstico de la toxoplasmosis, tropezamos con dos serios problemas: el morfológico y el clínico.

Diagnóstico morfológico: respecto al aspecto morfológico e - existe un número de organismos (protozoarios y hongos) muy seme-

jantes a Toxoplasma tanto en su forma de taquizoito como de bradizoito, unos infectan al hombre y otros a muy diversos animales. Entre los que parasitan al hombre están : Leishmania, Tripanosoma, Sarcocystis, Criptococcus, (Torula) Histoplasma; y en los animales Eimeria, Klossiella, Hexamita, Encephalitozoon, etc. (51).

La similitud microscópica de estos microorganismos, cuando se observan en preparaciones de frotis, improntas y cortes histológicos de órganos y tejidos obtenidos de operaciones quirúrgicas o post-mortem obligan a riguroso y detenido estudio desechando todo lo que sea dudoso a fin de evitar errores.

En cuanto al problema clínico se deben tener en cuenta una serie de gérmenes que por su biología y patogénesis dan cuadros clínicos semejantes a la toxoplasmosis congénita, aguda y subaguda que generalmente se caracteriza por una encefaloretinopatía ; o con la toxoplasmosis adquirida cuya sintomatología es todavía más difusa, la cual se puede confundir en el primer caso con:encefalitis virales, rubeola. En el segundo caso con linfogranuloma, mononucleosis infecciosa, oclusión citomegálica. Enfermedad de Hodgkin, tuberculosis en sus diversas formas, etc. (8).

La toxoplasmosis congénita deberá diferenciarse de la rubeola , la infección por citomegalovirus (CMV) y herpes simple, las cuales pueden causar coroidoretinitis, además que los CMV y rubeola producen hidrocefalia o microcefalia con calcificaciones cerebrales (37). El aumento de las proteínas en el líquido cefalorraquídeo es el dato más constante de la toxoplasmosis manifiesta o subclínica (8).

La linfadenopatía toxoplásmica pudiera confundirse con la mononucleosis infecciosa por virus Epstein-Barr o CMV, linfomas, tuberculosis, leucemias, tularemia. El clínico deberá presentar particular atención en la enfermedad de Hodgkin, que bien pudiera dar lugar a errores lamentables, incluso en el diagnóstico histopatológico. La toxoplasmosis aguda adquirida pudiera simular otras infecciones microbianas sistémicas. La coroidoretinitis parasitaria deberá diferenciarse de la tuberculosis, histoplasmosis, sífilis y lepra, padecimientos de presentación común en México y otros países latinoamericanos (37).

La neurotoxoplasmosis aguda deberá distinguirse de la meningoencefalitis tuberculosa o micótica, el absceso y hemorragia cerebral, la leucoencefalopatía multifocal y las masas ocupativas con síndrome craneohipertensivo. En pacientes inmunodeficientes con proteínas altas y cultivos negativos para bacterias y hongos, debe sospecharse de toxoplasmosis (8).

Dentro del diagnóstico diferencial de lesiones retiniales parcialmente, incluye tuberculosis, sífilis, citomegalovirus, herpes simple y endoftalmitis candidal. Cuando hay evidencia de laboratorio de tuberculosis, sífilis y toxoplasmosis, el diagnóstico más probable es toxoplasmosis (51).

Infección en los animales.

La infección animal se ha comprobado en todo tipo de área geográfica, en unas 200 especies de mamíferos y con menos frecuencia en aves; estos animales pueden ser infectados en forma congénita, por carnivorismo y fecalismo con ingestión de los oquistes. En Europa se han comprobado tasas de parasitismo por arriba del 50% en la carne de ovinos, caprinos y cerdos sacrificados en los mataderos. Por regla general, los bovinos son más difíciles de infectar, los quistes en sus músculos son menos frecuentes y persisten por menos tiempo, así mismo, los títulos serológicos son bajos y duran menos que en otras especies (8,28 y 42).

La toxoplasmosis animal es muy semejante a la humana. Casi todas las manifestaciones clínicas observadas en el hombre se han podido encontrar también en los animales. En el animal, tanto las manifestaciones congénitas como las adquiridas suelen ser asintomáticas, pero pueden manifestarse por aborto o por lesiones fetales. Con menos frecuencia se observan infecciones agudas generalizadas y mortales, caracterizadas por fiebre, anorexia, disnea, linfadenopatía, Hepatosplenomegalia, iritis, vómito, coriorretinitis cianosis y trastornos neurológicos (5).

En la toxoplasmosis animal pueden encontrarse manifestaciones patológicas semejantes a casi todas las lesiones observadas en

la infección humana. En el animal la parasitemia es constante en las infecciones agudas, pero puede ser muy poco intensa en los casos crónicos. Las lesiones varían desde la necrosis grave hasta la proliferación granulomatosa de mononucleares y linfocitos. Las infecciones asintomáticas se caracterizan por la presencia de quistes que no provocan ninguna reacción aparente del hospedero y pueden persistir durante toda la vida del animal (8 y 42).

Los toxoplasmas se pueden aislar de casi todos los órganos, cerebro, diafragma, miocardio, tejido linfoide, pulmón, ovario, útero y placenta. Pueden encontrarse también parásitos viables en la sangre, la leche, el esputo, el vómito, la saliva, el flujo vaginal y el semen de los animales con infecciones agudas (22,35y 42)

El cuadro clínico y el curso de la toxoplasmosis varía notablemente entre las especies incluso entre animales de diversas edades (5).

En los bovinos, la toxoplasmosis tanto subclínica como clínica es poco frecuente. Se han descrito varios brotes con un curso agudo, caracterizado por fiebre, disnea, signos nerviosos que incluyen ataxia e hipersensibilidad en etapas tempranas, y letargia extrema en las tardías. Puede observarse también expulsión de feto muerto o de becerros débiles que mueren poco después del nacimiento. Los becerros afectados congénitamente muestran fiebre, disnea, estornudos, secreción nasal, rechinar de dientes y temblor de cabeza y cuello. La muerte ocurre después de un curso de dos a seis días (2,5 y 22).

La parasitemia en los bovinos se ha demostrado experimentalmente que puede ocurrir después de haber pasado meses de haberse dado la infección aguda, lo cual es importante ya que se utilizan transfusiones sanguíneas en estos animales como un método de tratamiento en la anemia aguda debida a infecciones por Babesia y Anaplasma (2).

En ovinos, aunque puede ocurrir un síndrome de fiebre, disnea, temblor generalizado, aborto y expulsión de feto muerto, el hallazgo más frecuente es el aborto y las muertes neonatales, ocurriendo aquél durante las tres o cuatro últimas semanas de gestación. Los corderos que llegan a término procedentes de ovejas a-

fectadas, pueden nacer muertos, o vivos pero débiles, pereciendo tres a cuatro días después. Los corderos afectados una vez nacidos, sufren de incoordinación muscular y no pueden alimentarse, presentan fiebre y disnea pero es rara la terminación mortal. Puede comprobarse resorción fetal en ovejas infectadas al principio de la gestación en los cotiledones placentarios se han encontrado lesiones necróticas (5,8,35 y 42).

Las crías porcinas menores de 12 semanas son más susceptibles que los animales de más edad, en ellos se observa debilidad, incoordinación, tos, temblor y diarrea, pero no fiebre. Estas crías pueden ser prematuras o nacer muertas, o enfermar a partir de un día a tres semanas de edad con disnea y consunción como signos prominentes. En las crías porcinas con la enfermedad aguda, se comprueba fiebre de hasta 42°C (1,15,31 y 25).

En los equinos la infección asintomática es común, pero la enfermedad ocurre sólo ocasionalmente. En los caballos con toxoplasmosis se han observado signos neurológicos progresivos, y los signos clínicos son ataxia, formación de círculo en la marcha, paresia y amaurosis (5 y 44).

En perros, los signos clínicos coexisten frecuentemente con los del moquillo, y no son en todo caso, suficientemente característicos para permitir su fácil diferenciación (22 y 42).

En las cabras, se ha aislado el Toxoplasma gondii, en tejido fetal, placenta y cotiledones maternos. Aborto debido a necrosis de la placenta, el cual se presenta durante la segunda o tercera semana después de la infección (5 y 45).

En aves la toxoplasmosis es poco frecuente, la enfermedad ha sido comprobada en varias especies de aves domésticas (pollo, patos y palomas) y en aves y pájaros silvestres en cautiverio. En los casos agudos pueden observarse focos necróticos en el hígado, bazo, pulmones y ganglios (36 y 42).

En gatos se han citado dos síndromes: uno agudo o subagudo de enfermedad generalizada, en los animales jóvenes caracterizado por síntomas respiratorios, ictericia, y linfadenopatías; y otro correspondiente a la enfermedad crónica localizada; y otro correspondiente a la enfermedad crónica localizada, propia de los

animales mas viejos, ordinariamente con signos de depauperación e intestinales (5,22,35,42 y 44).

Repercusiones económicas

Desde el punto de vista económico la especie de más interés son los ovinos, en Nueva Zelanda, Australia, Gran Bretaña, Dinamarca, URSS y en otros países que tienen una industria ovina desarrollada la toxoplasmosis origina grandes pérdidas debidas a los abortos que ocasiona o a la muerte de los corderos. La toxoplasmosis congénita en ovejas es altamente frecuente en Nueva Zelanda, Inglaterra y Australia, y se estima que la toxoplasmosis fue la causa de aborto y muerte neonatal del 46% de las ovejas (8,35, 42 y 46).

Los problemas de la reproducción del ganado bovino en los Estados Unidos, causan una pérdida anual de 14.2 millones de becerros, valuados en 760 millones de dólares, aunado a esto las pérdidas por abortos y el mantenimiento de vacas estériles. Estudios realizados en fetos por los investigadores del National Parasitology Institute Center en Beltesville muestran que dos protozoarios, el Toxoplasma y el Sarcocystis son los causantes de estos abortos(22)

Medidas preventivas en la toxoplasmosis humana

1.- Las mujeres gestantes deben evitar el contacto con tierra contaminada con las heces de los gatos. Cuando sea factible conviene realizar un muestreo serológico prenatal, en pacientes con síndrome fébril, adenomegalias o cuadro típico de mononucleosis, sospechosos de toxoplasmosis (6,8,19 y 43).

2.- Las frutas y verduras pueden ser contaminadas con ooquistes resistentes; debe insistirse en el lavado mecánico cuidadoso (8 y 18).

3.- Los sujetos seropositivos a Toxoplasma gondii no deben ser usados como donadores de órganos para trasplante.

4.- En pacientes inmunodeficientes o con terapia inmunosupresora es importante vigilar las transfusiones de sangre, de la misma manera que en la hepatitis viral B.

5.- El adiestramiento del personal médico y de laboratorio, además de la educación sanitaria, son necesarios para disminuir riesgos y daños de la toxoplasmosis (8).

6.- En cuanto a la prevención en los animales, las hembras que abortan o expulsan fetos muertos deben considerarse como portadoras y sacrificarse. La identificación de los animales infectados por medio de la prueba de fijación de complemento o recíproca de colorante, posibilita disminuir la fuente de infección. Parece ser necesario contacto inmediato para la propagación de la enfermedad pudiendo ayudar también en el control el aislamiento de los grupos infectados .

Por otro lado es necesario limitar estrictamente las poblaciones de los gatos y roedores en las granjas de cría intensiva donde estas especies se mezclan con animales productores de alimentos y pueden contaminar su comida (5).

Tratamiento

El tratamiento no es fácil de evaluar, especialmente en las formas congénitas, que frecuentemente afectan al sistema nervioso central, pues las lesiones al iniciar el tratamiento ya están establecidas y las secuelas no se pueden evitar, además en muchos casos el diagnóstico no es oportuno, el tratamiento se retrasa y los beneficios que se pueden ofrecer disminuyen considerablemente (9).

A pesar de lo anterior hay drogas que han probado eficacia, entre las que destacan la pirimetamina que asociada a una sulfamida absorbible (sulfadiazina) son hasta el momento los más eficaces, y en la actualidad el esquema de elección en las formas graves y congénitas (53). Hay que tener en cuenta que administrada en el primer trimestre de la gestación causa alteraciones en la morfogénesis cuando es administrada en animales (no se han hecho estudios en humanos) (47 y 53).

La pirimetamina (daraprim o melacide) antagonista del ácido fólico, compuesto liposoluble que se absorbe fácilmente en el tubo digestivo, aparentemente penetra en el interior de las células y su concentración en el líquido cefalorraquídeo es equivalente a 10.25% de la concentración plasmática. Este producto puede producir una depresión de la médula ósea, cuyas complicaciones más serias son 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 y levadura de cerveza en tabletas, con el fin de reducir la toxicidad potencial de la pirimetamina (8,22,35,47 y 49).

Las sulfamidas, cuya acción experimental contra *Toxoplasma*, se ha comprobado en el ratón y en el conejo. Los compuestos más-recomendables son la sulfadiazina o la mezcla de trisulfamida pirimidina (con partes iguales de sulfadiazina, sulfamerazina y sulfametazina). Este fármaco puede producir cristaluria, hematuria y reacciones alérgicas diversas. En general las sulfamidas, se administran con la pirimetamina, obteniéndose un efecto terapéutico sinérgico (8,35,42,47 y 49). La combinación está indicada en pacientes inmunodeficientes o con formas graves de toxoplasmosis y la duración aproximada del tratamiento se ha estimado en alrededor de un mes (8).

La espiramicina (R-rovamicina), es un antimicrobiano menos activo que las sulfamidas o pirimetamina, aunque tiene la ventaja enorme de su inocuidad, tolerancia excelente, alta concentración tisular placentaria y ausencia de teratogenicidad, por lo cual se ha empleado en el tratamiento de la toxoplasmosis aguda en-

las mujeres gestantes (8,9 y 35).

El inconveniente que presenta la espiramicina es su difícil adquisición en México (47).

En la toxoplasmosis ocular leve, se puede usar la asociación espiramicina-sulfamidas, en casos graves o con reacciones es preferible usar la combinación espiramicina-sulfamidas con prednisona.

Existen datos experimentales preliminares de que la clindamicina inyectada particularmente sea también eficaz en el tratamiento de la coroidorretinitis en humanos (8).

se ha empleado clindamicina en dos pacientes con toxoplasmosis ocular (coriorretinitis) con buenos resultados aparentes. Este antibiótico experimentalmente tiene acción, tanto sobre los taquizoitos, como sobre los quistes tisulares, característica que no posee ningún otro medicamento, recientemente en coriorretinitis se ha empleado con excelentes resultados, aunque hasta el momento son escasos los ensayos terapéuticos publicados y no hay estudios controlados. Experimentalmente su acción sobre Toxoplasma gondii es mayor que la de trimetoprim-sulfametoxazol y que la espiramicina; únicamente es superada por la pirimetamina (9).

La clindamicina se usa en México para el tratamiento de la coriorretinitis, con resultados alentadores, pero no se aconseja su uso por la toxicidad que origina (35 y 47).

Con todo esto, se le puede decir al paciente cuales son las posibilidades de curación y sobre todo en los casos de toxoplasmosis congénita, cuando la infección ha ocurrido en la semana 10 a 13 de gestación en las que hay peligro de malformaciones, y si se piensa en la posibilidad de tratamiento. Según las estadísticas de estudios retrospectivos; de 100 productos con posibilidades de estar afectados por Toxoplasma, el 14% nace con la enfermedad activa y el 6% nacen muertos si no se da tratamiento (47).

En caso de decidirse por el tratamiento, hay que tener en cuenta que los fármacos que se usan van a tener repercusiones sobre el producto y originar secuelas en el estado prenatal, o bien, dejar cursar el embarazo espontáneamente. Hay un grupo de médicos obstetras que opinan, que una toxoplasmosis en útero requie-

re la suspensión del embarazo, pero no sin antes confirmar que la infección se presentó en su forma aguda durante la gestación (37 y 47).

Nada permite suponer que la administración de agentes quimioterapéuticos a los recién nacidos con toxoplasmosis congénita, influye de algún modo en el transcurso de la enfermedad. A lo más que se puede aspirar es a frenar la aparición de posteriores lesiones tisulares (42, 47 y 49). Toda decisión sobre la institución de un tipo de tratamiento habrá de basarse en las circunstancias personales, y si en cualquier caso se decide intentar la terapéutica, habrá de advertir antes a la familia que es poco probable que se consiga una mejoría importante (42 y 47).

OBJETIVOS

Objetivo general.

Determinar la presencia de toxoplasma gondii en carne de bovino.

Objetivos específicos.

En base a los resultados obtenidos, discutir la posibilidad de transmisión de la toxoplasmosis al humano por medio del consumo de carne de bovino cruda o mal cocida parasitada con Toxoplasma gondii.

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

CAPITULO SEGUNDO

Material y método

Material biológico.

120 ratones blancos criados en laboratorio, en buen estado de salud, del mismo sexo (machos) y peso en promedio similar. 40 muestras de diafragma de bovinos recientemente sacrificados ; que se obtuvieron en el rastro de Ferrería, 10 muestras diarias durante cuatro días consecutivos.

Material reactivo.

Solución salina al 0.8%, agua destilada, tripsina al 0.25%, penicilina y estreptomina 100 U.I./ml, cortisona, formol al 10%, alcohol metílico, colorante de Giemsa, Hematoxilina y Eosina.

Reactivos para procesamiento de tejidos, por el método de inclusión en parafina. (alcohol etílico, xilol y parafina).

Material y aparatos.

Matraces aforados de 1 litro, pipetas graduadas de 5 ml., pipetas volumétricas de 3 ml., embudos, porta y cubreobjetos, agitadores magnéticos, magnetos, charola de disección, soporte universal, gradillas, centrífuga, microtomo knife Sharpener, histokingete, baño de flotación de tejidos, platina (thermostat), microscopio óptico tetraocular.

Método para el aislamiento de Toxoplasma

- 1.- Obtener 10g de músculo (diafragma) de bovino que haya sido recientemente sacrificado (40 muestras elegidas al azar).
- 2.- Macerar la muestra y posteriormente verterla en un matraz Erlenmeyer que contiene 100 ml. de solución salina al 0.9% y triplicina al 0.25%.
- 3.- Agitar con magneto durante una hora a temperatura ambiente.
- 4.- Filtrar la solución con dos gasas para eliminar los restos de tejido y grasa.
- 5.- Centrifugar la solución anterior a 2 500 rpm. durante 15 minutos.
- 6.- Lavar el sedimento con solución salina y centrifugar a 2 500 rpm. durante 15 minutos, haciendo esto dos veces.
- 7.- Del último lavado centrifugar a 3 000 rpm. durante 10 minutos.
- 8.- Suspender el sedimento en 3 ml. de solución salina que contiene penicilina y estreptomycin 100 U.I./ml.
- 9.- De un grupo de tres ratones inocular a cada uno 1 ml. de la solución anterior por vía intraperitoneal y al mismo tiempo aplicar 5.0 mg. de cortisona.
- 10.- A los 5 días posteriores a la inoculación sacrificar uno de los animales, extraer el cerebro y hacer una impronta de líquido peritoneal.
- 11.- Fijar la impronta con alcohol metílico, teñir con colorante de Giemsa y observar al microscopio.

12.- Fijar el cerebro con formol al 10% durante un tiempo mí
nimo de 24 horas.

13.- El cerebro ya fijado se somete a procesamiento en histoki-
nette, posteriormente incluir en parafina y realizar cortes seria
dos en el microtomo.

14.- Teñir los cortes con Hematoxilina-Eosina y observar al mi
croscopio.

15.- Los dos animales restantes se mantienen durante 6 semanas
al cabo de las cuales se sacrifican y se sigue el mismo procedi
miento que con el primer ratón.

Consultar anexo 11.

el porcentaje de la presencia de Toxoplasma gondii en los bovinos y de que manera influye en la adquisición de la toxoplasmosis para los humanos.

El resultado obtenido, que es el 5% de presencia de Toxoplasma gondii en bovinos, no se puede comparar del todo con los resultados obtenidos en diferentes investigaciones realizadas en otros países y en las que se utilizaron como prueba de diagnóstico exámenes serológicos, en su mayoría inmunofluorescencia indirecta, hemaglutinación indirecta y Sabin y Feldman. En el presente trabajo no se realizaron pruebas serológicas, sino una prueba biológica, la inoculación en ratones. Existen algunos trabajos en los que se utilizaron ambas técnicas de diagnóstico, y se inoculan muestras de animales con resultados serológicos positivos, o en otros casos se inoculan oquistes de Toxoplasma gondii y para corroborar si existe infección, se hacen pruebas serológicas.

En 1977 Alvimar (2) lleva a cabo trabajos en los que infecta experimentalmente a bovinos con oquistes de Toxoplasma gondii y para confirmar si existe infección hace estudios serológicos mediante la prueba de Sabin y Feldman e inmunofluorescencia además de inocular suspensiones de diferentes tejidos en ratas, para observar los taquizoitos en el exudado peritoneal. El parásito se encontró más comúnmente en ganglios linfáticos, y no se encontró en cerebro, corazón, pulmón y bazo.

Montoya en 1981 en Colombia (41), estudia la prevalencia de anticuerpos contra Toxoplasma gondii en bovinos y en porcinos, mediante la prueba de hemaglutinación indirecta. En los bovinos se encontró una prevalencia del 24%.

En Brasil, en un trabajo realizado por Costa y Costa en 1978 (14) mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta, encontraron una prevalencia del 12%.

Con respecto a la intensidad de la respuesta inmunológica en los bovinos, se observa que es baja, ya que la máxima titulación obtenida con hemaglutinación indirecta fue de 1:128.

Los bovinos son más difíciles de infectar, ya que los quistes en sus músculos son menos frecuentes y persisten por tiempo menor, así mismo los títulos serológicos son bajos y duran menos tiempo que

Resultados

De un total de 120 ratones inoculados, de los 40 ratones que se sacrificaron 5 días post inoculación; en los exudados peritoneales obtenidos de ellos, ninguno resultó ser positivo, ya que no se observó el taquizoito de Toxoplasma, además en los cortes histológicos de cerebro no se observó el quiste, ni lesiones sugestivas de la presencia de Toxoplasma gondii.

Los 80 ratones restantes se mantuvieron durante 6 semanas, después de las cuales se sacrificaron obteniéndose las improntas del exudado peritoneal resultando también todas ellas negativas.

De los cortes histológicos de cada cerebro de ratón, los correspondientes a las muestras: 7,8,10,17,20 y 33 se observaron estructuras semejantes al quiste de Toxoplasma, y lesiones como infiltración linfocitaria que se consideran características de la infección por Toxoplasma.

Para confirmar el diagnóstico se realizó una nueva tinción, ahora utilizando Giemsa como colorante, resultando positivas sólo las muestras 7 y 10. Lo que representa un 5% de muestras positivas a Toxoplasma gondii.

Discusión

En el presente trabajo las muestras de carne de bovino fueron seleccionadas al azar, de los animales que fueron sacrificados en los rastros de Ferrería y Ecatepec. A estos rastros llegan animales provenientes de diferentes lugares para ser sacrificados, pertenecen a distintos tipos de explotaciones y por tanto con cuidados y alimentación muy variada.

Los animales fueron seleccionados al azar con la finalidad de tener un grupo más representativo y así poder determinar cual es

el porcentaje de la presencia de Toxoplasma gondii en los bovinos y de que manera influye en la adquisición de la toxoplasmosis para los humanos.

El resultado obtenido, que es el 5% de presencia de Toxoplasma gondii en bovinos, no se puede comparar del todo con los resultados obtenidos en diferentes investigaciones realizadas en otros países y en las que se utilizaron como prueba de diagnóstico exámenes serológicos, en su mayoría inmunofluorescencia indirecta, hemaglutinación indirecta y Sabin y Feldman. En el presente trabajo no se realizaron pruebas serológicas, sino una prueba biológica, la inoculación en ratones. Existen algunos trabajos en los que se utilizaron ambas técnicas de diagnóstico, y se inoculan muestras de animales con resultados serológicos positivos, o en otros casos se inoculan ooquistes de Toxoplasma gondii y para corroborar si existe infección, se hacen pruebas serológicas.

En 1977 Alvimar (2) lleva a cabo trabajos en los que infecta experimentalmente a bovinos con ooquistes de Toxoplasma gondii y para confirmar si existe infección hace estudios serológicos mediante la prueba de Sabin y Feldman e inmunofluorescencia además de inocular suspensiones de diferentes tejidos en ratas, para observar los taquizoitos en el exudado peritoneal. El parásito se encontró más comunmente en ganglios linfáticos, y no se encontró en cerebro, corazón, pulmón y bazo.

Montoya en 1981 en Colombia (41), estudia la prevalencia de anticuerpos contra Toxoplasma gondii en bovinos y en porcinos, mediante la prueba de hemaglutinación indirecta. En los bovinos se encontró una prevalencia del 24%.

En Brasil, en un trabajo realizado por Costa y Costa en 1978 (14) mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta, encontraron una prevalencia del 12%.

Con respecto a la intensidad de la respuesta inmunológica en los bovinos, se observa que es baja, ya que la máxima titulación obtenida con hemaglutinación indirecta fue de 1:128.

Los bovinos son más difíciles de infectar, ya que los quistes en sus músculos son menos frecuentes y persisten por tiempo menor, así mismo los títulos serológicos son bajos y duran menos tiempo que

en otras especies. Duberly en 1976 citado por Carrado Bravo (41).

Mayer y Boehringer en 1967 (2) aislaron al parásito de retina, un 18% de un total de 597 becerros y según resultados es poco frecuente que el Toxoplasma se aisle de los músculos de los bovinos.

Rommel en 1966 (2) realiza una infección experimental en becerros y aísla al parásito de diferentes tejidos, pero sólo en el estado agudo de la infección. Los órganos más comunmente infectados fueron pulmón, hígado y ganglios linfáticos.

En 1969 Cotar (41) reporta el aislamiento de Toxoplasma gondii, de un grupo de 85 becerros, resultando positivos 8 (9.4%). 4 se aislaron de cerebro, 2 de diafragma y 2 de sangre. Estos aislamientos se correlacionaron con pruebas serológicas, como fijación de complemento con títulos de 1:4 o más altos; no se aisló nada de becerros seronegativos.

Piper en 1970 (29) realiza estudios de tejidos oculares, de un total de 10 becerros 3 con infección natural, presumiblemente identificados por serología y 7 con infección experimental. El Toxoplasma fue aislado de la retina de 5, así como varias lesiones fueron descritas en el iris.

En el presente trabajo no se realizaron pruebas serológicas que sirvieran de apoyo para confirmar los resultados obtenidos del 5% de orealencia de Toxoplasma gondii en bovinos. Lo cual hubiera sido de gran utilidad, ya que la identificación del parásito en los cortes histológicos es difícil y requiere que sean revisados por personas con experiencia en su identificación, por otro lado dadas las características del parásito de enquistarse en diferentes órganos, lo más conveniente sería muestrear varios órganos, pero esto implicaría un esfuerzo y tiempo mayor además del costo que esto representaría.

La prueba de inoculación en ratones por sí sola, no es una prueba adecuada de diagnóstico, pero puede utilizarse paralelamente con pruebas serológicas y así inocular la carne de animales que tengan resultados serológicos positivos, y así esta prueba serviría para corroborar el diagnóstico de infección por Toxoplasma.

CAPITULO CUARTO

Conclusiones

En base a los resultados planteados en este trabajo podemos concluir que Toxoplasma gondii se detectó en un 5% de la carne de los bovinos muestreados y por tanto el consumo de ésta, cruda o mal cocida constituye un vehículo para la adquisición de la toxoplasmosis por los humanos.

Por otro lado la inoculación de la carne de bovino en ratones puede ser de utilidad si se usa paralelamente con pruebas serológicas, tomando en cuenta que estos animales presentan bajos títulos de anticuerpos y así utilizando las dos técnicas se obtendrían mejores resultados.

En cuanto a las desventajas que presenta la técnica se deben a que su realización requiere un tiempo considerable, y que el material y equipo que se utiliza, tanto para el procesamiento de las muestras como para realizar los cortes histológicos es caro y generalmente sólo cuentan con él las instituciones de investigación.

La prueba sería de fundamental utilidad para realizar estudios en cuanto a la localización del parásito en las diferentes regiones del cerebro, y con esto poder determinar si existe alguna relación entre las manifestaciones de la enfermedad y el lugar que elige el parásito para alojarse dentro del cerebro.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Aisner M.d. Seena C. Aisner J. and Arnet.
" Acquired Toxoplasmic Lymphadenitis Demonstration of the Cyst Form."
A.J.C.P. January, 1983, pp 125-127
- 2.- Alvimar C., Fausto G., Costa O.
" Experimental Infection of bovines with oocysts of Toxoplasma gondii."
Journal of Parasitology, Vol 63, No.2, April, 1977, pp 217-218
- 3.- Babil S.
" Infants Potentially at Risk for Congenital Toxoplasmosis."
Am. J. Dis. Child. Vol. 134, 1980 pp. 538-541
- 4.- Biagi F.
" Prevención de la Toxoplasmosis neonatal."
Banco de datos de enfermedades transmisibles.
División de Vigilancia Epidemiológica IMSS. 1980
- 5.- Blood D.C. Enfermedades causadas por protozoarios . Ed Interamericana, 5^aed., Cap. 26 México 1985
- 6.- Brown W. Harold. Parasitología clínica. Ed. Salvat, 4^a ed.
"Protozoarios de la sangre y tejidos del hombre". México 1981
pp. 320
- 7.- Canadian Veterinary Medical Association Convention.
Moncton, N.B. Can. Vet. Vol. 22 November 1981
- 8.- Carrada B.
" La toxoplasmosis, problema de salud pública, avances y perspectivas."
Bol. Méd. Hosp. Infant Méx. Vol. 40 No. 7 Julio, 1983, pp 353-362

9.- Cedillo R. Morales M.

" Dificultades en el diagnóstico y tratamiento de la toxoplasmosis."

Bol. Méd. Hosp. Infant. Vol. 39. No. 5, mayo 1982, pp 361-365

10.- Christofher B. Sergio S.

" Development of advance Sequele in Children Born with Subclinical Toxoplasma infection."

Pediatrics. Vol.66 No. 5,1980,pp 767-774

11.- Cuadrado M. Rodríguez O.

" Estudio seroepidemiologico de la toxoplasmosis humana en la Provincia de Valencia."

Revista Ibérica de Parasitología, Vol.41, fase 3, 1981, pp447-459

12.- Davidsohn I. y Henry J. Toff-Sanford. Diagnóstico clínico por el laboratorio. Ed. Salvat, 6^aed. Cap. 19, "Parasitología Medica." México 1978, pp1984

13.-Desanka S.

" Etudes sur lépidemie de la toxoplasme en Serbie."

Acta Parasit. Iugosl. Vol.11, No. 1-2 1980, pp 5-13

14.- Dutra G. Renato L. Sergio G.

" Insolation of toxoplasma from the soil during an outbreak of toxoplasmosis in a rural area in Brasil."

J. Parasitol. Vol. 68, NO. 5 1981, pp 866-868

15.- D.W.T. Crompton and A. Hall.

" Parasitic infection and host nutrition."

Parasitology. Vol. 82, 1981, pp 31-48

16.- Edgar A. Steck.

" Chemotherapy af Protozoan Infections, Restrospect and Prospects."

J.Protozool, Vol.1, No.28,1981 pp 10

17.- Edgar S.

" The chemotherapy of protozoal infections of man."

J. Protozool, Vol. 1, No. 28, pp 10

18.- Faust Carrol Ernest. Parasitologia clinica; Ed. Salvat,

2^a ed. Barcelona, 1979, pp 88

19.- Frenkel and Smith.

" Inhibitory effects of monensin on shedding of Toxoplasma oocysts by cats."

J. Parasitol, Vol. 68, No. 5, 1985, pp 851-855

20.- García D.

" Toxoplasmosis y enfermedades mentales."

Rev. Cub. Med. Trop., Vol. 31, mayo-agosto, 1979, pp 127-131

21.- Hagiwara T. Katsube Y.

" Insolation of Toxoplasma from muscles of human, dogs and cats."

J. Med. Sci. Biol. Vol. 20, pp 413-419

22.- H.V. Stalheim. Hubbert W.T.

" Bovine toxoplasmosis and sarcocystosis, with emphasis on their role in bovine abortions."

JAVWA, Vol. 176, February 1980, pp 299-302

23.- J. Hay. D.I. Graham, and J.C. Shm.

" Meningo-encephalitis accompanying retinochoroiditis in a murine model of congenital toxoplasmosis."

Annals of Tropical Medicine and Parasitology, Vol. 79, No. 1 1985, pp 21-29

24.- J. Hay, Dutton N.

" Congenital toxoplasmic retinochoroiditis in a mouse model."

Annals of Tropical Medicine and Parasitology, Vol. 78, No. 2 1984 pp. 109-116

25.- J. Hay.

" Short communications. Localization of brain damage in mice following Toxoplasma infection."

Annals of Tropical medicine and Parasitology, Vol. 78, No. 6
pp 657-659

26.- J.K. Frenkel and Ruiz A.

" Human Toxoplasmosis and cat contact in Costa Rica."

Ad. J. Trop. Med. Hyg. Vol 29, No. 6, March, 1980, pp 1167-1180

27.- J.K. Frenkel and Ruiz A.

" Epidemicity of toxoplasmosis in Costa Rica."

American Journal of Epidemiology, Vol. 113, No. 3, 1981, pp 254-269

28.- J.M. Doby et Deunff j.

" Toxoplasmosis des herbivores sélevage en Bretagne."

Rec. Méd. Vét. Vol. 160, No. 2, Février, 1984, pp 101-106

29.- J.P. Dubey, Kirkbride C.

" Epizootics of ovine abortion due to Toxoplasma gondii in north central United States." JAVMA, Vol. 184, No. 6, March, 1984. pp 657-660

30.- James P. Comstock G.

" Association of cats and toxoplasmosis."

Am. J. Epidemiol. Vol. 111, No. 2, 1980, pp 238-246

31.- Katsube Y. Hagiwara T.

" Latent infection of Toxoplasma in swine."

Jap. J. Vet. Sci. Vol. 37, 1975, pp 245-252

32.- K.J.I. Thorne and Blanck J.

" Toxoplasma."

Advances in Parasitology, Vol. 22, pp 63-64

33.- K.J.I. Thorne and Blanck J.

" Toxoplasma." Vol. 32, pp 63-64

34.- K.V.F. Jubb, Peter C. Patología de los animales domésticos,
Ed. UPOME, tomos 1 y 11; México, 1985, pp 685

35.- Leon Jacobs.

"New Knowledge of Toxoplasma and toxoplasmosis."
Advances in Parasitology, Vol. 11, pp 631-669

36.- Leopoldo Paasch.

"Toxoplasmosis en palomas."
Nota informativa, Veterinaria Méx. No. 14, 1983, pp 39-41

37.- Leyva C.

"Toxoplasmosis."
Rev. Cub. Med. Trop. Vol. 31, No. 2, mayo-agosto 1979, pp 141-148

38.- L.P. Joyner.

"The chemotherapy of Protozoal Infections of veterinary importance."
J. Protozool, Vol. 28, No. 1, February, 1981, pp 17-19

39.- Chiappino M. Connor O.

"Scanning Electron Microscopy of Toxoplasma gondii, parasita tor
tion and Host-cell responses during invasion."
J. Protozool, Vol. 31, No. 2, 1984, pp 288-292

40.- M. Chinchilla M. Solano E.

"Lack of multiplication of Toxoplasma of rats in vitro."
J. Parasitol, Vol. 68, No. 5, 1982, pp 952-955

41.- Montoya R. Alfonso L.

"Prevalencia de anticuerpos para Toxoplasma gondii en bovinos
y porcinos."
Bol. of Sanit. Pan. Septiembre, 1981, pp 219-225

42.- Organización Mundial de la Salud.

"Toxoplasmosis."
Informe 431, Ginebra, 1969, pp 3-33

43.- Verdulve J. Cornelessen A.

" Separation of Isospora (Toxoplasma) cystozoites from mouse brain tissue by continuous."

Parasitology, Vol. 83, 1981, pp 103-108

44.- Research notes.

" Prevalence of Toxoplasma gondii in Horses."

J. Parasitol, Vol.65, No.2, 1979, pp 331-334

45.- Sharma S. Carlos W. Jeffne D.

" Caprine toxoplasmosis, abortion signs and distribution of Toxoplasma of goats feg Toxoplasma gondii oocysta."

Am. J. Vet. Res., Vol. 41, No. 7, pp 1072-1076

46.- Sharma P. and Dubey P.

" Parasitemia and tissue infection in sheep fed Toxoplasma gondii oocysts."

47.- Simposium Toxoplasmosis.

I.M.S.S. Auditorio No. 1, Centro Médico la Raza.

4-7 de marzo, 1986

48.- Soulsby E.J.C. Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals. Ed. Academic Press, fifth edition, 1982

49.- Stagno M.D.

" Congenital toxoplasmosis."

Am. J. Dis. Child. Vol. 134, July, 1980, pp635-637

50.- Takfugi T. Bebebson W. Michael L.

" Oocysts-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water."

The New England Journal of Medicine. Sept. 1982, pp666-669

51.- Tessler H.

" Ocular toxoplasmosis."

Principles and Practice of Ophthalmology, 1980, pp 185-199

52.- Khavkin T.

" Histological and ultrastructural studies of the interaction of Toxoplasma gondii with mouse omentum in experimental infection."

J. Protozool, Vol. 28, No.3, August, 1981, pp 317-325

53.- Villegas G. Fastas de Shor a.

" Toxoplasmosis, características anatomoclínicas e identificación morfológica del parásito."

Bol. Méd. Hosp. Infant. Vol. XXXIV, No.2, marzo-abril, 1977, pp473-486

54.-W.H. Hutchison.

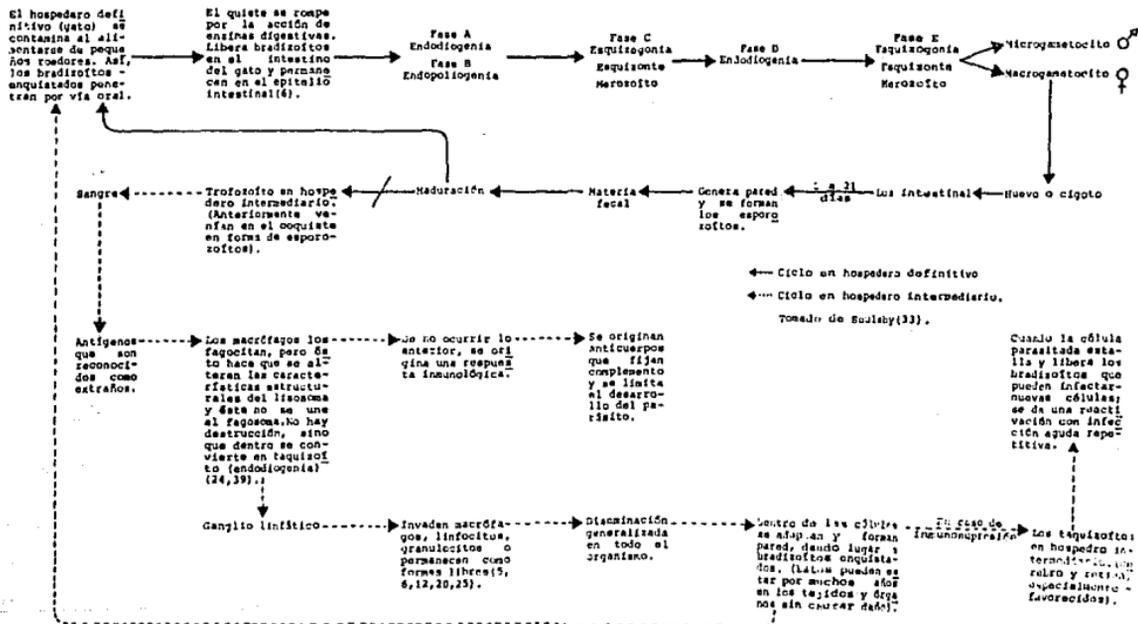
" Transmissible Toxoplasma."

British Society for Parasitology, Vol.7, 1969, pp 51-52

55.- Zaman Vigar. Atlas de parasitología clínica, Ed. Panamericana, México, 1981, pp 285

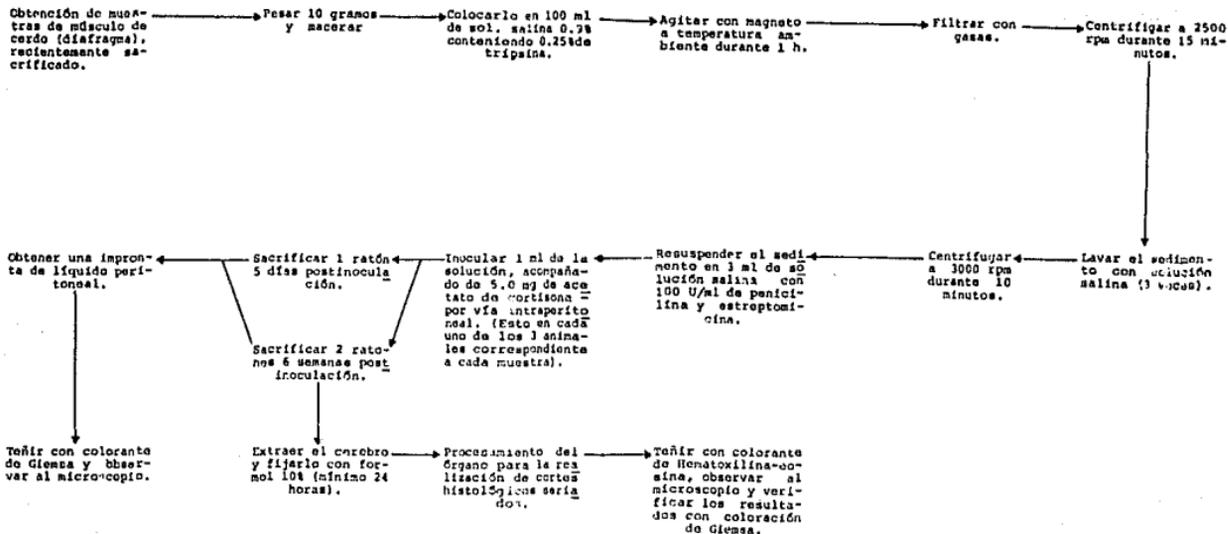
C) CICLO BIOLÓGICO DE *Toxoplasma gondii*

Anexo 1



PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Anexo 11



Técnica en: Hagihara, Katsuma, Hada(40).