

15.  
28j



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores  
"CUAUTITLAN"

DETERMINACION DE Toxoplasma gondii EN  
CONEJOS DE UNA EXPLOTACION INTENSIVA  
POR MEDIO DE INOCULACION DE RATONES  
BLANCOS

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A :  
RAUL MARCOS CAMPOGARRIDO ARBESU



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

Cuautitlán Izcalli, Edo. de 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.

## I N D I C E

INTRODUCCION	1
TRANSMISION A ANIMALES EXPERIMENTALES	6
PATOGENESIS	8
CICLO BIOLÓGICO DEL <u>Toxoplasma gondii</u>	11
CUADRO CLINICO	12
PATOLOGIA	14
DIAGNOSTICO DE LABORATORIO	16
MEDIDAS PREVENTIVAS DE LA TOXOPLASMOSIS	19
PLANTRAMIENTO DEL TRABAJO Y OBJETIVOS	21
MATERIAL Y METODOS	22
RESULTADOS	26
DISCUSION DE LOS RESULTADOS	27
CONCLUSIONES	29
MANEJO Y CARACTERISTICAS GENERALES DE LA EXPLOTACION	31
ANEXO	33
BIBLIOGRAFIA	36

## INTRODUCCION.

La toxoplasmosis es una zoonosis causada por el Toxoplasma gondii, un protozoario que afecta tanto a mamíferos como a aves; - con una distribución mundial. (2)(5)(8)(12)(13)(25)(28)

Solo los gatos domésticos junto con otros miembros de la --- familia Felidae son capaces de reproducir las formas asexuales y - sexuales del Toxoplasma gondii, con lo que los convierte en los únicos hospederos definitivos. Esto es importante ya que pueden eliminar Ooquistes de Toxoplasma que pueden llegar a contaminar un --- sin fin de materiales. (2)(5)(25)

Simultaneamente con los reportes de Nicolle y Manceaux en --- 1908 acerca de la toxoplasmosis en el gondii, roedor africano --- (Ctenodactylus gondii) en 1908 y 1909 se describió por Splendore - la misma enfermedad pero en conejos (Oryctolagus cuniculus). Estos estudios de toxoplasmosis aguda fueron seguidos durante los si--- guientes 50 años por esporádicos casos que describen la enfermedad entre los conejos domesticados en muchas partes del mundo, también ha sido reportada en otros animales de laboratorio como ratones, - ratas, cobayos y entre conejos silvestres. (2)(5)(28)

La toxoplasmosis ha sido diagnosticada entre cada uno de los siguientes 3 grupos de mamíferos domésticos: Carnívoros (perros y gatos), Ungulados (Bovinos, Cerdos y Ovejas) y Roedores (Conejos); estos últimos parecen ser particularmente susceptibles. La enfer---

medad también ha sido encontrada en granjas de crianza de animales para piel tales como la Chinchilla, Zorro Plateado y el Mink. (2)(12)(16)(26)

Estos animales domésticos se encuentran todos alrededor del mundo, exceptuando las regiones del Artico y Antártico. La toxoplasmosis ha sido reportada entre los conejos y perros en los 5 continentes. (2)(10)(27)(28)

Es de interes epizootológico que la toxoplasmosis ocurre en animales domésticos con muy variables modos de vida.

La gran incidencia de infecciones por Toxoplasma entre los animales que viven en contacto cercano con el hombre provoca una amplia posibilidad de contagio, ya que es extremadamente difícil determinar la fuente de infección. El parásito ha sido aislado de diversos materiales a partir del hombre y los animales; de la orina de niños con toxoplasmosis congénita y del tracto respiratorio de hombres que han padecido la enfermedad. En el caso de perros y conejos el parásito se ha obtenido de la orina, tracto respiratorio y úlceras de estómago e intestino. Además el Toxoplasma puede estar presente en la carne y cerebros de conejos, ovejas y cerdos infectados espontáneamente; en el calostro y la leche de las puercas y vacas y en los ovarios de gallinas infectadas. El parásito puede por lo tanto encontrarse en el esputo, secreciones nasales, heces, leche, carne y probablemente también en huevos crudos. (4)(7)(25)(31)(29)

Las formas infectivas del *Toxoplasma*: Bradizoitos, Taquizoitos y Esporozoitos se pueden llegar a transmitir por alguna de las siguientes formas: carnivorismo (por ingestión de Taquizoitos, Bradizoitos o ambos, contaminación con heces de felino que contengan Esporozoitos u Ooquistes esporulados); infección transplacentaria al feto con Taquizoitos (después de la ingestión de Bradizoitos -- enquistados u Ooquistes esporulados por parte de la madre). (5)(8) (25)

La vía de acceso de la infección no es conocida con certeza, pero los animales se pueden infectar experimentalmente a través de las diferentes membranas mucosas, por inhalación o ingestión y a través de heridas y arañazos en la piel. Existe la posibilidad de que la infección pueda transmitirse al hombre por el manejo de preparaciones como consumir comida (carne o vegetales) contaminada -- con material que contenga *Toxoplasma* (orina o heces con Ooquistes) o simplemente por comida cruda de animales infectados (carne, leche y huevo). (3)(4)

A excepción de la infección congénita, la transmisión directa de toxoplasmosis por contacto no ha sido demostrada en el hombre y los animales. (29)

Aparentemente la transmisión no ocurre fácilmente, un ratón libre de infección puede mantenerse en la misma jaula con animales infectados sin que contraiga la toxoplasmosis; excepto en casos en que el ratón muera y sea comido por animales sanos. Similarmente -

el personal de laboratorio que trabaja con Toxoplasma aparentemente solo se infecta cuando le ocurren accidentes directos con un material contaminado que en la mayoría de los casos además no es identificado. (11)(20)

Hallazgos histopatológicos en conejos y perros indican una — infección por vía oral. En algunos casos de personas que adquieren toxoplasmosis, su primer signo es la inflamación de los ganglios - linfáticos cervicales, apuntando así el tracto digestivo y respiratorio superior como la vía de acceso. Además se tiene que adicio—nar a las posibilidades de transmisión, la inoculación del parásito por insectos hematófagos, muy especialmente las garrapatas. (1)  
(20)

En adición a la forma aguda y crónica de la — enfermedad, la toxoplasmosis en el conejo se puede encontrar en forma latente, como fue encontrada por Lainson al realizar exámenes serológicos a - conejos que eran clínicamente sanos. (10)(25)(28)

Aunque no definitivamente probado, la forma latente puede ser reactivada cuando los conejos son expuestos a tratamientos experi—mentales de diversas clases. (12)(19)

Varios investigadores han recurrido a la prueba de inocula—ción en ratones para detectar una infección de toxoplasmosis en diversos animales domésticos; con el fin de llegar a un diagnóstico acertado, al demostrar físicamente la presencia del Toxoplasma

gondii a partir de un tejido del animal sospechoso de padecer la -  
infección. (2)(6)(7)(9)(10)(14)(15)(18)(24)(26)



## TRANSMISION. A ANIMALES EXPERIMENTALES

Los resultados de los intentos para transmitir toxoplasmosis experimentalmente dentro del mismo tipo de animales o a partir de un tipo de animal a otro, han sido muy inconstantes. La explicación natural para esto es la gran frecuencia de infecciones espontáneas en animales de experimentación; todavía más, la patogenicidad de las cepas del *Toxoplasma* varía y frecuentemente es leve durante los primeros pasajes por animales, resultando esto en una infección subclínica. Si son inoculados animales experimentales portando *Toxoplasma*, puede resultar una mezcla de diferentes cepas de este parásito. Autores como Splendore (1908, 1909), Levi della Vida (1914), Perrin (1943) y Wiktor (1950) fueron capaces de reproducir una toxoplasmosis fatal a partir de conejos con toxoplasmosis espontánea, llevando a cabo el aislamiento en animales experimentales como conejo, cobayo, ratones y aves. (1)(6)(9) (28)

Lainson (1956) llevó a cabo experimentos en ratones y conejos con una cepa aislada del cerebro de un conejo con infección latente.

Moller (1958) transmitió *Toxoplasma* a ratones y conejos aislado del cerebro de conejos que murieron debido a una toxoplasmosis aguda y a partir de músculo esquelético de conejos infectados crónicamente. (26)

Inoculaciones experimentales en conejos han dado interesantes resultados, Kass (1952) inoculó una coneja gestante con la cepa RH intraperitonealmente y encontró que la transmisión transplacentaria podía ocurrir por lo que el *Toxoplasma* podía aislarse por medio de inoculación de suspensiones a partir de placentas y embriones en los ratones. Similarmente Roth y col. (1957) indujeron una transmisión transplacentaria en conejos a través de una infección intranasal con una cepa atenuada. Los exámenes anatomopatológicos muestran inflamación necrótica granulomatosa en las membranas embrionarias, y encefalitis focal en los embriones infectados por vía uterina. Jacobs y col. (1954) así como Smith (1956) produjeron un proceso inflamatorio en el ojo, uveitis aguda anterior y coriorretinitis en los conejos inoculados con *Toxoplasma* por vía intraocular; ciertamente estas manifestaciones no han sido encontradas en infecciones espontáneas en conejos, pero si podrían llegar a encontrarse. (12)(13)(18)(26)

## PATOGENESIS

Es posible infectar conejos experimentalmente a través de piel rasurada, por vía transcutánea, intranasal, conjuntival, intraocular, intraperitoneal, hematogena y transplacentaria. (2)  
(10)(16)

Nicolau (1933) y Kass (1952) infectaron conejos oralmente. Sin embargo examinando más de cerca la puerta de entrada de la infección oral, Kass fue incapaz de infectar conejos por medio de la administración de *Toxoplasma* en cápsulas de gelatina con quistes de *Toxoplasma* dentro del estómago (28). Zolf y col. (1940) no tuvieron suerte en infectar conejos por medio de la inoculación de *Toxoplasma* mediante una sonda gástrica. (26)

Los hallazgos anatomopatológicos en conejos, los cuales murieron por toxoplasmosis aguda espontánea y en particular la necrosis de los ganglios linfáticos mesentéricos indican primariamente infección entérica con focos primarios criptogénicos. (7)  
(11)

La infección primaria es seguida por una generalización linfohemática con el desarrollo de una toxoplasmemia demostrada experimentalmente por Jacobs y Jones (1950) y Fritz (1951). Al mismo tiempo se desarrollan anticuerpos circulantes. El balance entre la cantidad y la virulencia del *Toxoplasma*, y la resistencia del organismo determinan el curso de la enfermedad. (26)

De acuerdo al caracter histomorfológico e histoquímico de la reacción tisular, la toxoplasmosis aguda pareciera ser una manifestación de hiperalergia de la enfermedad. En estos casos el organismo parece no ser capaz de construir una sólida inmunidad, pero reacciona anafilacticamente. (26)

En la Toxoplasmosis crónica la infección se limita a las células del sistema reticuloendotelial en las cuales prolifera; tomando así la infección el caracter de reticuloendoteliosis. (9)

(28)

Desde que la presencia de anticuerpos circulantes no parece influenciar la localización intracelular del Toxoplasma, la posibilidad de toxoplasmosis latente también existe; en la cual los toxoplasmas estan encapsulados en quistes localizados principalmente en el Sistema Nervioso Central. Aquí la infección es difícil de combatir por que existe la barrera "Hemato-encefálica". (28)

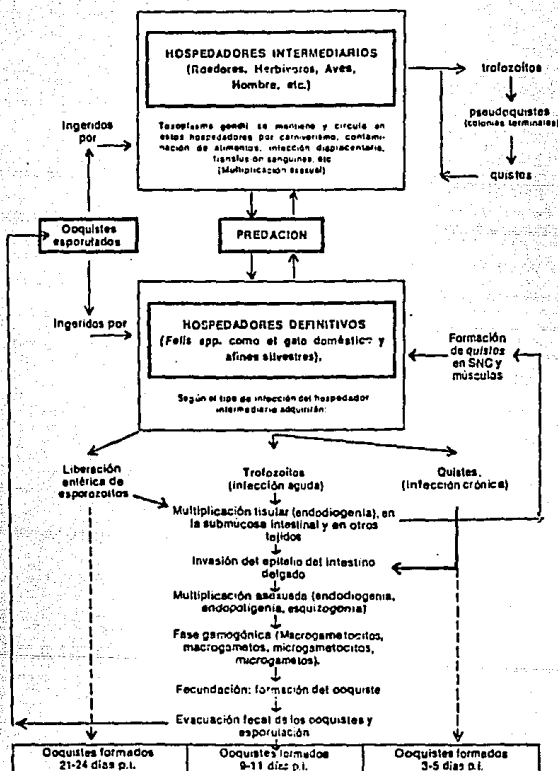
La reactivación parece ocurrir en conejos con infección latente usados para experimentos de diferentes clases. (9)(26)

Una de las preguntas que surgen, es que si al parecer todos los animales infectados primariamente desarrollan una infección crónica latente, o si algunos pueden estar completamente libres de infección. De este problema Frenkel (1956) escribió: "Juzgando a partir de la alta incidencia de anticuerpos y de sensibilidad a la toxoplasmina en algunas poblaciones de humanos y animales, aunado con la virtual ausencia de la enfermedad clinicamente reconocida,

es posible suponer que algunos de esos organismos implicados puedan no estar actualmente infectados por más tiempo." No es posible por el momento distinguir por medio de serología o intradermo reacción ; si los individuos permanecen infectados o si están curados.  
(26)

Lainson (1956) encontró que dos conejos mantenidos por 7 meses junto con dos animales con infección latente crónica desarrollaron bajos y transitorios títulos de anticuerpos fijadores de complemento; aún así, el *Toxoplasma* no se pudo aislar a partir de estos conejos, lo que podría indicar que los conejos que son infectados, quizás son capaces de controlar ellos mismos la infección.  
(18)(26)(28)

## CICLO BIOLÓGICO DEL Toxoplasma gondii



## CUADRO CLINICO

La toxoplasmosis generalmente ocurre enzooticamente con signos clínicos en conejos mantenidos lejos de otros (también cuando son mantenidos en cajas separadas). Durante la primera semana del brote muchos casos de muerte por toxoplasmosis aguda ocurren, --- principalmente entre los animales jóvenes. Al mismo tiempo casos crónicos se desarrollan esporadicamente, generalmente entre conejos que llegan a la pubertad. La mortalidad es alta en colonias atacadas por toxoplasmosis aguda, Morotel y Pierron (1943) encontraron una mortalidad del 35%, Wiktor (1950) 80% y Moller (1958) del 31%. (26)

Heje en 1957 observó el mismo curso agudo con alta mortalidad en una colonia grande de 600 conejos jóvenes, la mitad de los cuales murieron de toxoplasmosis aguda en el curso de 6 a 10 días; -- la fuente o causa de la infección nunca se conoció. (12)(24)(26)

La toxoplasmosis aguda es caracterizada clínicamente por repentina anorexia, elevación de la temperatura corporal (40°C). Al mismo tiempo la frecuencia respiratoria es incrementada y existe una descarga por ojos y nariz serosa o seropurulenta; las heces -- son generalmente normales. En el curso de pocos días hay alteraciones nerviosas que empiezan a manifestarse en forma de convulsiones generalizadas o localizadas durante las cuales la muerte se presenta. En algunos casos se desarrolla parálisis, particularmente en --

los miembros traseros. La muerte ocurre después de 2 a 8 días de enfermedad. (4)(7)(10)

En la toxoplasmosis crónica un largo curso se observa (15 a 25 días) durante el cual los animales tienen un pobre apetito y de ese modo se empiezan a emaciar en grados variables; la anemia frecuentemente se desarrolla. La muerte puede ocurrir repentina e inexplicablemente, pero muchos animales parecen recuperarse.

Exámenes serológicos en las colonias de conejos, pueden revelar muchos casos de toxoplasmosis con curso subclínico o casos en donde solo aparecen signos transitorios no característicos. (2)

(4)(7)(10)(17)(26)



**PATOLOGIA**

Exámen o estudio general.- Desde hace mucho está disponible - información anatomopatológica, pero solo unas pocas observaciones clínicas, es por esto natural que la toxoplasmosis en conejos está calificada en base al estudio post-mortem. Winsor (1948) ha usado observaciones clinicoepidemiológicas para el estudio de la toxoplasmosis en conejos, mientras tanto Moller (1958) ha sugerido una clasificación anatomopatologica. (2)(24)(28)

Toxoplasmosis aguda generalizada.- Los hallazgos a la necropsia muestran severa inflamación y necrosis extensa de los ganglios linfáticos mesentéricos y bazo. La mucosa del intestino delgado está congestionada. Hígado: hepatomegalia, en la superficie y en la profundidad del órgano focos pequeños del tamaño de una cabeza de alfiler de color blanquecino, de distribución irregular en todos los lóbulos. Pulmones: edema y pequeños focos de necrosis diseminados en todo el pulmón. Corazón: focos necróticos fusiformes en el miocardio. (6)(13)(24)

Exámenes histológicos revelaron reacciones en el sistema retículo endotelial y en el tejido conectivo vascular, siendo este último el más destacado. Un edema severo se desarrolla en las paredes vasculares, en el tejido perivascular y en la sustancia intercelular de los órganos; ocurre entonces una degeneración fibrinoide del mismo tejido que finalmente sufre una necrosis coagulativa.

El caracter histomorfológico e histoquímico del tejido indica una aguda reacción inflamatoria hiperalérgica. (4)(6)(13)(17)(28)

Toxoplasmosis crónica generalizada.- Los hallazgos encontrados en la necropsia son menos característicos que aquellos de la forma aguda. En los ganglios linfáticos mesentéricos hay una pronunciada hiperplasia pero no existe necrosis o es pequeña; al corte tienen pérdida de su estructura normal y están jugosos. El bazo presente esplenomegalia moderada o severa con focos del tamaño de un alfiler completamente endurecidos. El hígado con focos blanquecinos. Pulmón con áreas de consolidación de color rojo oscuro a gris sucio, distribuidas irregularmente en todo el parénquima pulmonar, al corte aspecto jugoso y hemorrágico. (6)(13)(24)(26)

Cambios más característicos se pueden ver en el exámen histológico, particularmente en los ganglios linfáticos, bazo, hígado y Sistema Nervioso Central, en donde es frecuente encontrar quistes de Toxoplasma con gran cantidad de Bradizoitos. Estos pueden ser interpretados como procesos curativos que siguen a la toxoplasmosis aguda y como proliferación activa de las células del sistema retículo endotelial. La infección asume el caracter de reticuloendoteliosis especialmente con el desarrollo en los ganglios linfáticos de una hiperplasia de células reticulares, correspondiendo así a la condición que describieron Siim y Moller en sus casos en humanos y zorra plateada respectivamente. (6)(13)(26)(28)

## DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

En todos los seres incluyendo a los humanos, el diagnostico -- habitualmente es difícil debido a la gran variedad de síndromes -- que puede adoptar y por que los métodos que dan certeza en el diagnostico (demostración de Trofozoitos en los tejidos dañados y aislamiento del parásito en líquidos corporales) no son aplicables a la práctica clínica. Los métodos más usados son los serológicos; y de estos la prueba tintoreal de Sabin y Feldman y la Inmunofluorescencia directa o indirecta, que aunque son calificados como sensibles, específicos y reproducibles, tienen limitaciones importantes. Sin embargo para la demostración de las formas congénitas son las que más se han estandarizado y presentan un alto índice de seguridad (28). Recientemente se han desarrollado técnicas para la determinación de anticuerpos específicos contra el Toxoplasma; tal es la técnica de Elisa, cuyos resultados obtenidos hasta el momento son alentadores, informandose una sensibilidad hasta de un 80% en la toxoplasmosis congénita y adquirida. (1)(12)(26)(29)

Conejos con toxoplasmosis aguda experimental (cepa RH) producen anticuerpos específicos contra el Toxoplasma (Kass y Stern, 1951). Anticuerpos fijadores de complemento aparecen a la segunda semana después de la infección llegando a títulos de 1:384 (mayor de 1:100 es positivo) después de 4 semanas. La prueba de Sabin y Feldman (prueba del colorante) fue más sensitiva, y cantidades me-

dibles de anticuerpos se pueden demostrar al cuarto día después de la infección, ahí existe una buena correlación entre la prueba del colorante y la prueba de fijación de complemento.

Realizando la prueba del colorante y la de fijación de complemento fueron encontrados toxoplasmas en conejos domésticos, de laboratorio y conejos silvestres; a los cuales se pudo considerar como normales desde el punto de vista clínico. De los 105 conejos domésticos examinados solo 5 (4.8%) fueron encontrados naturalmente inmunes por la prueba de neutralización (Sabin, 1942); entre 22 conejos de laboratorio 1 (4.5%) mostró títulos positivos a la prueba del colorante 1:16. De 22 conejos silvestres examinados el 39% (Beverley y col. 1954) y el 18.7% (Morris y col. 1956) fueron serológicamente positivos. (1)(2)(22)(26)

Moller (1958) llevó a cabo un examen serológico a 7 colonias de conejos, en las cuales la toxoplasmosis aguda enzootica había sido diagnosticada. Un porcentaje de 70.4% fue encontrado positivo indicando así, una infección mucho más severa en dichas colonias que en las poblaciones normales seleccionadas al azar. Los estudios muestran también que un caso de toxoplasmosis aguda letal en una colonia de conejos significa que el caso puede ser considerado enzootico; en los cuales, ocurren casos crónicos así como también toxoplasmosis subclínica latente. (2)(10)(14)

Otra forma de diagnosticar la enfermedad es a través del aislamiento del parásito en ratones a partir de un material sospecho-

so de estar contaminado con Toxoplasma gondii (aislamiento en ratones o prueba biológica). (1)(7)(10)(14)(15)(18)(24)

También es posible el realizar un diagnostico en base a los hallazgos obtenidos a la necropsia; que mencionaron y describieron anteriormente. (1)(2)(10)(16)(22)(24)

De todas las pruebas serológicas provistas para el estudio de la toxoplasmosis solo 4 (Prueba de Sabin y Feldman, Fijación de complemento, Hemoaglutinación indirecta e inmunofluorescencia indirecta), se han empleado a fondo desde el punto de vista diagnostico y seroepidemiológico. (1)(6)(7)(9)(10)(12)(14)(15)(18)(22)(24)(25)

## MEDIDAS PREVENTIVAS DE LA TOXOPLASMOSIS

1.- La ingestión de carne cruda o mal cocida es peligrosa, -- por lo que se recomienda su cocción por arriba de la temperatura -- de los 60°C; para lograr así la destrucción de los quistes tisulares.

2.- Se recomienda que sobre todo las mujeres gestantes eviten el contacto con tierra contaminada con heces de gatos.

3.- Todo gato doméstico o felino que se trae a un ambiente -- doméstico debe someterse a control parasitológico mediante pruebas de laboratorio, para tener la seguridad de que no se encuentra infectado; se debe tener también la precaución de que estos animales no convivan con otros gatos no sometidos a control; se debe tener especial cuidado a su alimentación (se prefieren los alimentos -- procesados) y un buen control por parte del Médico Veterinario -- Zootecnista.

4.- Las frutas y verduras pueden ser contaminadas fácilmente -- con los Oquistes resistentes; por lo tanto, debe insistirse en el lavado mecánico cuidadoso de las mismas.

5.- En el caso de aborto en animales o expulsión de fetos -- muertos, se deben de considerar estos como portadores y sacrificar se; ya que se ha reportado en Ovinos, Caprinos y conejos una alta incidencia de abortos por toxoplasmosis; aunado a la imposibilidad de montar un posible tratamiento contra la enfermedad, ya que en -

ésta etapa no existe un posible remedio contra la infección. Los cadáveres de animales infectados y sospechosos deberán destruirse totalmente o por lo menos hacerse inaccesibles a los carnívoros -- (2). Por otro lado, de ser posible hay que limitar las poblaciones de gatos y roedores en las granjas de cría extensiva en donde estas especies se mezclan con los animales productores de alimento. (3)(5)(8)(19)(20)(21)(23)(30)

## PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO Y OBJETIVOS

De acuerdo con lo expuesto anteriormente, se procedió a realizar un muestreo dentro de una población de conejos en una explotación intensiva; planteandose los siguientes objetivos:

- 1.- Determinar la presencia de Toxoplasma gondii en carne de conejo, obtenida de una explotación intensiva ubicada en la zona de Cuautitlán Izcalli, Estado de México.
- 2.- Determinar la utilidad de la prueba biológica de inoculación en ratones como técnica de diagnóstico, en especies domésticas como el conejo.
- 3.- Inferir como el consumo de carne de conejo cruda o mal cocida, puede constituir una forma de transmisión de la toxoplasmosis hacia los humanos.



## MATERIAL Y METODOS

Las muestras se obtuvieron a partir del músculo diafragma del conejo (la totalidad del músculo) que se recolectaba inmediatamente después del sacrificio; eligiéndose para este fin 40 animales - al azar (debido a que se necesitaban gran cantidad de ratones, jaulas, espacio; así como material para el procesamiento de cada una de las muestras).

La explotación de la cual se obtuvieron las muestras, es de tipo intensivo y se encuentra ubicada dentro de los terrenos de la PES-C en Cuautitlán Izcalli; Estado de México.

### MATERIAL

Bisturí

Pinzas de Disección

Tijeras

Matraz de Erlenmeyer

Mortero

Jeringas de Insulina

Gasas

Tubos de Ensaye

Portaobjetos

Cubreobjetos

Frascos de Vidrio Esterilizados

Frascos Limpios

Mechero de Bunsen

Jaulas de Acrílico con reja metálica

Comida Comercial para ratones

#### EQUIPO

Agitador Magnético

Centrífuga

Microscópio

#### SUSTANCIAS

Solución Salina al 0.9%

Tripsina

Formol al 10%

Colorante de Giemsa para Tejidos

Penicilina

Estreptomicina

Flumetasona

Las muestras para el estudio se obtuvieron durante el periodo comprendido entre mayo a agosto de 1987. Inmediatamente después -- del sacrificio de los conejos dentro del módulo, el diafragma se -- disecaba con ayuda de un bisturí y se colocaba en un frasco de vi-  
drio estéril y en un lapso no mayor de 30 minutos se comenzaba su  
procesamiento en el Laboratorio de Parasitología de la FES-C. Esto  
era con el fin de evitar la contaminación de la muestra, con lo --  
cual se prevenía una alteración de los resultados que se obtuvie--  
ran.

Ya en el laboratorio de Parasitología de la FES-C el procesamiento de la muestra se llevó a cabo de la forma siguiente: La totalidad del diafragma del conejo se macera y se coloca en un matraz de Erlenmeyer que contenía 100 ml. de solución salina al 0.9% y Tripsina 0.25% para agitarse entonces con un magneto (Corning PC-353 Stirrer) durante 1 hora a temperatura ambiente y se filtró con gasas para eliminar las partículas grandes; se sometió a centrifugación a 2500 rpm durante 15 minutos, y el sedimento se lavó con solución salina, centrifugándose nuevamente a 3000 rpm durante 10 minutos (repetir la operación 2 veces); se eliminó el exceso de grasa y el sedimento fue resuspendido en 3 ml. de solución salina que contenían 100 UI de Penicilina y 10 mg. de Estreptomomicina por ml. (9)(14)(15)

Un ml. de la solución anterior fue inoculada en la cavidad peritoneal de 120 ratones (3 por muestra), criados en el laboratorio y de peso y sexo semejantes; al mismo tiempo, también se le inyectaba a cada ratón inoculado 100 mcg. de Flumetasona por vía parenteral. (9)(14)(15)

Una vez inoculados, los ratones se mantuvieron bajo observación y cuidados durante un periodo de incubación de 5 días para uno de los ratones y de 6 semanas para los otros 2 ratones correspondientes para cada muestra; esto era con el fin de poder detectar la fase proliferativa y de resistencia del parásito. Al cabo de este tiempo se sacrificaron (por el sistema de desnucamiento) y

se obtuvieron improntas de exudado peritoneal en portaobjetos limpios, y se colorearon con el procesamiento de Giemsa. Al mismo tiempo, su cerebro fue extraído y fijado en Formol al 10% (por un tiempo mínimo de 24 horas) para poderse entonces procesar en el laboratorio de Histopatología.

**RESULTADOS:**

Después de haber revisado y examinado cuidadosamente en el Laboratorio de la PES-C todas y cada una de las muestras obtenidas, se pudieron determinar solo en 11 (once) de ellas un proceso inflamatorio sugestivo de una lesión de toxoplasmosis a nivel del Sistema Nervioso Central (zona de infiltración de linfocitos rodeando una zona de necrosis). Posteriormente, con el fin de tratar de establecer un diagnóstico lo más preciso posible, se procedió a realizar nuevos cortes histológicos a partir de esos encéfalos; con la única diferencia de que ahora se utilizaría la tinción de colorante de Giemsa para tejidos, que resulta el colorante con mayor afinidad para protozoarios.

Al volver a reexaminar esas muestras, solo hubo 3 de ellas que mostraron evidencias de un proceso inflamatorio que sugería la presencia de Toxoplasma gondii a nivel del Sistema Nervioso Central; sin embargo al recurrir a una nueva observación con la ayuda de un microscopio de mayor potencia y límite de resolución, se pudo aclarar, que dicho proceso inflamatorio no era causado por el Toxoplasma gondii al no detectarse físicamente la presencia de los parásitos.

Todas las observaciones se realizaron bajo la Supervisión y Asesoría del M.V.2. Pablo Martínez Labat en el laboratorio de Parasitología y Microscopía Electrónica de la PES-C .

## DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Aunque en este caso las muestras obtenidas al azar no hayan evidenciado una infección por Toxoplasma gondii no podemos, de ninguna manera declarar que la toxoplasmosis no exista en los conejos de la explotación estudiada, ya que estudios realizados por ---+--- Harcourt (1967), Manfredi (1977), Peeters (1978), Perfumo (1978), Siim y Sorensen (1980) ponen de manifiesto una infección en esta especie de animales por el Toxoplasma gondii .

Esos trabajos que han permitido detectar la infección de conejos con Toxoplasma gondii , muestran algunos aspectos en común - como:

- 1.- La mayoría de los casos se observan en explotaciones de tipo rural.
- 2.- Los conejos eran mantenidos en jaulas de madera y en raras ocasiones sus jaulas eran de malla metálica; por lo cual se facilita el acúmulo de desechos y por ende la probable infección de los conejos con microorganismos como Coccidias, etc.
- 3.- La alimentación era básicamente con forraje verde, heno, cereales y alimento comercial compactado; este último, únicamente como complemento alimenticio.
- 4.- El estandar higienico era muy variable, pues podía ir -- desde muy bueno hasta deficiente con acumulación de desechos cerca de las conejeras.

Ahora bien, haciendo una comparación entre la explotación intensiva en la cual se realizó el muestreo para el presente trabajo (Módulo de Cunicultura de la FES-C) y las explotaciones que describen los autores antes mencionados, encontraremos que en el módulo de conejos de la FES-C tienen a sus animales en jaulas de malla metálica, su alimentación es a base exclusivamente de alimento comercial compactado y se tiene una constante rotación de animales, ya que solo se conservan por un determinado tiempo los ejemplares para pie de cría y el resto se destina para el abasto.

En cuanto a la utilización de la prueba biológica (inoculación en ratones) se tienen referencias de que no es una prueba que tenga una alta confiabilidad según lo describen Manfredi (1977), Peeters (1978), Perfumo (1978) y Franco (1980). En cambio si mencionan esos investigadores la eficacia de ciertas pruebas como Fijación de Complemento, Inmunofluorescencia indirecta y Prueba de Sabin y Feldman; sin embargo la posibilidad de llevar a cabo en nuestro trabajo alguna de estas pruebas era muy baja, ya que se necesita material y equipo sofisticado difícil de conseguir y de manejar. (10)(18)(22)(24)(26)

De acuerdo a los resultados obtenidos se pensaría en una baja o nula posibilidad de infección por Toxoplasma a través del manejo o consumo de carne de conejo mal cocida, pero diversos autores mencionan esta posibilidad como de un alto riesgo para adquirir la toxoplasmosis. (12)(16)(23)(25)(26)(28)

## CONCLUSIONES

- 1.- La prueba biológica utilizada en este trabajo no se pudo evaluar con eficacia debido a los resultados obtenidos.
- 2.- La gran cantidad de espacio y material que se necesita para poder llevar a cabo esta prueba como un medio de diagnóstico, - así como el tiempo que se necesita para realizarla la limitan como un arma fácil de recurrir.
- 3.- Debido al tipo de muestreo que se utilizó para obtener el material necesario para la investigación no se puede declarar la explotación intensiva del Módulo de conejos de la FES-C como negativa a toxoplasmosis.
- 4.- Es importante considerar que la transmisión de la toxoplasmosis al hombre por el consumo de carne cruda o mal cocida es muy probable, pues es uno de los grandes eslabones dentro de la cadena del ciclo biológico del Toxoplasma gondii.
- 5.- Es muy importante el tener unos buenos hábitos de higiene en el manejo y preparación de cualquier tipo de alimento, ya que el Toxoplasma tiene una gran distribución dentro de la naturaleza y por lo tanto puede llegar a contaminar casi cualquier fuente de alimento.
- 6.- Los gatos deben ser considerados como un animal altamente peligrosos para la transmisión de la toxoplasmosis hacia el hombre, debido al estrecho contacto que tiene con las personas, por -



lo cual se debe tener un control estricto del estado de salud de este animal para evitar adquirir la toxoplasmosis; además de tener un manejo adecuado de todos los desechos que el animal produzca.

7.- En base al punto anterior deben tener un cuidado extremo sobre todo las mujeres gestantes, ya que el adquirir la enfermedad en esta etapa puede ser de serias consecuencias.

## MANEJO Y CARACTERISTICAS GENERALES DE LA EXPLOTACION

El módulo de Conejos de la FES-C, tiene como objetivo el de apoyar la docencia. Durante la etapa de estudio la población dentro del módulo de conejos era de 1369 animales distribuidos de la siguiente manera:

32	Sementales
33	Hembras gestantes
100	Hembras lactantes
34	Hembras vacias
186	Animales de reposición
680	Lactantes
301	Conejos para el abasto
3	Animales para la investigación

Las razas que posee el módulo son: Nueva Zelanda Blanco, --- Nueva Zelanda Negro, Chinchilla, Rex y California.

El promedio de vida de los animales que no son para el abasto inicialmente es de 2.0 a 2,5 años (8 partos) para las hembras, dan doles una tolerancia de 2 a 3 partos; y de 6 a 7 años para los machos reproductores.

Las hembras de recría se cruzan a los 5 meses (3-4 kilos --- aprox.), haciendoseles 15 días después el diagnostico de gestación y 12 días después del diagnostico se les acondiciona el nido, para tener el parto entre los 30 a 32 días.

El destete se realiza a los 40 días; la alimentación de todos los animales es en base a un alimento comercial compactado.

Los animales están en jaulas de malla metálica y los nidos para las hembras con sus crías son de madera. Los desechos orgánicos se extraen del módulo cada 6 meses.

Los animales para el abasto se sacrifican entre los 2.0 a 2.5 meses de edad con un peso aprox. de 2 kilos; entre las principales enfermedades que afectan a los animales del módulo son: Coccidiosis, Pasterelosis y Sarna Psoróptica.

## ANEXO

El método utilizado para procesar las muestras en el laboratorio de Histopatología es el siguiente:

La fijación de la muestra comienza seleccionando una parte -- del órgano a estudiar y cortarla para poder así colocarla en una cápsula metálica especial para su procesamiento. Una vez llevado a cabo este paso, entonces se realiza el proceso manual de Tejidos -- Incluidos en parafina de la siguiente manera;

- 1.- Lavado de la muestra con agua corriente por 30 minutos.
- 2.- Paso por alcohol etílico al 60% por 20 min. a 45°C
- 3.- Paso por alcohol etílico al 70% por 20 min. a 45°C
- 4.- Paso por alcohol etílico al 80% por 20 min. a 45°C
- 5.- Paso por alcohol etílico al 96% por 20 min. a 45°C (1er. paso)
- 6.- Paso por alcohol etílico al 96% por 20 min. a 45°C (2do. paso)
- 7.- Paso por alcohol etílico absoluto por 20 min. a 45°C ---- (1er. paso)
- 8.- Paso por alcohol etílico absoluto por 20 min. a 45°C ---- (2do. paso)
- 9.- Paso por Benceno por 20 min. a 45°C (1er. paso)
- 10.- Paso por Benceno por 20 min. a 45°C (2do. paso)
- 11.- Paso por parafina fundida a 60°C durante 1 hora

12.- Paso por parafina fundida a 60°C durante 2 horas

13.- Inclusión en parafina fundida a 60°C

14.- Corte de los órganos en microtomo a 4-5  $\mu$ . Los cortes se realizaron seriados; con el fin de que cada laminilla tenga 6 cortes por muestra.

Por último se procedería a realizar la tinción de Hematoxilina-Eosina (H/E) y el montaje final en resina sintética, de la manera siguiente:

- 1.- Sumergir en Xileno por 10 min.
- 2.- Sumergir en Xileno por 10 min.
- 3.- Sumergir en alcohol etílico absoluto por 3 min.
- 4.- Sumergir en alcohol etílico al 80% por 3 min.
- 5.- Sumergir en alcohol etílico al 60% por 3 min.
- 6.- Lavado en agua corriente
- 7.- Sumergir en Hematoxilina de Harris por 10 min.
- 8.- Lavado en agua corriente
- 9.- Decoloración en alcohol ácido (paso rápido)
- 10.- Lavado en agua corriente
- 11.- Lavado en agua corriente y dejar reposar 3 min.
- 12.- Sumergir en Eosina alcoholica por 4 min.
- 13.- Sumergir en alcohol etílico al 96% por 2 min.
- 14.- Sumergir en alcohol etílico al 96% por 2 min.
- 15.- Sumergir en alcohol etílico absoluto por 2 min.
- 16.- Sumergir en alcohol etílico absoluto por 2 min.

17.- Sumergir en Xileno por 10 min.

18.- Sumergir en Xileno por 10 min.

19.- Montaje en resina sintética.

Cabe aclarar que el procesado de los tejidos también se podría realizar con la ayuda de un Histokinette, cambiando únicamente los tiempos de duración de cada uno de los pasos.

Al realizar la Tinción con colorante de Giemsa para Tejidos, el proceso es similar; cambiando únicamente los colorantes por el de Giemsa.

Durante todo el proceso fue importante el correcto marcaje y etiquetado, así como un especial cuidado en el manejo del material y equipo dadas las posibilidades de contaminación que se tenían.

Para una correcta evaluación de la prueba, esta se hizo tomando en consideración todos los factores que fueron observados durante el experimento; así como la revisión cuidadosa y exhaustiva de todas y cada una de las laminillas, para así evitar problemas en la diferenciación e identificación de los parásitos.

## B I B L I O G R A F I A

- 1.- Aisner S.C., Aisner J., Clayton M. and Arnet E., (1980) Acquired toxoplasmic lymphadenitis with demonstration of the Cyst form. - Am. Soc. of Clin. Path., Baltimore, June, Vol.83, No.2, pp. 125---127.
- 2.- Beverlet J.K.A., (1976) Toxoplasmosis in animals. Vet. Record, - Vol. 99, pp. 123-127.
- 3.- Blank H.I.J., El maravilloso Mundo de los Gatos, Compañía Editorial Continental S.A., la. edición, México 1983, pp. 494, 505---507.
- 4.- Blood D.C., Medicina Veterinaria., Editorial Interamericana S.A. de C.V., 5a. edición, México 1985, Cap. 25 "Enfermedades causadas por protozoarios"
- 5.- Carrada B.T., (1983) La toxoplasmosis, Problema de salud Pública avances y perspectivas. Bol. Med. Hosp. Inf. México, julio, Vol. 40, No. 7, pp. 353-362.
- 6.- Dubey J.P., Sharma S.P., (1980) Parasitemia and tissue infection in sheep fed Toxoplasma gondii oocysts. J. Parasitol., 66, pp. - 111-114.

- 7.- Dubey J.P., Sharma S.P. and López C.WG., (1980) Canine toxoplasmosis: clinical signs, and distribution of Toxoplasma in tissues of goats fed Toxoplasma gondii oocysts. Am. J. Vet. Res., 41, pp. 1072-1076.
- 8.- Fayer R., (1981) Toxoplasmosis update and Public Health implications. Can. Vet. J., 22, pp. 344-352.
- 9.- Franco L.E., Duarte E.F. and Ramos A.V., (1980) A quantitative method for determining Toxoplasma gondii, white cells, and the volume of ascitic fluid in experimentally infected mice. J. Parasitol., 66: pp. 852-853.
- 10.- Harcourt R.A., (1967) Toxoplasmosis in rabbits. Vet. Rec., 81, pp. 190-192.
- 11.- Hutchison W.H., Donachie J.P. and Work E., (1969) Transmissible Toxoplasma. Brit. Soc. Parasitol., Vol. 7, pp. 51-52.
- 12.- Jacobs L., (1973) New knowledge of Toxoplasma and toxoplasmosis. Adv. in Parasitol., Vol. 11, pp. 631-639.
- 13.- Jubb K.V.F. y Kennedy P.C.: Patología de los animales domésticos, Editorial Labor S.A., España, 1975.
- 14.- Katsube Y., Hagiwara T., Ueda K., Miyakawa H., Imazumi K., Hanaki T. y Nobuto K., (1967) Studies on toxoplasmosis: Isolation of Toxoplasma from muscles of humans, dog and cats. Japan J. Med. Sci. Biol., 20, pp. 413-419.



- 15.- Katsube Y., Hagiwara T. and Imauzumi K., (1975) Latent infection of Toxoplasma in swine. Jap. J. Vet. Sci., 37, pp. 245-252.
- 16.- Keith R.S., (1982) Toxoplasmosis. J.A.V.M.A., 180, pp. 857-860.
- 17.- Lapage G. Parasitología Veterinaria, Compañía Editorial Continental S.A., 2a. edición, México 1981, Cap. 44 "Especies de --- posición sistemática incierta".
- 18.- Manfredi L., (1977) Ricrohe istologiche e sierologiche su 5 --- focolai de toxoplasmosi del coniglio (Cryptolacus cuniculus). - La Clin. Vet., 1010, pp. 295-314.
- 19.- Méndez N.I., Rosales, Aldana, Isita y Romero., (1986) Simposium Toxoplasmosis. Jornadas de Quim. Clin., Hospital General C.M. La Raza, IMSS, marzo, México.
- 20.- Organización Mundial de la Salud, Toxoplasmosis., Informa 431 - (1969), Ginebra, pp. 33.
- 21.- Organización Panamericana de la Salud: El control de las enfermedades transmisibles en el hombre., 12a. edición, USA, 1975.
- 22.- Peeters J.E. and Halen P., (1978) Two outbreaks of toxoplasmosis in rabbits. Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, 47, pp. -- 30-38.
- 23.- Perez Ch., Berrío A., Capella E., Pérez E. y Viquez L., (1980) Epidemiología de la toxoplasmosis. Ciencias Veterinarias, 2, -- pp. 78-89.

- 14.- Perfumo J.C., Brandetti E., Menendez N.A. y Petrucelli M.A., --  
(1978) Toxoplasmosis en conejos domésticos. Analecta Veterinaria, 10, pp. 21-27.
- 25.- Sidney R.J., (1973) Toxoplasmosis: a Review. J.A.V.M.A., 163, -  
pp. 1038-1042.
- 26.- Silm J.Ch., Sorensen B.U. and Moller T., (1980) Toxoplasmosis -  
in domestic animals. Annals of Tropical Medicine and Parasitology, 74, pp. 335-429.
- 27.- Smith H.A. y Jones T.C., Patología Veterinaria, Unión Tipográfica  
Editorial Hispano-Americana S.A. de C.V., 2a. edición, México  
1980, Cap. 12 "Enfermedades debidas a protozoarios".
- 28.- Soulsby F.J.L., Helminths, Arthropods and Protozoa of domestica  
ted animals. 6a. edición, Academic Press, 1982.
- 29.- Stagno S., (1980) Congenital toxoplasmosis. Am. J. Dis. Child.,  
Vol. 133, julio, pp. 635-637.
- 30.- Uribe C.M.A., Estudio de la frecuencia de esporozoarios intesti  
nales en gatos domésticos de la zona norte del Estado de México  
Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot. PES-C., Edo. de -  
México, 1986.
- 31.- Wilford O.O., Parasitología Animal, 1a. edición, Editorial ----  
Aedos, España, 1977.