



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**



"Comparación de la sensibilidad entre las pruebas
de inmunofluorescencia indirecta y la de aglutinación
con látex para la detección de anticuerpos
contra Toxoplasma gondii en bovinos"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
MARGARITA HERNANDEZ GONZALEZ

Asesores: MVZ Jorge Alfredo Cuéllar Ordaz
MVZ Catalina Valencia Velasco

**TESIS CON
FALTA DE ORDEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Indice

	Pag.
Resumen	1
Introducción	4
Objetivos	37
Material y Métodos	38
Resultados	47
Discusión	55
Conclusiones	60
Bibliografía	61

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue comparar las pruebas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) y la de aglutinación con látex (LA) para la detección de anticuerpos contra Toxoplasma gondii en bovinos.

Se eligió comparar la prueba de IFI por considerarse altamente específica, además que ya se tenía implementada en el Centro Nacional de Salud Animal (S.A.R.H), y por otro lado, no se tenían antecedentes del uso de la técnica de aglutinación con látex en México para el diagnóstico de la toxoplasmosis en bovinos.

Se consideraron al azar 100 sueros de bovinos, que fueron enviados con fines diagnósticos al Centro Nacional de Salud Animal (S.A.R.H); éstos sueros procedían de animales clínicamente sanos, de los rastros de Tipo Inspección Federal, de los estados de Guanajuato (72 muestras) y de Durango (28 muestras).

No se tomaron en cuenta los datos relativos al sexo y la edad de los animales.

Se recolectaron los sueros de bovino durante 4 meses hasta obtener las 100 muestras requeridas. El diagnóstico comparativo de los sueros se realizó en 2 meses.

De los 100 sueros de bovinos analizados, 68 fueron positivos y 32 negativos a ambas pruebas.

De los 100 sueros trabajados por la prueba de IFI 68 resultaron positivos a anticuerpos contra T. gondii. Los títulos encontrados oscilaron entre las diluciones 1:16 y 1:128, de ellos el 32% correspondió a sueros negativos a anticuerpos, el 29% con título 1:16, el 27% con título 1:32, 3% con título 1:64 y 9% con título 1:128.

En la prueba de aglutinación con látex, 66 sueros positivos a anticuerpos contra T. gondii y 34 sospechosos; los títulos encontrados oscilaron entre 1:16 y 1:64, de estos el 34% presento un título de 1:16, el 48% con título 1:32 y el 18% con título de 1:64.

De las muestras obtenidas en el estado de Guanajuato se encontró el 66.66% de sueros positivos a anticuerpos contra T. gondii y en

Durango el 71%.

Con lo cual se puede demostrar un alto porcentaje de reactores positivos a ésta enfermedad, indicando la presencia de este protozooario en los estados de Guanajuato y Durango.

Para llevar a cabo la comparación matemática entre positivos y negativos se utilizó la prueba de concordancia, de acuerdo a el análisis efectuado se encontró un error estimado de la prueba de LA de un 8.9% contra la prueba de IFI, por lo que se puede considerar una prueba muy semejante en sensibilidad y especificidad a la de IFI ya que tiene una concordancia real del 91.1%.

INTRODUCCION

La toxoplasmosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial y es producida por un parásito intracelular obligado, el Toxoplasma gondii.

Múltiples especies son susceptibles de adquirir la enfermedad y por lo tanto de transmitirla al humano (mamíferos, aves, reptiles, peces y anfibios) los cuales son considerados hospedadores intermediarios del parásito; además de una amplia gama de vectores (moscas, mosquitos, cucarachas, garrapatas, caracoles y lombrices) que ayudan a la difusión y prevalencia de la enfermedad (Mandell et al., 1979; Stelle, 1982).

Los hospedadores definitivos del T. gondii son los mamíferos de la familia felidae, así como la fuente de infección natural más importante (Roch, 1974; Soulsby, 1982).

El ganado bovino se considera que es poco susceptible a la infección de T. gondii (Dubey et al., 1988 Soulsby, 1987).

Se han descrito varios brotes de curso agudo, caracterizado por fiebre, disnea y signos nerviosos. La toxoplasmosis congénita también se presenta en el ganado vacuno (Roch, 1974; Soulsby, 1988).

No hay muchos estudios sobre la toxoplasmosis bovina. El primer aislamiento en bovinos fue realizado por Sanger y col en 1953, en cuatro hatos de Ohio (Levine, 1978).

En el primer hato reportaron que tres hembras desarrollaron signos nerviosos y murieron y una cuarta hembra no mostró signos de enfermedad, pero reaccionó positivamente a la prueba de toxoplasmina y se logró aislar el parásito del calostro, útero, bazo y pulmón; en el segundo hato de 78 terneros, 45 murieron entre el primer día y los seis meses de edad, con signos respiratorios como disnea, tos, descarga nasal, deshidratación, ocasionalmente diarrea con sangre y sacudían la cabeza; el T. gondii fue aislado del pulmón de uno de los terneros; en el tercer hato un toro murió una semana después del inicio de la enfermedad, caracterizada por anorexia, debilidad, ataxia, movimientos de masticación y pataleo; el

parásito fue aislado del cerebro.

Finalmente en el cuarto hato el T. gondii fue aislado de varios órganos de una vaca de siete años de edad, que murió después del parto, con signos de anorexia, diarrea, depresión, fiebre y mastitis.

Chaton y Blanc (1917) citado por Roch, 1974; observaron epizootias sobre todo en los animales que pastan la mayor parte su vida en el campo, siendo en éste caso la garrapata u otros artrópodos la vía de infección.

Por otro lado en Checoslovaquia Mayer y Zardi., citado por Levine, 1978; encontraron una alta prevalencia de parásitos en los ojos del ganado.

Corner et al., 1973, citado por Levine 1978; describieron un brote de toxoplasmosis al oeste de Canadá, en un hato lechero, presentando fiebre, emaciación, alta morbilidad y alta mortalidad; se logró aislar el parásito de diversos tejidos, pero al hacer las pruebas serológicas éstas resultaron negativas.

Las formas graves se observan en los becerros y en las vacas después del parto, los principales signos son de tipo pulmonar, disnea, fiebre, tos; trastornos nerviosos muy semejantes al derriengue, parálisis musculares, convulsiones; se ha aislado el parásito de la leche, músculo, pulmón, hígado y riñón (Roch.1974).

Se ha reportado muerte neonatal en Rumania, Italia, Inglaterra y Rusia, se aisló el parásito de los tejidos fetales y se encontraron anticuerpos en el suero materno (Soulsby, 1988).

A partir de los años de 1982 se realizaron estudios en diversas partes del mundo sobre la toxoplasmosis en bovinos, cuya finalidad era lograr el aislamiento del T. gondii a partir de retina, cerebro, diafragma y músculo esquelético; de los doce países que trabajaron por este objetivo, se obtuvieron los siguientes resultados:

En Argentina (1963) se aisló a partir de retina de 304 muestras, resultaron positivas 74 (24.5%); en 1967 se trabajaron 597 muestras de retina obteniéndose 100 positivas (16.2%). En

Checoslovaquia se aisló el T. gondii a partir de cerebro, se analizaron 85 muestras dando como resultado 8 positivos (9.4%); en Italia (1964) se obtuvieron 8 positivos de 35 muestras de retina (22.8%) y finalmente en Japón de 104 muestras de carne analizadas se encontró una sola muestra positiva (0.9%); en los ocho países restantes se obtuvieron resultados negativos al aislamiento (Dubey, 1986, citado por Soulsby, 1988).

En México se han realizado pocos estudios sobre la toxoplasmosis bovina y se describen a continuación:

Monroy (1976) identificó anticuerpos contra T. gondii por la prueba de inmunofluorescencia indirecta en hatos de Cuautitlán estado de México, con antecedentes de aborto y retención placentaria; encontrando el 18.1% de reactores positivos.

Venegas (1976) intento aislar el T. gondii a partir de exudado vaginal de 1280 vacas en establos de Cuautitlán, estado de México, obteniéndose resultados negativos.

Cuevas (1981) inoculó a 6 hembras gestantes en diferentes etapas de la gestación y por diferentes vías de inoculación, produciéndose al aborto en 4 de las 6 inoculadas; además logró recuperar el T. gondii a partir del exudado peritoneal, del bazo del feto y del exudado vaginal de las hembras inoculadas.

Barrios (1982) describe el aislamiento T. gondii en el útero de hembras productoras de leche no gestantes, previa inoculación presentándose los siguientes signos clínicos: anorexia, fiebre, emaciación, pelo hirsuto y endometritis; el parásito se recuperó a partir de el exudado uterino y vaginal.

Castro (1982) describe el aislamiento del T. gondii a partir de semen en dos toros previamente inoculados con el parásito; por lo cual considera posible la transmisión venérea.

Jimenez (1982) investigó la resistencia del T. gondii en la leche bronca previamente contaminada con el parásito, reportando que el toxoplasma resiste la pasteurización rápida (72.7°C por 15 segundos) como la pasteurización lenta (62.7°C por 30 minutos). Concluyendo que

el T. gondii muere a 115°C por 5 segundos o a 140°C por 2 segundos y es necesario hervir la leche por tres veces.

Medina y Mosqueda (1984) determinaron los niveles anticuerpos contra T. gondii por medio de las pruebas de inmunofluorescencia indirecta y la de Sabin-Feldman, en bovinos sacrificados en el rastro de ferretería; se trabajaron 400 sueros obteniendo 43% de sueros positivos a anticuerpos.

Etiología

El Toxoplasma gondii fue descrito por primera vez por Nicolle y Marceaux (1908) al ser aislado de un pequeño roedor el Ctenodactylus gondii, en Túnez al norte de Africa y posteriormente lo aisló Splendore en Brasil en un conejo de campo (Beaver et al., 1986).

Se reconoce una sola especie: T. gondii y todas las cepas son antigénicamente similares, éstas difieren en su poder de invasión y la tasa de multiplicación y por lo tanto en su virulencia (Soulsby, 1988).

Asimismo varían también en su patogenicidad para un determinado hospedador; hay cepas que son virulentas para una especie animal y no para otra (Dubey, 1977; Stelle, 1982)

Clasificación taxonómica¹

Reino:	Animal
Subreino:	Protozoa
Phylum:	Aplicomplexa
Clase:	Sporozoea
Subclase:	Coccidea
Orden:	Eucocidiida
Familia:	Sarcocystidae
Subfamilia:	Toxoplasmatinae
Género:	<u>Toxoplasma</u>
Especie:	<u>T. gondii</u>

Características morfológicas

Se consideran tres estados infecciosos de T. gondii: taquizoitos (en pseudoquistes), bradizoitos (enquistados en tejidos) y esporozoitos (en ooquistes).

a) El término taquizoito (tachos =

¹ (Levine y col., 1980; citado por Soulsby, 1982)

velocidad) fue introducido por Frenkel (1973) para describir las formas proliferativas del trofozoito y de división rápida (presentes en las fases agudas) llevadas a cabo en el hospedador definitivo (Beaver et al., 1986; Dubey, 1988).

El taquizoito tiene forma de media luna y mide de 2 a 5 micrómetros de diámetro, en su parte anterior presenta el llamado complejo apical, compuesto de una envoltura externa con tubillos submembranosos, anillo polar, microporo, conoide, micronemas, mitocondrias, retículo endoplásmico, aparato Golgi, ribosomas, retículo endoplásmico rugoso y tiene un sólo núcleo; aunque carece de flagelos o cilios, su movimiento lo realiza por deslizamiento, ondulación y rotación (Dubey, 1988).

Los taquizoitos son sensibles a la acción de la tripsina y la pepsina (Soulsby, 1982).

b). El bradizoito es la fase de multiplicación lenta del parásito, éstos están incluidos en una membrana elástica, a ésta forma se le denomina quiste hístico, su tamaño es variable entre diez y cien micrómetros de diámetro, los bradizoitos

se encuentran apiñados, tienen forma lanceolada y presentan un núcleo terminal.

Se presentan en la fase crónica (latente) de la enfermedad, se localizan principalmente en el tejido nervioso y muscular.

Los bradizoitos son menos sensibles a la acción de la tripsina y la pepsina; los quistes hísticos pueden permanecer en el hospedado durante años o por toda la vida; no se produce reacción inflamatoria alrededor del quiste (Beaver et al., 1986; Mandell et al., 1979; Soulsby, 1978).

c). El esporozoito es la forma de resistencia del T. gondii, son el resultado del proceso sexual en el intestino del gato, son expulsados en las heces del hospedador definitivo. Tiene forma oval y mide de diez a doce micrómetros de diámetro; los ooquistes son eliminados inmaduros, en condiciones favorables de temperatura y humedad continúan su evolución, formando dos esporoquistes, que se disponen por lo general en forma transversal, cada uno contiene cuatro esporozoitos. Pueden permanecer viables durante más de un año, si las

condiciones ambientales son favorables (Acha, 1977; Frenkel y Ruiz, 1973; Soulsby, 1982).

Ciclo biológico

En el ciclo de vida del T. gondii los felidos ocupan un lugar importante dentro de este grupo es necesario hacer una mención especial al gato doméstico por la relación que existe con el hombre. Los felidos son hospedadores definitivos del parásito en el intestino se lleva a cabo a reproducción o fase sexual del T. gondii; son también hospedadores intermediarios, es decir el protozoario también desarrolla su ciclo parasitario tisular, extraentérico y asexual, que ocurre simultáneamente en la fase enteroepitelial.

En los hospedadores intermediarios (mamíferos, omnívoros y herbívoros) tiene un ciclo exclusivamente extraepitelial (Acha, 1977; Soulsby, 1982).

En el desarrollo del parásito se aceptan 2 tipos de ciclo: uno enteroepitelial y otro extraintestinal, con cinco fases de desarrollo (Beaver, et al., 1986; Soulsby, 1982).

1. Ciclo enteroepitelial, se denomina fase sexual y se inicia cuando los esporozoitos o quistes hísticos son ingeridos por el hospedador definitivo; la pared de los quistes hísticos es disuelta por la acción de las enzimas gástricas (tripsina y pepsina), los bradizoitos liberados penetran en las células epiteliales del intestino delgado e inician la formación de numerosas generaciones del parásito; éstas fases de multiplicación son cinco y difieren en su morfología; se designan A, B, C, D y E.

El tipo A se inicia cuando el bradizoito penetra a la célula intestinal y pierde sus gránulos y se divide en dos o tres para formar parásitos tipo A; de las cinco fases de desarrollo ésta es la más corta de 12 a 18 horas, las divisiones son por endodiogenia (consiste en la formación de dos trofozoitos son liberados). El tipo B aparece de 12 a 52 horas de la infección, se caracteriza por presentar un núcleo central y un prominente nucleolo, se produce por endodiogenia y endopoligenia; el tipo C ocurre de las 24 a 52 horas después de la infección, son de forma elongada, tienen el núcleo subterminal, se dividen por esquizogonia;

el tipo D es más pequeño que el C y contiene sólo 5 gránulos, éste se presenta de las 32 horas a los 12 días después de la infección; la división se realiza por endodiogenia, esquizogonia y por separación de merozoitos simples de una masa nuclear. El tipo E se reproduce por esquizogonia de 3 a 15 días después de la infección, se produce una reproducción de tipo asexual y da lugar a la formación de merozoitos, éstos a su vez se replican de la misma manera, dando lugar a los microgametocitos (gameto masculino) y los macrogametocitos (gameto femenino) y dan lugar a la formación de ooquistes, éstos son expulsados por el hospedador definitivo en las heces; en el exterior se lleva a cabo una reproducción esporogónica dando como resultado esporozoitos infectantes.

2. Ciclo extraintestinal.- El ciclo se inicia cuando los hospedadores intermediarios ingieren las formas infectantes del T. gondii (esporozoitos y quistes). Al ingerir los esporozoitos (ooquistes) se desarrollan en el intestino delgado; los taquizoitos (ooquistes) se desarrollan en el intestino delgado; la taquizoitos invaden las células e inician su

replicación (endodiogenia) cuando las células están saturadas estallan y se liberan los taquizoitos infectando nuevas células, parasitando preferentemente el sistema muscular y nervioso. Al acumulo de taquizoitos se le denomina pseudoquiste; a éste periodo de proliferación corresponde a la fase aguda de la toxoplasmosis. En ésta fase el parásito es vulnerable a los fármacos (Acha, 1977).

A medida que se desarrolla la inmunidad del hospedador, empiezan a aparecer las formas de resistencia del parásito, los quistes contienen las formas parasitarias denominadas bradizoitos, se localizan principalmente en el cerebro, corazón y músculo esquelético; los bradizoitos resisten a la acción de las enzimas digestivas; en ésta fase los fármacos no son accesibles ya que el bradizoito se encuentra dentro del quiste (Acha, 1977).

Epidemiología

La toxoplasmosis es una de las zoonosis más difundidas en el mundo, se ha observado en zonas de clima frío, templadas y tropicales (Roch, 1974); se presenta más frecuentemente en

regiones húmedas y cálidas (Frenkel y Ruiz, 1973).

Los hospedadores definitivos del parásitos son los mamíferos de la familia felidae; los felidos son de gran importancia en la epidemiología de la enfermedad porque eliminan junto con las heces los ooquistes, los cuales son ingeridos por los hospedadores intermediarios (Acha, 1977).

Los gatos se infectan al ingerir carne cruda, pájaros o ratones con quistes conteniendo bradizoitos, las heces del gato son una fuente de infección para los mamíferos y algunas aves; además de ser la fuente de contaminación para los herbívoros que ingieren los pastos y forrajes contaminados con ooquistes esporulados. Asimismo juegan un papel importante en la diseminación de la toxoplasmosis los invertebrados como: artrópodos hematófagos y moluscos (mandell et al., 1979; Soulsby, 1982).

En el humano la infección se adquiere por el consumo de alimentos contaminados como: carne cruda o semicruda, leche no pasteurizada, manejo de carne contaminada y exposición a las heces de

gato (Acha, 1977; Dickson et al., 1989; Schnurrenberger, 1987).

Se consideran tres mecanismos de transmisión de la toxoplasmosis en rumiantes (Blewet y Watson, 1983 citado por Nuñez et al., 1991):

1. Transmisión de la enfermedad por la exposición continua en el medio ambiente permanentemente contaminado, se produce a través de la ingestión de pastos contaminados con oocistes.
2. Transmisión por la exposición discontinua a la infección, se presenta en forma esporádica.
3. Transmisión por contacto, se presenta por la mezcla de bovinos susceptibles con animales infectados ya sea de la misma especie o de otras, principalmente con borregos y cerdos (Dubey, 1982); Castro (1982) considera posible la transmisión venérea al aislar el T. gondii a partir de semen de toros previamente inoculados con el parásito.

Patogenia

El mecanismo de la infección celular es controversial, se considera que la penetración activa es el resultado de la combinación de factores químicos y mecánicos que actúan sobre la membrana celular (Mandell et al., 1979) Soulsby (1982) describe la patogenia de la siguiente manera:

1. Invasión activa. El conoide (estructura interna del parásito) por movimientos mecánicos rotatorios penetra a través de la membrana de la célula hospedadora.
2. Secreción de sustancias químicas. La roptria es la estructura encargada de producir éstas sustancias, que disuelven la membrana citoplásmatica de la célula permitiendo la infección de la misma.
3. Fagocitosis. El parásito reconocido como partícula extraña al organismo, estimula una reacción de quimiotactismo (acercamiento) de las células inmunocompetentes receptoras, las cuales

engloban al parásito incluyéndolo en una vacuola parasitofora (Ruiz, 1982).

La mayoría de las infecciones por T. gondii generalmente no presentan manifestaciones clínicas, en la mayor parte de las infecciones agudas la vía de infección es el intestino, debido a la ingestión de las formas infectantes del parásito (ooquistes, taquizoitos y bradizoitos) éstas se difunden a través de la vía linfática y sanguínea, invadiendo diversos órganos y tejidos (Frankel y Ruiz, 1973).

Los taquizoitos se reproducen rápidamente ocasionando zonas necróticas, los animales pueden morir rápidamente en ésta etapa de la infección; en éste periodo se elimina el parásito por la orina, heces, leche y secreción ocular, ocasionalmente se puede encontrar en la saliva (éstas formas no sobreviven mucho tiempo fuera del hospedador); la difusión es poco probable en ésta etapa. La forma subaguda se caracteriza por la aparición de los anticuerpos, que actúan en la sangre y en los tejidos; los parásitos localizados en el pulmón, hígado y bazo desaparecen más rápido que los localizados en el corazón y en el cerebro (Soulsby, 1982).

Virulencia

El T. gondii presenta diversas cepas, el criterio principal que se utiliza para la diferenciación de las cepas es la virulencia y los signos clínicos producidos en los animales de laboratorio. Las cepas de escasa virulencia producen una parasitemia baja y menor invasión de los tejidos y permanecen menor tiempo en el organismo. (Soulsby, 1982).

Los parásitos aislados de los animales enfermos o muertos son más virulentos normalmente que los aislados de animales que no presentaron sintomatología. La mayoría de las infecciones son producidas por cepas avirulentas o en algunas ocasiones, se presentan cepas que producen infecciones subclínicas (Soulsby, 1982).

Cuadro clínico

La toxoplasmosis en bovinos se clasifican en:

1. Aguda

- a) Adquirida.
- b) Congénita.

2. Crónica o latente.

- a) Toxoplasmosis aguda adquirida, la toxoplasmosis sintomática es poco frecuente y cuando se presenta, las manifestaciones clínicas varían dependiendo de la localización del parásito en los órganos afectados (Acha, 1977). En general los bovinos son más difíciles de infectarse, los quistes en sus músculos son menos frecuentes y persisten por menos tiempo, de 3 a 7 meses (Sainz, 1976; Soulsby, 1982); asimismo los títulos serológicos no son altos y persisten por menos tiempo y son menos duraderos que en otras especies (Soulsby, 1982).

La toxoplasmosis aguda adquirida se presenta en forma esporádica y se manifiesta en el bovino por signos respiratorios como disnea, tos, estornudos, secreción nasal; signos digestivos como anorexia, emaciación progresiva, diarrea ocasionalmente con sangre y moco y deshidratación; signos

nerviosos, fiebre, temblores, ataxia, movimientos de masticación y pataleo y transtornos de la gestación con abortos y mastitis (Levine, 1961; Roch, 1974; Stelle, 1982).

Las lesiones encontradas en bovinos de experimentación son: aumento en el tamaño del bazo y nódulos linfáticos, necrosis focales y lesiones vasculares (Boch, 1982).

b) Toxoplasmosis aguda congénita se manifiesta con aborto, nacimiento de becerros débiles o prematuros, en estudios experimentales observaron que el aborto se manifiesta principalmente en el último tercio de la gestación (Boch, 1982; Soulsby, 1982).

2. Toxoplasmosis crónica o latente se considera como el resultado de una infección aguda siendo subclínica; no se presenta reacción inflamatoria, ya que el toxoplasma se aísla y se enquistas (Sun, 1988).

Diagnóstico

El diagnóstico clínico presenta problemas, ya

que la toxoplasmosis presenta diversas manifestaciones y estas pueden ser asintomáticas (Dubey, 1976).

Diagnóstico de laboratorio.

Para el diagnóstico de la toxoplasmosis se emplean dos tipos de pruebas;

1. Directos (se emplean para detectar el parásito)

II. Indirectos (se emplean para detectar o medir la respuesta inmune del animal contra el T. gondii)

I. Directos:

a).- Observación histológica de cortes.

b).- Inoculación a animales de laboratorio.

c).- Inmunofluorescencia directa.

II. Indirectos:

a).- Prueba de Sabin-Feldman.

b).- Fijación de complemento.

- c).- Hemoaglutinación pasiva.
- d).- ELISA.
- e).- Inmunofluorescencia indirecta.

- f).-Aglutinación con partículas inertes
(látex, bentonita, colodión).

(Beagi, 1976; Dubey, 1986; Hirt, 1974; Roch, 1974; Soulsby, 1982).

Otras técnicas empleadas para el diagnóstico de la toxoplasmosis son citados por: Roch (1974), Frenkel (1973), Hirt (1974):

- a). Toxoplasmina.
- b). Coaglutinación.
- c). Difusión en gel de agar.

Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial presenta dos serios problemas: al respecto morfológico y el clínico.

En lo que se refiere al primer punto, existe un grupo de protozoarios y de hongos que por sus características morfológicas se asemejan al

toxoplasma, tanto de la forma de trofozoito como en su forma quística.

Entre los parásitos que afectan a los animales se encuentran los géneros: Besnotia, Eimeria, Hexamita, Encephalitozoon, Globidium, Fibrocestis, Sarcocystis (Roch, 1974).

Con respecto al diagnóstico clínico existen una serie de enfermedades que afectan al ganado vacuno y presentan manifestaciones clínicas semejantes a la toxoplasmosis como la listeriosis, leptospirosis, brucelosis, salmonelosis y vibriosis (Roch, 1974).

Roch (1974) propone una serie de conclusiones para realizar un diagnóstico confiable:

- 1.- Es conveniente verificar dos o más pruebas con el mismo suero.
- 2.- Deben repetirse la o las reacciones dos o tres veces en periodos cortos de tiempo.
- 3.- Una reacción positiva indica infección más no enfermedad.
- 4.- No importa el título de una reacción por débil que sea, siempre indica infección

toxoplásmica en cualquier etapa de la vida del animal, aunque en el momento no manifieste un cuadro patológico, en cualquier momento puede desarrollarlo.

- 5.- Una tasa de anticuerpos baja no permite eliminar el diagnóstico de la enfermedad; un título alto no justifica un diagnóstico de toxoplasmosis.
- 6.- Los títulos altos, equiparables en dos pruebas diferentes verificados en el mismo suero, se pueden considerar positivos a toxoplasmosis.
- 7.- Un aumento de anticuerpos en el curso de una evolución clínica, esta en favor de la toxoplasmosis.

Tratamiento

Generalmente las infecciones son inaparentes y el costo de los fármacos es elevado, no existiendo tratamiento satisfactorio para la toxoplasmosis. Utilizándose principalmente la pirimetamina, un antipalúdico conocido como daraprim y las sulfamidas (Acha, 1977; Roch, 1974).

Control

El control de ésta enfermedad es difícil, por la amplia difusión del hospedador definitivo (Frenkel y Ruiz, 1973) y por que la mayoría de las infecciones en el grado bovino son clínicamente inaparentes, es posible confundirlas con otros agentes etiológicos ya que dan cuadros sintomatológicos similares.

En caso de la infección adquirida, se debe investigar si existió contacto con animales infectados de la misma u otra especie dentro de la granja o en áreas aledañas a ésta; en caso de la infección congénita es necesario analizar los anticuerpos maternos y si es posible intentar el aislamiento del agente a partir del feto o membranas fetales (Roch, 1974).

Medidas de control

1. Control de gatos.
2. Control de los gatos en la granja y dar tratamiento.
3. Evitar el canibalismo, incinerar o enterrar los cadáveres, fetos y membranas fetales.
4. Chequeo serológico del hato.

5. Evitar el contacto de ovinos y cerdos en las explotaciones del ganado bovino.
6. Control de vectores y roedores.

(Dubey, 1973; Soulsby, 1982; Sun, 1988; Roch, 1974)

Prevención

En el ganado estabulado es posible llevar a cabo medidas sanitarias para la prevención de la toxoplasmosis, realizando las medidas de control señaladas anteriormente; en el ganado vacuno en pastoreo se ha observado un porcentaje más alto de reactores positivos, ya que las medidas de prevención son más difíciles de aplicar por las características del tipo de explotación (Roch, 1974).

Se han realizado experimentos en ovinos, empleando una vacuna inactivada, elaborada a partir de un coccidio no patógeno (Hammondia hammondi) para la prevención del aborto producido por T. gondii pero no se ha podido prevenir la infección fetal o placentaria (Beverly et al., 1971 citado por Nuñez et al., 1991).

Salud pública

La toxoplasmosis en el humano se presenta por la ingestión de alimentos contaminados con ooquistes de las heces del gato, por la manipulación o consumo de carne contaminada con quistes de T. gondii y por la ingestión de leche bronca (Beagi, 1976; Stelle, 1982).

La importancia en salud pública reside sobre todo en la gravedad de la infección congénita y de sus secuelas (Acha, 1977).

La patogenia de la toxoplasmosis humana se asemeja a la de los animales en su forma de transmisión; la infección sintomática se presenta en dos formas:

- a) Toxoplasmosis congénita.
- b) Toxoplasmosis adquirida.

a) La toxoplasmosis congénita se presenta cuando la madre adquiere la infección (sintomática) y se inicia cuando se produce la parasitemia generalizada y la trasmite al feto por vía transplacentaria, esto se traduce en

aborto o nacimientos prematuros.

Algunos niños sólo presentan disminución de la agudeza visual, pero en la forma grave, se manifiestan secuelas como: retinocoroiditis, hidrocefalia, convulsiones y calcificación cerebral.

b) La toxoplasmosis adquirida se presenta después del nacimiento, la forma menos grave es la ganglionar y se manifiesta como una linfadenopatía. En la forma menos grave de la infección adquirida suele manifestarse por fiebre, erupción maculopapular, malestar, mialgias, neumonía, miocarditis, miositis y meningoencefalitis (Acha, 1977; Soulsby, 1982; Sun, 1988).

En los humanos es conveniente llevar a cabo las siguientes medidas de control (Dubey, 1976):

1. Eliminar las heces de los gatos, para evitar que los oocistos esporulen.
2. Tapar las cajas de arena, donde defecan los gatos (cuando no se usen).
3. Cambiar diariamente la cama de los gatos (desinfectar con agua hirviendo).

4. Uso de amoniaco como desinfectante en sitios donde los gatos defequen accidentalmente.
5. Evitar el contacto de los niños con la caja de arena o tierra donde defequen los gatos.
6. En mujeres gestantes evitar el contacto con las heces del gato, utensilios donde se alimenta, no consumir carne cruda o semicruda.
7. Uso de guantes para trabajos de jardinería o limpieza de los utensilios del gato (Soulsby, 1982).
8. No alimentar a los gatos con carne cruda, especialmente del hígado, ahí se ha encontrado más frecuentemente la forma quística del parásito (Soulsby, 1982).
9. Lavar cuidadosamente los frutos y vegetales con agua en forma mecánica (Mandell, 1973; Soulsby, 1982).
10. Cocer la carne a 70°C (Soulsby, 1982).
11. Lavarse las manos con agua y jabón después de manejar la carne cruda (Dubey, 1986; Soulsby, 1982).
12. Lavar los utensilios empleados en el corte de la carne, con agua y jabón (Soulsby, 1982).
13. Lavarse las manos con agua y jabón antes de comer y no tocarse la cara y la boca con las

- manos sucias (Sun, 1988).
14. Control de vectores (cucarachas, moscas y roedores) y gatos vagabundos (Dubey, 1986; Levine, 1978; Sun, 1988).
 15. Los individuos seropositivos a toxoplasmosis, no deberán ser aceptados como donadores de órganos (Dubey, 1986; Soulsby, 1982).
 16. Es importante vigilar las transfusiones de sangre, en pacientes inmunodeficientes o con terapia inmunodepresora (Mandell, 1979; Soulsby, 1982).

Técnica de inmunofluorescencia indirecta

La técnica de anticuerpos fluorescentes permite identificar y medir los anticuerpos en el suero; cuando se busca un anticuerpo, el antígeno se utiliza bajo la forma de un frotis, un corte de tejidos o un cultivo celular. El antígeno se incuba en presencia de un suero sospechoso y se deja incubar para acelerar la reacción, posteriormente se lava, dejando los anticuerpos unidos al antígeno. Para hacer visible la reacción se utiliza el conjugado, que es una antiglobulina marcada con un fluorocromo (isotiocianato de fluoresceína) se deja incubado

para permitir la unión de la antiglobulina marcada con el anticuerpo; posteriormente se lava y se examina la muestra utilizando el microscopio de fluorescencia, cuando se expone la muestra a la luz ultravioleta invisible de 290 μm a 145 μm de longitud de onda, emite una luz verde visible de aproximadamente 525 μm ; la fluorescencia indica que hay anticuerpos en el suero problema.

Esta técnica es específica, rápida y sensible; por otro lado se requiere de personal especializado para realizar la lectura de la muestra, es necesario equipo especial y el personal que desarrolla la técnica es susceptible de contaminarse ya que se maneja el parásito vivo (Kawamura, 1977; Morilla y Bautista, 1986).

Técnica de aglutinación con látex

Las pruebas de aglutinación para detectar anticuerpos son muy sensibles, algunas veces es deseable convertir los sistemas de aglutinación pasiva y consiste en adsorber antígenos solubles a una partícula grande o insolubles (látex, bentonita o eritrocitos) para hacer visible la

reacción (Morilla y Bautista; Tizard, 1984).

En la técnica de aglutinación con látex para detectar anticuerpos contra Toxoplasma gondii se utiliza una suspensión de microesferas de látex sensibilizadas unidas al protozooario, cuando se mezcla esta suspensión con el suero que contiene anticuerpos contra el parásito se observa una reacción de aglutinación al unirse al antígeno con el anticuerpo. Esta prueba es rápida, específica, no requiere de equipo sofisticado para su realización y no se manipula al parásito vivo (Shiohima, 1981).

OBJETIVO.

Comparar las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y la de aglutinación con látex para determinar los títulos de anticuerpos contra Toxoplasma gondii en bovinos.

MATERIAL Y METODOS

Muestreo

Se emplearon 100 sueros elegidos al azar, que fueron enviados para fines diagnósticos, al Centro Nacional de Diagnóstico en Salud Animal (S.A.R.H.). Estos procedían de animales clínicamente sanos, de los rastros de Tipo de Inspección Federal de los estados de Guanajuato (72) y Durango (28); no se consideraron los datos relativos al sexo y edad de los animales.

Se recolectaron los sueros de bovino durante 4 meses hasta obtener las 100 muestras requeridas. El diagnóstico comparativo de los sueros se realizó en 2 meses.

Los sueros se centrifugaron a 2,000 r.p.m. durante 10 minutos, una vez obtenido el suero se almacenaron a -20°C hasta el momento de su utilización.

Diagnóstico de laboratorio

1. Técnicas de inmunofluorescencia indirecta

Se utiliza para detectar los anticuerpos-antitoxoplásmicos específicos en el suero. Los antígenos toxoplásmicos son confrontados con anticuerpos específicos, conjugados con compuestos fluorescentes (isotiocianato de fluoresceína) para hacer manifiesta la reacción, al ser iluminados por la luz ultravioleta; los parásitos deben presentar un color verde brillante en todo su entorno y en los polos para considerarse positivos y rojo cuando es negativo.

2. Procesamiento de la muestra

Consta de dos partes:

- a). Elaboración y fijación del antígeno
- b). Montaje de la prueba de inmunofluorescencia indirecta para la detección de anticuerpos contra T. gondii.

- a). Elaboración y fijación del antígeno
 1. Inocular dos ratones con 0.2 ml de cultivo de T. gondii² a cada ratón por vía intraperitoneal.

² Proporcionado gentilmente por el Instituto de Enfermedades Tropicales de la S.S.A.

2. Obtención del exudado peritoneal de los ratones, 72 horas después de la inoculación con aguja del número 27.
3. Pasar el exudado por una aguja del número 27 (para destruir células y restos celulares contenidos en el exudado) repitiendo éste paso de 10 a 15 veces.
4. Agregar 10 ml de solución salina al 0.85% por cada mililitro de exudado obtenido.
5. Agitar vigorosamente.
6. Centrifugar a 2,000 r.p.m. durante 5 minutos.
7. Eliminar el sobrenadante.
8. Centrifugar a 2,500 r.p.m. durante 5 minutos.
9. Eliminar el sobrenadante.
10. Resuspender el sedimento hasta en 3 ml con solución salina fisiológica al 0.85%
11. Realizar un frotis y teñirlo con colorante de Wright para hacer la prueba de pureza del antígeno; observar al microscopio con el objetivo de inmersión, se requieren 40 toxoplasmas por campo para que sea utilizado como antígeno.

12. Si el antígeno pasa la prueba de pureza, se procede a la fijación del antígeno.
13. Se preparan los portaobjetos haciendo ocho pozos por laminilla, con un lápiz de punta de diamante, para depositar el exudado.
14. Colocar una gota de antígeno por pozo (aproximadamente 0.2 ml).
15. Dejar secar al ambiente.
16. Fijar el alcohol etílico de 96°C de ácido acético glacial durante cinco minutos.
17. Dejar secar al ambiente.
18. Guardar los portaobjetos a -70°C protegidos de la humedad hasta su uso.

b). Montaje de la prueba de inmunofluorescencia indirecta para la detección de anticuerpos contra T. gondii.

1. Colocar 4 tubos de ensaye por suero problema, en el primer tubo poner 0.1 ml de suero y 1.5 ml de buffer de fosfatos pH 7.6; homogenizar el primer tubo y pasar 0.2 ml al segundo tubo, hasta llegar a la dilución 1:128

2. Colocar una gota de cada dilución en cada uno de los pozos de los portaobjetos.
3. Incubar a 37°C durante 30 minutos en cámara húmeda.
4. Enjuagar con solución buffer de fosfatos.
5. Sumergirlos durante 15 minutos en solución buffer de fosfatos, ponerlo en agitación con agitador magnético a 200 r.p.m.
6. Secarlos con papel filtro a presión.
7. Colocar una gota de conjugado antibovino³ a cada dilución.
8. Incubar a 37°C en cámara húmeda durante 30 minutos.
9. Enjuagarlos con solución buffer de fosfatos.
10. Sumergirlos durante 15 segundos en solución buffer de fosfatos, con el agitador magnético a 200 r.p.m.
11. Dejar secar al ambiente.
12. Realizar tinción de contraste con azul de Evans 1:2, 000 por 5 minutos.

3

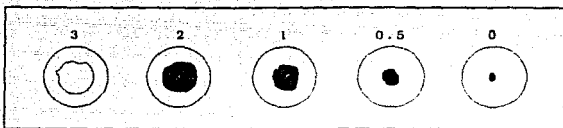
Proporcionado gentilmente por la MVZ. Catalina Valencia Velasco, elaborado en el Centro Nacional de Diagnóstico en Salud Animal (S.A.R.H.)

13. Enjuagar a chorro con solución buffer de fosfatos.
 14. Secar con papel filtro a presión.
 15. Colocar una gota de glicerina y se cubren los pozos con cubreobjetos.
 16. Realizar la lectura en el microscopio de inmunofluorescencia.
3. Técnicas de aglutinación con látex

La prueba de aglutinación con látex es utilizada para revelar anticuerpos específicos por medio del fenómeno de aglutinación, usando como soporte partículas de látex; esto se realiza mediante la sensibilización de microesferas de látex y posteriormente se le adiciona el antígeno. Para éste trabajo se utilizó el proporcionado por JICA⁴: "Toxotest-MT for determination of toxoplasma antibody" La interpretación se siguió de acuerdo a la descrita en el aquipo; se consideró al testigo como negativo "0" que da al menor sedimento después del tiempo de incubación, como 0.5 lo que representa el doble del sedimento del testigo y valores de 1, 2 y 3 para sedimentos que representaron 2, 4 y 6

⁴ Japanese International Cooperation Agency

respectivamente mayores al testigo. A continuación se muestra el diagrama del equipo.



Por otro lado, los títulos menores a 1:16 se considerarán negativos, títulos iguales a 1:16 como sospechosos y títulos mayores o iguales a 1:32 como positivos.

- a) Montaje de la prueba de aglutinación con látex.
1. Inactivar los sueros problema a 60°C por 30 minutos.
 2. Diluir los sueros problema 1:8, utilizar un tubo de ensaye por suero problema, adicionar 0.05 ml de suero y 0.35 ml de diluyente.
 3. Utilizar una microplaca de fondo de U con pozos, ésta microplaca está identificada de la letra A a la H del número 1 al 12.

4. Colocar 0.025 ml del diluyente en toda la microplaca.
5. Colocar 0.025 ml de cada uno de los sueros problema previamente diluidos de 1:8 de la letra A a la H.
6. Realizar las diluciones pasando 0.025 ml empezando de la hilera 1 a la hilera 8 (corriendo las diluciones de 1:16 a 1:2048)
7. Depositar 0.025 ml del antígeno en toda la microplaca.
8. Colocar la microplaca en el agitador durante 1 minuto.
9. Dejarla a la temperatura ambiente durante toda la noche.
10. Realizar la lectura, utilizando el lector de espejo para microplacas.

Evaluación de resultados

Con el fin de evaluar los resultados obtenidos de los 100 sueros de bovino sometidos a las pruebas de inmunofluorescencia indirecta y aglutinación con látex para detectar el nivel de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*, se utilizó la prueba de concordancia, la cual se emplea para probar si los valores observados

experimentalmente están de acuerdo con los valores esperados y cual es la relación que existe entre las dos pruebas (Canavos, 1990; Daniels, 1983; Reyes, 1980).

RESULTADOS

De los 100 sueros de bovinos analizados se obtuvo el 68% de positivos a anticuerpos contra T. gondii y 32% de sueros negativos en las pruebas de IFI y LA.

En el estado de Guanajuato se obtuvieron 48 positivos, que corresponden al 66.66% a ambas pruebas y 24 sueros negativos que representan el 33.33%.

En el estado de Durango 20 sueros resultaron positivos a ambas pruebas (71%) y 8 negativos (29%).

Al realizar el estudio comparativo entre los resultados obtenidos entre la prueba de IFI y la de LA se encontraron los siguientes resultados:

De los 100 sueros analizados por la prueba de IFI, 68 resultaron positivos a anticuerpos contra T. gondii y 32 sueros negativos; de éstos sueros el 32% correspondió a sueros negativos a anticuerpos, el 29% con título 1:16, el 27% con título 1:32, el 3% con título 1:64 y el 9% con

título 1:128.

En la prueba de LA, 66 sueros fueron positivos a anticuerpos y 34 se detectaron como sospechosos; los títulos encontrados oscilaron entre 1:16 y 1:64, de estos el 34% presentaron un título de 1:16, 48% con título 1:32 y 18% con título de 1:64.

De los 68 sueros positivos a la prueba de IFI, cuatro resultaron positivos a ambas pruebas y resultaron positivos a IFI y sospechosos a LA.

De los 32 negativos a anticuerpos; 30 resultaron negativos por IFI y sospechosos por la prueba de LA; mientras que dos sueros fueron negativos por IFI y positivos por LA.

Para comparar las pruebas de IFI y la de LA se utilizó la prueba de concordancia, y se consideró la prueba de IFI como la prueba más exacta obteniéndose una concordancia real del 91.1% entre ambas pruebas, presentando la prueba de LA un índice de error del 8.9%.

Cuadro 1

Detección de anticuerpos contra Toxoplasma gondii por medio de la prueba de IFI en los estados de Guanajuato y Durango.

TITULO	Nº DE SUEROS	RESULTADOS	
		+	-
NEGATIVO	32	0	32
1/16	29	29	0
1/32	27	27	0
1/64	3	3	0
1/128	9	9	0
TOTAL	100	68	32

Margarita Hernández, CENASA, 1993

Cuadro 2

Detección de anticuerpos contra Toxoplasma gondii por medio de la técnica de aglutinación con látex de los estados de Guanajuato y Durango.

TITULO	N° DE SUEROS	RESULTADOS		
		+	-	suspectivos
1/16	34	0	0	34
1/32	48	48	0	0
1/64	18	18	0	0
1/128	0	0	0	0
TOTAL	100	66	0	34

Margarita Hernández, CENASA, 1993

Cuadro 3

Detección de anticuerpos contra Toxoplasma gondii por medio de la técnica de IFI y LA de los estados de Guanajuato y Durango.

INTERPRETACION	RESULTADO	GUANAJUATO	DURANGO	TOTAL DE SUEROS
POSITIVO A AMBAS PRUEBAS	+	46	16	64
POSITIVO A IFI Y SOSPECHOSO A LA	-	2	2	4
SUBTOTAL	+	48	20	68
NEGATIVO A IFI Y SOSPECHOSO A LA	-	23	7	30
NEGATIVO A IFI Y POSITIVO A LA	-	1	1	2
SUBTOTAL	-	24	8	32
TOTAL		72	28	100

Margarita Hernández, CENASA, 1993

Cuadro 4

Detección de anticuerpos contra Toxoplasma gondii
en el estado de Guanajuato, por las técnicas de IFI y LA.
(Porcentaje)

RESULTADO	Nº DE SUERO	PORCENTAJE
+	48	66.66%
-	24	33.33%
TOTAL	72	100%

Margarita Hernández, CENASA, 1993

Cuadro 5

Detección de anticuerpos contra Toxoplasma gondii
en el estado de Durango, por medio de las técnicas de IFI y LA.
(Porcentaje)

RESULTADO	Nº DE SUERO	PORCENTAJE
+	20	71%
-	8	29%
TOTAL	28	100%

Margarita Hernández, CENASA, 1993

Cuadro 6

Detección de anticuerpos contra Toxoplasma gondii de los estados de Guanajuato y Durango por medio de las técnicas de IFI y LA

Interpretación	Inmunofluorescencia indirecta	Aglutinación con látex	IFI Y LA
Positivos	68	66	4
Negativos	32	—	—
Sospechosos	—	34	—
TOTAL	100	100	4

Margarita Hernández, CENASA, 1993

DISCUSION

Se eligió comparar la prueba de IFI porque ya se tenía implementada en el Centro Nacional de Salud Animal, con la prueba de LA, porque los reactivos de esta última habían sido donados y no se tenía ningún antecedente previo del uso de esta técnica en México, para el diagnóstico de la toxoplasmosis en bovinos.

Se analizaron sólo 100 sueros porque la cantidad de los reactivos de la prueba de LA era exclusivamente para 100 muestras.

Los criterios para la evaluación empleados han sido señalados por diversos autores (Canavos, 1990; Daniels, 1963). Aunque para el análisis matemático, los sospechosos a la prueba de LA fueron considerados como verdaderos negativos.

La prueba de IFI detectó 68 sueros positivos y 32 negativos, mientras que la prueba de LA detectó 66 sueros positivos a anticuerpos y 34 sospechosos; de estos 34 sospechosos, 30 fueron negativos a IFI y 4 positivos por IFI; los

sueros que resultaron sospechosos a LA pero positivos por IFI se consideraron positivos, esto se explica porque la prueba de IFI resulta ser siempre más específica y sensible que cualquier otra prueba (Dubey, 1985; Frenkel, 1973; Hirt, 1974).

De los 2 sueros positivos en LA y negativos por IFI, se consideraron negativos por la misma razón antes mencionada, aunque la valorización de éstos debió realizarse una vez más, al considerarse que existió un error de manejo en el desarrollo de la prueba de IFI de los dos sueros mencionados anteriormente.

En el análisis matemático se utilizó la prueba de concordancia, porque es la que mejor se ajusta (Canavos, 1990; Daniels, 1982; Reyes, 1982); se consideró a la prueba de IFI como el instrumento más exacto, porque siempre ha resultado la más sensible y la más específica, ya que el análisis de eficacia previos, la IFI se ha llevado a través de la concordancia entre los resultados de la IFI y los casos reales.

De acuerdo al análisis efectuado el error estimado de la prueba de LA correspondió a un

8.9% contra la de IFI, lo que da la característica de una prueba muy semejante a la sensibilidad y especificidad de la IFI; ya que tiene una concordancia real del 91%.

El total de casos probados arrojó 68 sueros positivos y 32 negativos de los cuales 72 corresponden al estado de Guanajuato y 28 de Durango.

Por otro lado del 100% de los sueros analizados, Guanajuato obtuvo el 66.66% de positivos y el 33% de negativos; mientras que sueros procedentes de Durango el 71% correspondió a los positivos a anticuerpos contra T. gondii y el 27% a sueros negativos.

Los resultados obtenidos en el presente estudio difieren de otras investigaciones realizadas en México: Monroy (1976) el cual reportó un 18.1% de sueros positivos a anticuerpos contra T. gondii, en Cuautitlán estado de México; asimismo en la investigación realizada por Medina y Mosqueda (1984) reportaron un 48% de sueros positivos a anticuerpos contra T. gondii, utilizando las pruebas de IFI y la de Sabin-Feldman.

En estudios comparativos en humanos empleando las técnicas de IFI y LA se han obtenido resultados similares al presente estudio, encontrándose una concordancia del 95.7% (Terragana y col., 1984); Por otro lado, en estudios en caprino reportan una concordancia del 96% (Opel, 1987).

Asimismo se han reportado sobre la inespecificidad de la prueba de Sabin-Feldman en el diagnóstico de la toxoplasmosis en bovinos por dos razones: existe en el suero de bovino una globulina que da falsos positivos, ésta no es destruida a 56°C por 30 minutos, y en la mayoría de los estudios realizados anteriormente en esta especie se ha inactivado a esta temperatura; la inactivación adecuada es a 60°C por 30 minutos. Por otro lado se reporta que es posible que los reactivos empleados en la técnica de Sabin-Feldman (Dye test) no sean compatibles con el suero de bovino (Dubey, 1985).

El porcentaje de positividad en los estados de Guanajuato y Durango resulta alarmantes y es necesario realizar estudios más exhaustivos en

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

el ganado bovino, de ser posible combinar los estudios serológicos con el aislamiento del parásito, utilizando técnicas más adecuadas como la prueba de aglutinación modificada ampliamente recomendada por Dubey (1985).

CONCLUSIONES

De los 100 sueros de bovino, enviados con fines diagnósticos al Centro Nacional de Salud Animal de los estados de Guanajuato y Durango, analizados por medio de las pruebas de inmunofluorescencia y aglutinación con látex para la detección de anticuerpos contra *T. gondii*; se obtuvieron los siguientes resultados:

1. En el estado de Guanajuato se obtuvieron 48 positivos a ambas pruebas que representan el 66.6% y 24 sueros negativos que representan el 33.33%.
2. En el estado de Durango 20 sueros resultaron positivos a ambas pruebas (71%) y 8 negativos (29%).
3. El análisis matemático dio que la prueba de LA es muy semejante en sensibilidad y especificidad a la IFI, con un error estimado del 8.5% y una concordancia real del 91,1%.
4. Se recomienda usar la prueba de LA en caso de no utilizar la de IFI.

BIBLIOGRAFIA

1. Acha, P.: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales, publicación científica N°. 1. O.P.S. y O.M.S., D, C., 1977.
2. Andrade y Pereira, N.D.: Inst. Oswaldo Cruz., 79: 337-339 (1984).
3. Barrios, M, J.: Detección de Toxoplasma gondii en semen de bovinos previamente inoculados, en la cuenca lechera de Cuautitlán, Estado de México. Tesis de licenciatura. Fac. de Estudios Profesionales Cuautitlán. Estado de México., 1981.
4. Beagi, F.: Enfermedades parasitarias. Fournier, México, D. F., 1976.
5. Beaver, P. CH. and Clifton, R.: Parasitología clínica. Salvat, Barsezona, 1986.
6. Beverley, J. K: Comparison of comercial toxoplasmosis latex slide agglutination test with the dye test. Vet. Rec., 93: 216-218 (1973).
7. Boch, J. y Supperer, R.: Parasitología en medicina veterinaria. Hemisferio Sur., 1982.
8. Canave, C. G. Probabilidad y estadística. Mc. Graw Hill, 1990.
9. Castro, M.: Detección de Toxoplasma gondii en semen de bovinos previamente inoculados,

en la cuenca lechera de Cuautitlán, Estado de México. Tesis de licenciatura. Fac de Estudios Superiores Cuautitlán. Estado de México., 1982.

10. Chandler, A. C. and Read, C.: Introduction to parasitology. John Wiley and Sons, New York, 1976.
11. Daniels, W. W.: Bioestadística. Limusa, México, D., 1983.
12. Dickson, M. K. and Gwadz. R.: Parasitic-disease. Springer, New York, 1989.
13. Dubey, J. P.: Serologic evaluation of cattle inoculated with Toxoplasma gondii: comparison of Sabin-Feldman, dye test and other agglutination test. Am. J. Res., 46: 1085-1088 (1985).
14. Dubey, J. P.: Serologic prevalence of toxoplasmosis in cattle, sheep, pigs, bison and elk in montana. J.A.V.M.A., 186: 969-970 (1985).
15. Dubey, J. P.: Toxoplasmosis. J.A.V.M.A., 189: 160-170 (1986).
16. Dubey, J. P. and Beathe, C.: Toxoplasmosis of animals and man. CRC Press. Inc., Boca Raton, Florida, 1988.
17. Jimenez, F. M.: Resistencia del Toxoplasma gondii en leche para el consumo humano procesada a diferentes temperaturas. Tesis de licenciatura. Fac. de Estudios Superiores Cuautitlán., 1982.

18. Frenkel, K. J. y Ruiz, A.: Toxoplasmosis humana. Rev. Med. Costarricense, San José, Costa Rica., 1973.
19. Georgi, J. R. Parasitology for Veterinarians. 3th ed. W. B. Saunder, Philadelphia, 1980.
20. Hirt, J. y Albesi, E. I.: Toxoplasmosis. Ateneo, Buenos Aires, 1974.
21. Kawamura, Akiyoshi.: Fluorescent antibody techniques and their applications. University of Tokio press, Japan, 1977.
22. Levine, N. D.: Protozoan parasites of domestic animals and of man. Burques publishing, Chicago, 1961.
23. Levine, N. D.: Tratado de parasitología veterinaria. Acribia, Zaragoza, España, 1978.
24. Mandell, I and Gerald, L.: Principles and practice of infectious disease. Seth anderson, New York, 1979.
25. Medina J. P. y Mosqueda, L. H.: Determinación serológica de los niveles de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*, por medio de las pruebas de inmunofluorescencia indirecta y Sabin-Feldman, en borregos sacrificados en el rastro de ferrería. Tesis de licenciatura. Fac. de Estudios Superiores Cuautitlán. Estado de México., 1984.
26. Monroy, J. A.: Identificación de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en suero sanguíneo por la prueba de inmunofluorescencia

- indirecta. Tesis de Licenciatura. Fac. de Vet. Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F., 1968.
27. Morilla, A. y Bautista, C.: Manual de inmunología. Diana, México, D.F., 1986.
 28. Nuñez, M. A. y López, A. A., Mendoza, P. L.: Montaje de la técnica de inmunofluorescencia indirecta para el diagnóstico de problemas reproductivos en ovinos debido a Toxoplasma gondii. Tesis de licenciatura. Fac. de Estudios Superiores Cuautitlán. Estado de México, 1991.
 29. Opel, U.: Serological studies on goats and dogs in New Zealand for toxoplasma antibodies with the indirect immunofluorescence test and latex aglutination test. Inaqual Dissertation., 100 (1987).
 30. Reyes, C. P.: Bioestadística aplicada. Trillas, México, D.F., 1980.
 31. Roch, E.: Compendio de toxoplasmosis. Patria., México, D.F., 1974.
 32. Siohsima, N. T. and Hiraoka, K.: Latex aglutination microtiter test for diagnosis of toxoplasma infection in animals. Jap. J. Vet. sci., 250: 376-382 (1981).
 33. Soulby, E. J. L.: Parasitología y enfermedades parasitarias. 7ªed. Nueva editorial Interamericana, México, D.F., 1982.
 34. Sun, T. M.: Color atlas and testbook of

diagnosis parasitology. Igaku-Shoin, Tokio, 1988.

35. Terragana, A.; Morandi, N. and Canessa, A., Fiorelli, A.: Comparative study of latex agglutination test in the diagnosis of toxoplasmosis. Giornale di Malattie Infettive e Parassitarie. 36: 1103-1106 (1984).
36. Tizard, I.: Immunologia veterinaria. Interamericana, México, D. F., 1984.
37. Venegas, A. G.: Contribución al estudio de Toxoplasma gondii en exudado vaginal de bovino en el Estado de México. Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1976.