



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

**"DETECCION DE Toxoplasma gondii, EN SEMEN DE
BOVINOS PREVIAMENTE INOCULADOS, EN LA CUENCA
LECHERA DE CUAUTITLAN, ESTADO DE MEXICO."**

T E S I S

Para obtener el título de
MEDICO VETERINARIO ZOTECISTA

presenta

JOSE LUIS CASTRO MOLINA

Asesores:

**MVZ. MIGUEL ANGEL PEREZ ORTEGA
MVZ. JUAN ALFONSO MONROY JUAREZ**

Cuautitlán, Izcalli

1982



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 esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

• DETECCIÓN DE Toxoplasma gondii, EN SEMEN DE
BOVINOS PREVIAMENTE INOCULADOS, EN LA CUENCA
LECHERA DE CUAUTITLAN, ESTADO DE MEXICO.

JOSE LUIS CASTRO MOLINA

I N D I C E

		Pag.
CAPITULO I	RESUMEN	1
CAPITULO II	INTRODUCCION	2
CAPITULO III	MATERIAL Y METODOS	16
CAPITULO IV	RESULTADOS	21
CAPITULO V	DISCUSION	24
CAPITULO VI	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	27
CAPITULO VII	BIBLIOGRAFIA	28

RESUMEN.

El presente trabajo fue realizado con el objeto de probar la eliminación de Toxoplasma gondii, en semen de bovinos; la posible deseminación de la toxoplasmosis bovina por monta natural y su influencia en la transmisión de la toxoplasmosis humana, es aquí donde toma su mayor importancia ya que el hombre por estar en continua relación con los animales y sus productos, estos al estar contaminados, cerraran el ciclo para que el hombre sea infectado en forma directa o sea de individuo a individuo o bien en forma indirecta al contaminar alimentos que posteriormente seran ingeridos por un animal susceptible a infectarse.

La determinación que se logró de Toxoplasma gondii, en semen de bovinos, nos da bases firmes para confirmar una de las muchas vías de infección para el parásito.

Se obtuvieron 20 eyaculados de 10 bovinos con un promedio de 20.2 meses \pm 9.05 de edad, se obtuvieron 2 bovinos positivos usando tinción con colorante de Wright, así como un cuadro clínico propio de toxoplasmosis.

A todos estos bovinos les fueron aplicadas 2 inoculaciones con cepa viva de Toxoplasma gondii, por vía intraperitoneal e intravenosa, con un intervalo de 8.3 días en promedio, se obtuvieron 2 bovinos positivos a dicha prueba, por identificación directa, la cepa utilizada fue proporcionada por el Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales.

INTRODUCCION.

El Toxoplasma gondii, es un agente parasitario clasificado dentro del Phylum III de los Apicomplexa (Levine 1980); Nicolle y Manceaux le dieron este nombre en 1909, al encontrarlo en el roedor clasificado como Ctenodactylus gondii, en el Instituto Pasteur de Tunes, (16,27,31).

El Toxoplasma gondii, infecta a los animales de sangre caliente y fría, pero toma su mayor importancia al infectar al hombre a quien le provoca varios problemas que se manifiestan clínicamente por encefalitis, neumonía, mortalidad neonatal y abortos, (2,10,13,27,30,31,35).

El Toxoplasma gondii, no tiene una distribución geográfica bien marcada, pues se han reportado hallazgos en todas partes de la Tierra, no importando climas, precipitaciones pluviales, latitudes o poblaciones de animales existentes, se ha observado que su incidencia no se ve afectada por época del año en especial, tampoco influye edad o sexo del hospedador para su infección, (1,26,31).

Este parásito infecta a la mayor parte de los órganos, pero tiene mayor predilección por el sistema nervioso central y retículo endotelial, esto explica, el hecho de que los principales problemas van a ser de índole nervioso como es el caso de las manifestaciones encefalíticas y alteraciones en órganos parenquimatosos tales como hepatitis y esplenomegalia, (1,2,16,20,31).

CLASIFICACION DEL Toxoplasma gondii

SUBREINO: Protozoa
PHYLUM III: Apicomplexa (Levine 1970)
CLASE I: Perkinsea (Levine 1978)
SUBCLASE 2: Coccidia (Leuckart 1879)
SUBORDEN 2: Eimeriina (Leger 1911)
ORDEN 2: Protococcidida (Leger y Dugosa 1910)
FAMILIA: Toxoplasmidae
GENERO: Toxoplasma
ESPECIE: Toxoplasma gondii (Nicolle y Manceaux 1909)

(18)

Varela y Roch, mencionan la predilección del Toxoplasma gondii por ciertas regiones del organismo, localizándose éstas en las membranas donde existe mayor intercambio de oxígeno tisular, como ejemplo tenemos que en la placenta en las carúnculas y cotiledones de la parte arterial del árbol materno, aquí provoca isquemia seguida de muerte fetal, aborto e inflamación y retenciones de la placenta. En los pulmones se sitúa en los alveolos causando neumonía. En el cerebro se sitúa en los plexos coroides provocando coroiditis e hidrocefalia además de los problemas aórticos de tipo crónico, (31,35).

Algunos investigadores han encontrado toxoplasmas en ciertas secreciones y excreciones corporales en forma extracelular (esporozoito), como son humor acuoso (Torres Estrada 1941), humor vítreo (Roch y Nicoli 1969), lágrimas (Ansari y Minov 1948), heces (Winser 1948), orina (Wicklan), carne, leche, líquido seminal (Roch 1969), exudado vaginal (Coven 1951 y Bergamschi 1960).

En 1939 Piage y Wolf confirmaron el primer caso de toxoplasmosis congénita, al aislar el parásito en coneja que previamente habían inculado.

En 1950 Coven y col. comprobaron que la toxoplasmosis se puede transmitir por vía transplacentaria, (31,35).

En 1952 Meghne encontró el parásito en placenta humana, (31).

Sanger, Cole y Farrel en 1953 observaron que los abortos se dan en casos subclínicos de la enfermedad, (1,31).

Osborne (1959) describió dos casos de aborto en el Sur de Wales, Austria, el aborto mostraba las membranas fetales con características de toxoplasmosis pero no logró aislar el parásito, (12).

En 1960 Jacobs y Remigton, encontraron el parásito en úteros procedentes de necropsias e histerectomías en humanos, (31).

En 1963 Langer demostró la presencia de pseudoquistes en endometrio de mujeres con aborto habitual y encontró el parásito en algunos embriones de embarazos sucesivos, (27).

En Nueva Zelanda y Canadá se ha identificado a Toxoplasma gondii, como el causante de abortos en ovinos, (27).

Roch (1969) estableció que en México la incidencia de toxoplasmosis en perros sospechosos de rabia fue el 4 % .

Monroy en 1976 realizó pruebas de identificación de anticuerpos contra Toxoplasma gondii, en sueros sanguíneos de 1237 bovinos, estos animales en su mayoría tenían antecedentes de aborto y retenciones placentarias y encontró que el 18.1 % de estos animales resultaron positivos a dicha prueba, (24).

Spence (1980), reportó haber encontrado Toxoplasma gondii en ovinos inoculados subcutáneamente con oocistos del parásito, en el día 20 postinoculación en un ovino, en el día 20 y 25 en el segundo ovino y en el día 7 y 32 en el tercero, de un trabajo que él realizó, (7,8).

Disko (1973), encontró Toxoplasma gondii, en semen de 3 personas de 125 infectadas en forma natural, (7,8).

Dubey y col. encontraron Toxoplasma gondii, en semen de caprinos previamente inoculados en forma oral, este hallazgo lo realizaron desde el día 7 al 59 postinoculación, (6).

Oscar Cuevas (1981), inoculó bovinos gestantes en diferentes estadios con cepas de Toxoplasma gondii, estas hembras abortaron y de los bazos fetales logró identificar el parásito (reporte personal próximo a publicarse como tesis profesional).

MORFOLOGIA.

La forma vegetativa o trofozoito (bradizoito y taquizoito) es semilunar, mide de 3.5 a 7 micras de largo, por 1.5 a 4 de ancho, presenta un polo superior fino que termina en forma de cono y el inferior es esférico dándole al parásito la forma de pera, (6,17,31).

En preparaciones coloreadas con Giemsa o Wright, se distingue una membrana granulosa, un citoplasma teñido de azul; reacción basófila intensa y un núcleo coloreado en rojo, situado en la parte central del citoplasma.

REPRODUCCION.

El Toxoplasma gondii, presenta varias formas de reproducción la más sencilla es la división binaria o endodiogenia, esta división empieza por el polo superior, bien sea por amitosis o mitosis; al mismo tiempo una pared refrigente atraviesa el citoplasma de la célula madre, los núcleos se separan y se revisten de doble membrana, formando así dos nuevos individuos que proseguirán su vida independiente, el proceso antes descrito se lleva a cabo en una célula madre con duración de 6 horas aproximadamente, los nuevos parásitos siguen dividiéndose dentro de las células del hospedador, hasta que provocan el estallamiento de la célula, esto se debe al aumento de la presión interna, dejando salir las formas de toxoplasma, este segundo ciclo transcurre en 24 horas aproximadamente y es la forma infectante, esta reproducción se lleva a cabo en hospederos intermediarios, (6,17,31).

REPRODUCCION SEXUAL.

Se ha comprobado hasta ahora que el gato es uno de los hospederos definitivos del Toxoplasma gondii, ya que elimina oocistos que son infectantes para otros hospedadores y se ha observado que en las células epiteliales de su intestino delgado, se lleva a cabo la fase esquizoogónica, gametogónica y de esporogónica y en el fleón se han encontrado todos los estadios de los parásitos. Estos parásitos son expulsados al exterior en forma de oocisto no esporulado, los cuales contienen 2 esporoblastos con 4 esporozoitos cada uno, que al caer en un ambiente óptimo de temperatura, luz y humedad maduran en término de tres días y al contaminar productos alimenticios, son ingeridos, produciéndose la infección en forma directa o indirecta, o sea contaminando un hospedador a otro o bien contaminando alimentos que más tarde ingerirán los hospedadores susceptibles, (31).

PATOGENIA.

Las formas de invasión del hospedero se lleva a cabo de diferentes formas como son:

- a).- Formas vegetativas (ooquistes) procedentes del medio externo.
- b).- Los trofozoitos libres (taquizoitos) y los enquistados (bradizoitos).

Estas formas de invasión se ven favorecidas y potencializadas por periodos prolongados de stress del huésped, lo mismo

sucede cuando existen infecciones subclínicas, esto fue estudiado en macacos sometidos a situaciones de stress y de inmunosupresión, (31).

Todos los animales que padecen infecciones en la naturaleza son capaces de transmitirlo al hombre, sobre todo los que están en relación más íntima con él, ya sea aquellos de carácter doméstico o los utilizados en su alimentación o deporte.

La infección del feto puede ocurrir durante la parasitemia de la madre; o por ingestión de líquidos amnióticos infectados, o por la contaminación que proviene de la pared uterina o del endometrio.

La infección de un animal a otro sucede por la contaminación que sufren los alimentos que éstos ingieren, esta contaminación necesariamente tendrá que ser con parásitos viables, (2,31,34).

Se han descrito infecciones en útero pre y postnatal, tanto en el hombre como en los animales, la fiebre suele acompañar al período agudo, las lesiones y signos pueden implicar linfadenitis, esplenomegalia, miocarditis, neumonías, hidrocefalia, encefalitis. La infección subaguda puede afectar a los ojos y al sistema nervioso central, la fase crónica está caracterizada por masas intracelulares cistiformes que se desarrollan en la retina, sistema nervioso central, músculo esquelético y corazón.

En la mujer la toxoplasmosis puede provocar abortos, partos con fetos muertos y defectos mentales en el producto.

Se han realizado investigaciones en bovinos y se ha comprobado la transmisión intrauterina durante el período embrionario, estas observaciones se realizaron en casos cuidadosamente seleccionados con control prolongado y repetición de las inoculaciones, para que se lleve a cabo la muerte embrionaria

se requiere de desordenes vasculares y nutricionales los cuales se dan al provocarse la inflamación placentaria ocasionados por daños celulares causados por el parásito, (3, 4, 10, 22, 27, 29, 30, 31).

Munday B.L. (Inglaterra) inoculó experimentalmente Toxoplasma gondii, a bovinos y logró su reaislamiento en una quinta parte de los diafragmas de estos animales, (25).

Chaton y Blank (1917), observaron epizootias en ganado que pastaba la mayor parte de su vida en el campo, siendo en estos casos las garrapatas y otros hematófagos la vía de infección, los principales trastornos fueron de tipo pulmonar, presentaban disnea, tos, fiebre, y problemas de tipo nervioso muy semejantes al derriengue, las formas graves las observaron en los becerros y en las vacas recién paridas, (31).

ASPECTOS INMUNOLOGICOS.

El Toxoplasma gondii, es el primer protozooario que debe añadirse a la lista de los organismos infecciosos que producen interferon.

Rytel y Jones informaron que pueden ser detectados niveles de interferon en ratas inoculadas con cepa Rh, 24 horas postinfección, persistiendo hasta cuatro días después.

Holdt asegura que para desarrollarse inmunidad protectora es necesario la presencia del parásito vivo.

La infección con Toxoplasma gondii, confiere resistencia por un año o más a infecciones intracelulares por Listeria monocitógenas, Brucella, Salmonella thyphymurium. Remington sugiere que esta resistencia puede deberse a macrófagos activados.

MECANISMO DE TRANSMISION.

Aún no se conoce totalmente la forma de transmisión, tal vez la vía más importante de infección sea la ingestión de alimento contaminado, aunque puede ocurrir la invasión pulmonar después de la inhalación de partículas contaminadas.

Probablemente la transmisión ocurre por medio de parásitos intracelulares viables al hacerse transfusiones de sangre. Se han realizado transmisiones experimentales con insectos hematófagos (garrapatas), pero se observó que posteriormente estos mismos pierden su poder infectante para otros animales, (29).

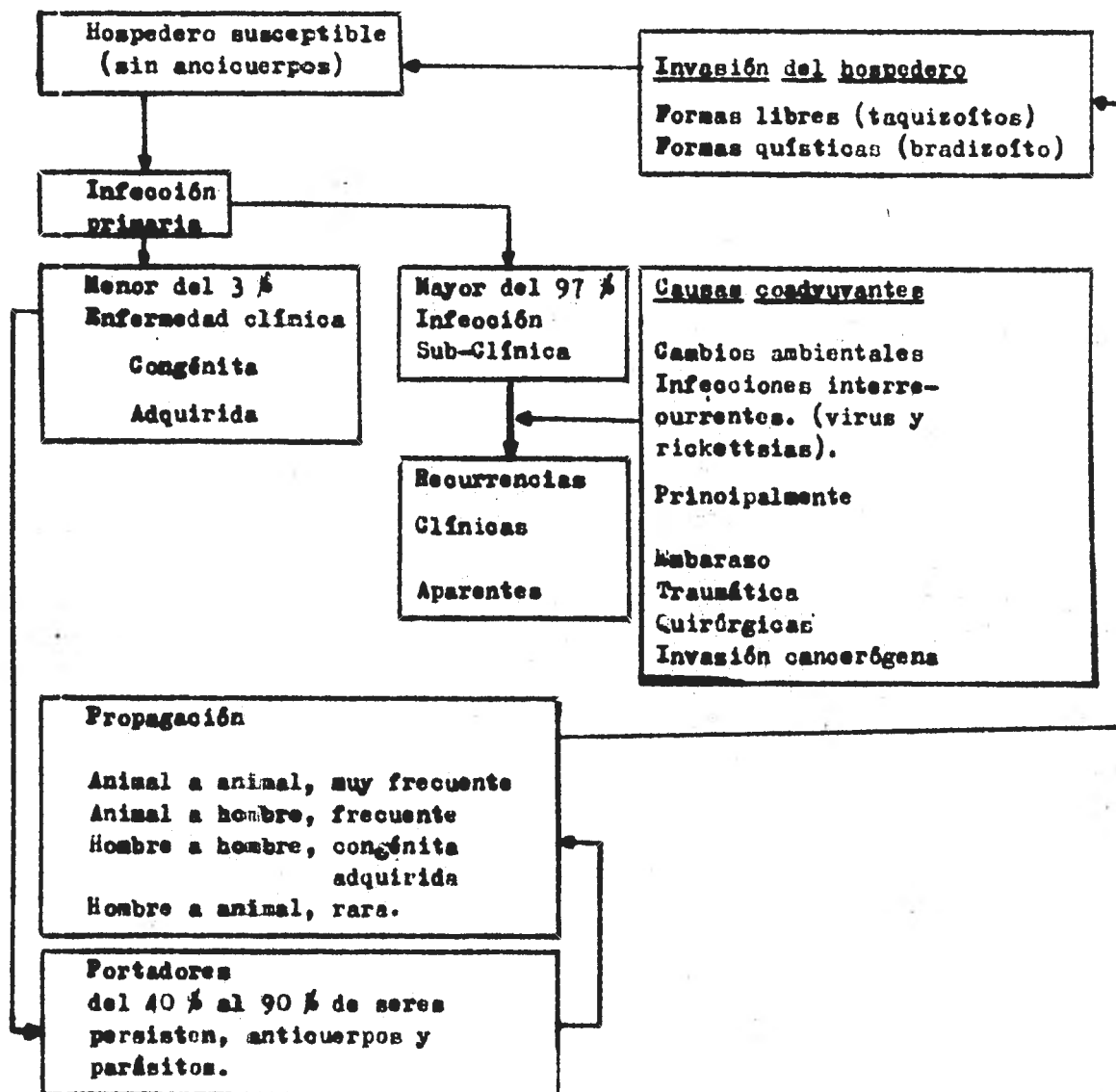
Hedores y otros pequeños animales pueden servir como reservorios de la infección aunque carecen de importancia en animales de granja.

La propagación de la toxoplasmosis en la naturaleza se lleva a cabo de diferentes formas como son: de animal a animal es la más frecuente de animal a hombre es poco frecuente de hombre a hombre la forma congénita es frecuente, la adquirida es poco frecuente y la de hombre al animal es muy rara, (10, 17,31).

MOVILIDAD.

El Toxoplasma gondii, no posee órganos de locomoción, pseudópodos, flagelos, membranas ondulantes etc., pero a pesar de esto su movilidad es bien manifiesta según Matsubayashi y Shendiche (1963), Ogino y Yaneda (1966). Los movimientos ondulatorios de la pared, se dirigen del extremo inferior al superior, movimiento circulatorio de tirabuzón y un movimiento de impulsión debido al ectoplasma con el resto del cuerpo fijo, (31,32,35).

INTERRELACION DEL Toxoplasma gondii
Y SU HOSPEDERO ANIMAL Y HUMANO (27).



RESISTENCIA.

El toxoplasma para proteger su supervivencia al encontrar elementos de defensa del hospedero, bien sea naturales, adquiridos o provocados por la acción de drogas, toma la forma de resistencia llamada quiste (bradizoíto) (31). Y la resistencia del toxoplasma a los diferentes factores ecológicos, físicos, químicos o biológicos es diferente según sea la forma vegetativa (ooquiste), o la quística (bradizoíto, taquizoíto), la primera es más frágil que la segunda, por eso a ésta se le llama forma de resistencia, la forma quística le permite vivir al parásito por meses, años o toda una vida, (1, 2, 31).

DIAGNOSTICO DE TOXOPLASMOSIS.

a).- El diagnóstico de toxoplasmosis se hace por medio de método directo o sea observación del parásito al microscopio ordinario o electrónico: en líquidos orgánicos normales como son, líquido cefalorraquídeo, lágrimas, saliva, orina, heces, etc. Estudios de improntas, cortes microscópicos de tejidos o por observación de preparaciones teñidas con colorante de Wright u otra tinción hecha en el laboratorio.

b).- Métodos indirectos, se llevan a cabo mediante la demostración de anticuerpos específicos en sueros sanguíneos, líquido cefalorraquídeo, humor acuoso y piel.

- 1).- Reacción neutralizante
- 2).- Fijación de complemento
- 3).- Reacción de Sabin y Feldman
- 4).- Reacción de colorante antígeno
- 5).- Prueba de hemaglutinación
- 6).- Prueba de anticuerpos fluorescentes
- 7).- Prueba de inmunoelectroforesis
- 8).- Reacción de hemaglutinación

Reacción neutralizante. Fue utilizada por Sabin y Olitsky en 1937 y modificada por Sabin y Roehman 1942, consiste en poner en contacto toxoplasmas vivos frente a un suero inmune específico, su desventaja es el riesgo de contagio que existe, ya que se trabaja con el parásito en vivo, iguales riesgos existen en la prueba de colorante antígeno.

Prueba de fijación de complemento, esta es una prueba confirmativa para el diagnóstico de toxoplasmosis hecho por otras.

Reacción de Sabin y Feldman.

Es una reacción de colorante antigéno, se utiliza toxoplasma vivo y un suero problema, tiene un alto riesgo de contagio al momento de llevarla a cabo.

Prueba de hemoaglutinación.

Es una de las pruebas más sencillas y fáciles de interpretar a simple vista, es menos peligrosa que las anteriores ya que no se maneja toxoplasma vivo.

Prueba de anticuerpos fluorescentes.

Es una de las pruebas más utilizadas en los últimos años, esta prueba ha marcado la evolución en la investigación inmunológica.

Prueba de inmunoelectroforesis.

Se usa la técnica de difusión en medio de gelosa de Ouchterlony su lectura es muy fácil, se hace observando las líneas de precipitación es una de las más empleadas.

Reacción de hemoaglutinación.

Es una de las pruebas más sensibles y específicas para el diagnóstico de toxoplasmosis, es muy utilizada.

MATERIAL Y METODOS

A).- MATERIAL BIOLÓGICO

Se trabajó con 20 eyaculados, provenientes de 10 toros, estos animales eran de diferentes razas y con una edad promedio de 20.2 meses \pm 9.05, estaban confinados en el Rancho Las Brisas, en el municipio de Teoloyucan, Estado de México, estos animales estaban destinados a la engorda para el abasto.

Se incluyó 2 vacas con características de ninfomanía, para facilitar el trabajo de los machos.

Se contó con exudado peritoneal de ratones infectados con Toxoplasma gondii, (cepa proporcionada por el Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales).

B).- REACTIVOS

- 1).- Alcohol metílico 96°G.L.
- 2).- Colorante de Wright
- 3).- Agua destilada
- 4).- Solución salina fisiológica

C).- EQUIPO

- a).- Microscopio Carl Zeiss
- b).- Portaobjetos
- c).- Cubreobjetos
- d).- Mechero Bunsen
- e).- Centrifuga
- f).- Aceite de inmersión
- g).- Estuche de disección
- h).- Papel filtro, algodón

- i).- Corrales de aislamiento para los animales implicados en el presente trabajo, (bovinos, ratones).
- j).- Electrocyaculador Nichalson
- k).- Vagina artificial
- l).- Esterilizador
- m).- Tubos recolectores de 11 mililitros
- n).- Pipetas Pasteur de .5, 10 y 20 ml.
- ñ).- Agujas calibre 18 y 14 por 2 pulgadas
- o).- Jeringas desechables de 5,10 y 20 ml.
- p).- Equipo sanitario de seguridad personal (botas, bata, lentes, cubrebocas, guantes).
- q).- Medios de sujeción para los animales (lazos, narigón).
- r).- Termómetro

MÉTODOS.

Manejo del electroeyaculador.

El electroeyaculador es un aparato que trabaja en base a circuitos electrónicos, en cuyo desarrollo se han empleado las técnicas más avanzadas en electrónica, su diseño fue logrado por veterinarios e ingenieros en electrónica, esto se hizo con el fin de minimizar los factores de stress en el animal y obtener el máximo de resultados en cuanto a calidad de semen colectado y reducir el tiempo empleado en cada una de las recolecciones.

El electroeyaculador cuenta con tres electrodos longitudinales, mismos que están programados en forma rítmica, para estimular la respuesta del animal y que éste eyacule, esta estimulación puede hacerse simplemente actuando el switch de prendido-apagado, mismo que está alimentado por una fuente de energía (acumulador de 12 voltios para auto), este acumulador tiene a la vez un convertidor de energía, que fluye para hacer funcionar los electrodos y provocar así el estímulo mecánico del pene, y lograr finalmente la eyaculación.

Manejo de la vagina artificial.

La vagina artificial está formada por un tubo de hule especial, mismo que está recubierto interiormente por hule látex, y a la vez tiene una válvula, a través de la cual se llena con agua tibia a 38-40°C. un compartimiento que existe entre el tubo y la recubierta de hule látex, esto con el fin de asemejar una vagina natural, y provocar así la excitación del macho, su máxima excitación se logra con masajes manuales en el prepucio, la vagina termina en una especie de embudo

también de hule látex, en el extremo de éste se coloca un tubo de vidrio previamente esterilizado, el cual va a desempeñar el papel de recolector del semen eyaculado.

PROCEDIMIENTOS.

Se obtuvo exudado peritoneal de ratones infectados con Toxoplasma gondii, la obtención del exudado se hizo en el laboratorio de toxoplasmosis del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, bajo asesoramiento y supervisión del personal encargado del laboratorio.

Este exudado se observó en el microscopio Carl Zeiss a razón de 25 toxoplasma por campo de inmersión con características de viabilidad.

Se aforó 5 ml. de exudado peritoneal de ratón a 10 mililitros con agua destilada, una vez aforado y homogenizado el exudado, se inoculó en forma intraperitoneal al primer bovino y por vía intravenosa al segundo, se dejaron pasar 7.8 días en promedio y se volvieron a inocular, reinvirtiendo las vías de inoculación respectivamente, esto tuvo por objeto provocar una parasitosis constante en los animales y así tener mayor margen de seguridad al momento de tratar de detectar el Toxoplasma gondii en cada eyaculado, estos eyaculados fueron obtenidos de acuerdo y respetando las características de docilidad de cada animal, es decir si aceptaron o no vagina artificial o el electroeyaculador.

Los eyaculados número uno de cada toro se tomaron 8.7 días en promedio posterior a la primera inoculación con la cepa del Toxoplasma gondii, y el segundo se tomó en igual forma pasados 11.8 días en promedio después de la segunda inoculación.

Posteriormente se trabajó con otros 2 animales, hasta completar los 10 bovinos iniciales del presente trabajo.

Después de la obtención de cada eyaculado se hizo una serie de tinciones de los mismos, éstas tinciones fueron realizadas con colorante de Wright, para tratar de observar los toxoplasmas, esto fue en forma directa, sin usar ninguna dilución en particular, esto se hizo para cada eyaculado.

Una vez realizada, la primera tinción se hizo una segunda del mismo eyaculado, pero esta tinción fue hecha del sedimento obtenido por centrifugación a 4,000 RPM, previa dilución en agua destilada al 50 % del semen obtenido, esto tuvo por objeto hacer un chequeo del semen para rectificar la presencia o no de toxoplasmas en el sedimento, ya que estos sedimentan a la centrifugación en caso de que existan en el semen.

Tinción de Wright.

Se toma un portaobjetos, se coloca sobre éste una pequeña gota de eyaculado con una pipeta Pasteur, se hace el frotis, y se deja secar al aire, posteriormente se fija con alcohol metílico a 96° G.L. por 5 minutos, pasados los cinco minutos se decanta la laminilla y se agrega el colorante de Wright, 5 minutos después se agregan unas gotas de agua destilada, se esperan 2 ó 3 minutos y se lava con agua natural, se seca la laminilla al aire y finalmente se le agrega una gota de aceite de inmersión para tratar de localizar los toxoplasmas en caso de que existan.

RESULTADOS.

Los resultados correspondientes a la detección de Toxoplasma gondii, por previa inoculación en 10 bovinos machos en el Rancho Las Brisas Tcoloyucan, Estado de México, se expresan en el siguiente cuadro y gráfica.

El cuadro número 1 muestra los períodos entre la inoculación y la toma de muestras.

La gráfica número 1 muestra la distribución por edades del grupo de animales.

En el primer eyaculado se logró aislar el protozoario de dos toros con edades de 24 y 36 meses respectivamente.

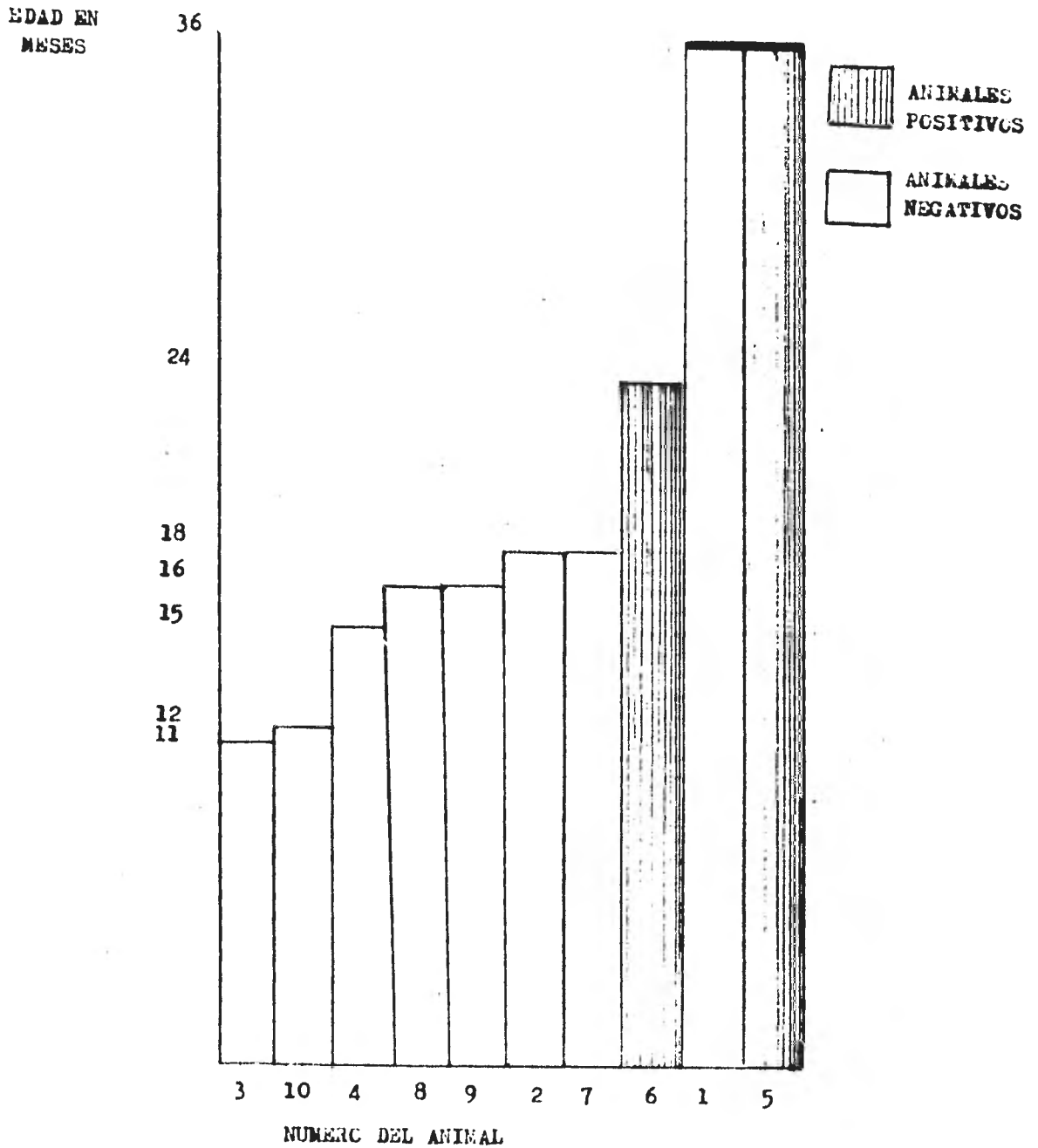
En el segundo eyaculado sólo fue posible aislarlo en un solo toro de 24 meses de edad, del cual ya se había aislado la primera vez.

CUADRO NUMERO 1

BOVINO NUMERO	EDAD MESES	INTERVALO EN DIAS ENTRE				RESULTADOS
		INOCULACION INTRAPERITONEAL E INTRAVENOSA	PRIMERA INOCULACION Y TOMA DE PRIMERA MUESTRA	PRIMERA INOCULACION Y TOMA DE SEGUNDA MUESTRA	2a. INOCULACION TOMA DE 2a. MUESTRA	
1	36	3	6	15	12	NEGATIVO
2	18	22	4	31	9	NEGATIVO
3	11	3	6	18	15	NEGATIVO
4	15	4	7	15	11	NEGATIVO
5	36	6	5	13	7	POSITIVO
6	24	13	17	25	12	POSITIVO
7	18	4	6	16	12	NEGATIVO
8	16	5	10	24	19	NEGATIVO
9	16	13	13	21	8	NEGATIVO
10	17	10	11	24	13	NEGATIVO

GRAFICA No. 1

DISTRIBUCION DE EDADES DEL GRUPO DE ANIMALES



DISCUSION.

De los 10 bovinos machos inoculados en el Rancho Las Brisas, Teoloyucan, Estado de México, se obtuvieron 2 eyaculaciones por animal en la forma ya descrita en procedimientos, que sumaron un total de 20 muestras, las cuales fueron minuciosamente observadas para detectar al Toxoplasma gondii, el cual era el objetivo del presente trabajo.

Se encontró que 2 de estos animales resultaron positivos a dicha prueba.

La detección del Toxoplasma gondii, fue por medio del método directo, usandose tinción de Wright, ya que este fue el objetivo fundamental al inicio del trabajo.

Se hicieron un total de 30 frotis por cada eyaculado, observandose el Toxoplasma gondii, en únicamente tres de ellos, una muestra correspondió a un animal y dos muestras a otro animal. Dos muestras positivas correspondieron a la primera eyaculación y la restante a una segunda eyaculación.

Se observó que los animales inoculados tuvieron una elevación de la temperatura corporal alrededor de 39.5 a 41.5 °C., esto sucedió alrededor de las 72 horas posinoculación, también se observó que estos animales presentaron erizamiento del pelo, en 2 de ellos se pudo observar una ligera diarrea sanguinolenta, hubo problemas neumónicos en dos machos, se notó cierta apatía a consumir alimento, con lo cual bajó el consumo del mismo, con la consiguiente pérdida de peso corporal, lo más sobresaliente de las observaciones, fue, que se obtuvieron dos eyaculados sanguinolentos y uno de éstos fue positivo a la prueba de identificación de Toxoplasma gondii, y además 2 de ellos murieron, est

quizá a complicaciones desencadenadas por las inoculaciones con cepas de Toxoplasma gondii.

A estos animales se les practicó la necropsia y se observó, edematización y congestión de ganglios mesentéricos, neumonía generalizada en ambos, exudado y hemorragia en tráquea, ascitis abundante en uno de ellos, alteraciones e inflamación peritoneal en el punto de inoculación.

Para la identificación y diagnóstico de Toxoplasma gondii se usó el método directo, para la detección debe hacerse un estudio comparativo de 100 diferentes elementos a encontrar en cada eyaculado, pues en este se observan en primer lugar, los espermatozoides, células de descomposición, y en ocasiones se pudo observar células sanguíneas (glóbulos rojos), esto quizá debido a lesiones del tipo infeccioso o bien causadas en forma traumática, que se provocan los mismos animales contra sus compañeros o contra cercas de alojamiento.

De los 10 bovinos machos trabajados se comprobó que 2 fueron positivos a la prueba de identificación directa de Toxoplasma gondii, con esto se confirma que este parásito se elimina por medio de semen, según trabajo realizado por Spence y Disko (7,8).

Se pudo observar que estos animales positivos fueron los de mayor edad, y la identificación del Toxoplasma gondii, se hizo del primer eyaculado en ambos casos, esto quizá a que todavía no desarrollaban una inmunidad consistente contra el parásito, y por consiguiente lo eliminaban más fácilmente, por lo que el Toxoplasma gondii, puede ser transmitido por medio del semen al momento de la monta, con esto se confirma lo publicado por Spence y Disko (7,8), ya que ellos aislaron a este parásito en semen de ovinos y humanos respectivamente.

La eliminación del Toxoplasma gondii, también pudo deberse a que el parásito se encontraba en forma septicémica en grandes cantidades y su eliminación en semen se facilitó por la gran irrigación sanguínea que tiene el aparato genital del macho.

El haber utilizado la vía intraperitoneal como primera infección, pudo haber influido en los resultados obtenidos, ya que la septicemia provocada fue menor que si se hubiera utilizado en primer término la vía intravenosa, pues el parásito al emplear la vía intraperitoneal entra más lentamente al torrente sanguíneo dando así oportunidad a que se desarrolle inmunidad en contra del parásito.

Tal vez si se hubiera utilizado la vía intravenosa en primer término hubiera dado un número mayor de animales positivos, ya que así se logra una parasitemia más rápida y por consiguiente aumenta la probabilidad de que el parásito sea eliminado en semen.

Los resultados del presente trabajo, fueron bastante satisfactorios, ya que se logró identificar al Toxoplasma gondii, en el semen y aunque estos toxoplasmas identificados fueron pocos se cumplió con el objetivo principal del presente trabajo, que era el de localizar toxoplasmas en semen de bovinos previamente inoculados, el no encontrar el parásito en semen de algunos animales no elimina el diagnóstico de la enfermedad y tampoco justifica la ausencia de toxoplasmosis en los bovinos trabajados.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

- 1.- Se comprobó la eliminación de Toxoplasma gondii, en semen de bovinos previamente inoculados con cepa viva.
- 2.- Se pudo observar que la identificación de Toxoplasma gondii, se logró en los bovinos con mayor edad.
- 3.- Parece no existir relación entre el período y la vía de inoculación y el aislamiento del parásito.
- 4.- Se pudo comprobar signos clínicos propios a toxoplasmosis.
- 5.- Se observó que los bovinos con menor edad no eliminaron el parásito, o al menos no se pudo observar, esto quizá debido a que poseían cierta inmunidad adquirida bajo forma natural.
- 6.- No se descarta la posibilidad de infecciones por contacto directo al momento de la monta, ya que según Oscar Cuevas lo pudo detectar en exudado vaginal previa inoculación, (reporte personal, tesis profesional 1981). Y Monroy 1976 pudo comprobar anticuerpos contra Toxoplasma gondii, en sueros sanguíneos de bovinos éstos en su mayoría tenían antecedentes de aborto y retenciones placentarias, en las explotaciones donde él llevó a cabo su trabajo usaban monta directa en la mayoría de los casos.
- 7.- Se observaron eyaculados sanguinolentos en dos animales, uno de estos resultó positivo.
- 8.- No se descarta la posibilidad que tiene Toxoplasma gondii, en producir aborto e infertilidad, y su diagnóstico diferencial debe hacerse notorio en contra de Tricomoniasis, Brucelosis, y Leptospirosis.
- 9.- También debe tomarse en cuenta los efectos que tiene Toxoplasma gondii, en salud pública, ya que la eliminación del parásito a través de la leche, la carne y los subproductos hace peligrosamente latente a este parásito, por lo cual deben ser procesados adecuadamente.

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

- 1.- Acosta E. y Finkelman J. Algunos conocimientos acerca de la toxoplasmosis. Salud Pública de México, Vol. XXVIII, número 2 pags. 403 a 407, año 1976.
- 2.- Beattie, C.C. Clinical Epidemiological of Toxoplasmosis Tras. Rey. Soc. Trop. Med. and Hys. 51:96-103, año 1957.
- 3.- Blood D.C. Henderson J.A.
Medicina Veterinaria
Interamericana 3ra. edición 1969
- 4.- Caballero Sevin A.
Malformaciones congénitas en Gallus-gallus, provocada por Toxoplasma gondii
Revista de investigación en Salud Pública
vol. 34 no. 1 y 2 1974.
- 5.- Catar G. Studies on toxoplasmosis as regard its natural focality slovakia. Folia Parasitologia 19 no. 3 1972
- 6.- Dubey and Sharma
Veterinary Research Laboratory
Department of Veterinary Science
Montana State, University, Boseman, Mt. 59717
Vol. 41 No. 5 1979.
- 7.- Dubey J.P. Mouse pathogenicity of Toxoplasma gondii insolated from a goat Amj Vet Res 41: 427-429, 1980
- 8.- Frenzel J.K. Toxoplasmosis: Parasite life cycle, pathology, and immunology, in Hammond DM, Long Pl (ed) The Coccidia. Balti more, University Park Press, 1973, pp 343-440.
- 9.- Kennedy C. Peter and Jubb F.
Pathology of domestic animals
N. Y. Academic Press 2da. edición 1970.

- 10.- Gresham G.A. and Jennings A.R. An introduction to comparative pathology, a consideration of some reactions of human and animal tissues to injurious agents.
London Academic Press. año 1962.
- 11.- Harrison T.R.
Medicina interna 3ra edición
Edit. prensa médica mexicana 1965
- 12.- Hartley J. and Jacobs Leon, Williams
Ovine toxoplasmosis: Studies on parasitemia, tissue infection, and congenital transmission in ewes infected by various routes
British Veterinary Journal vol. 20 (8) 1964.
- 13.- Hartley W.J. & G.G. Moyle (Depto. Vet. Med. Sidney Univ.
(amden, N.S.W. Aust.)
- 14.- Helman S. y Dasmera. Estudios sobre la incidencia de anticuerpos séricos para toxoplasmosis, en las poblaciones de Maracaibo y un pueblo rural del Estado de Zulia y comparación de tres métodos serológicos distintos. Vol. núm. 1 Universidad de Zulia, Maracaibo, Venezuela 1974
- 15.- Hutyra I. Marek, J. Menninger, R.
Patología y terapéutica especiales de los animales domésticos
Edit. Labor 3ra. edición 1973.
- 16.- Landaverde Olvera I.
Exploración por métodos biológicos y serológicos de Toxoplasmosis en Pica Gaudata. México 1968.
- 17.- Lapage Geoffrey
Parasitología VETERINARIA 2da. edición
Edit. Continental 1971.
- 18.- Levine I.D. y col.
A newly revised classification of the protozoa
Edited by the society of protozoologists
Journal Protozoology 27 (1) p 37-53 1980.

- 19.- Lucidi E. Serological Survey of Toxoplasmosis in cattle
in Parma province Italy Archivioly
Veterinario Italiano 27 1976
- 20.- Llegois F. Tratado de patologia médica de los animales domés
ticos. Argentina año 1967.
- 21.- Gardines Sevilla, D.F. Serological Survey of toxoplasmosis
in domestic animal in Spin
Spul. Cient. Cons. Gen. Col. Vet. Esp. No 187 1969.
- 22.- Maumenne A.E.M.D.
Toxoplasmosis with special reference in congenital toxoplasmosis
clinical experimental inmunologica 12 (3) 1972.
- 23.- Maronpot R.R. Botros, B. A.M. Toxoplasma serologic survey in
man and domestic animals in Egypt. Journal of the Egyptian
Public Association 47 No. 1 1972.
- 24.- Monroy Juárez J. Alfonso (Tesis)
Identificación de anticuerpos contra Toxoplasma gondii, en suero
sanguíneo de bovino, por prueba de inmunofluorescencia en la cuen
ca lechera de Cuautitlán, Estado de México.
Fac. de Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. 1976
- 25.- Munday B.L.
Bovine toxoplasmosis: Experimental infections
International Journal for Parasitology (1976) 8 (4)
- 26.- Nielsen S.W.
Toxoplasmosis
University of Connecticut 1968
- 27.- Reunión de investigadores de la OMS sobre Toxoplasmosis
Ginebra 1969 (memorias)
- 28.- Reyes Gonzalez M.A. Colmith R.S. y Dagan I.G.
Estudios seroepidemiológicos realizados en Oaxaca, México
Oficina Sanitaria Panamericana
Vol. LXIX, núm. 6., diciembre 1971.

- 29.- Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales
Vol. XXII México 1962
- 30.- Robbins
Patología estructural y funcional
Interamericana 2da. edición 1975.
- 31.- Roch Eustaquio
Compendio de Toxoplasmosis
Edit. Patria 1ra. edición 1971.
- 32.- Soulsby E.
Immunity to animal parasites
New Academic año 1972.
- 33.- Timofer, B.A. Golidova, G.A.
Experimental toxoplasmosis in cattle, Instituta
Veterinarnykh Preparatov, No. 20 1974.
- 34.- Universidad de Chile. Boletín chileno de parasitología
publicación trimestral de la unidad de microbiología.
Vol. XXV Casille 9, 183, núm. 1 y 2 enero, marzo, abril
junio año 1970.
- 35.- Varela G., Roch y Zavala V.
Estudios sobre toxoplasmosis en México. Revista Epoca VI
Vol. III núm. 3 mayo-junio page. 451-454 1962.
- 36.- Venegas Alfaro Gilberto (Tesis)
Contribución al estudio de Toxoplasma gondii, en exudados
vaginales de bovinos en el Estado de México.
Fac. de Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. 1976.
- 37.- Wiseman, R.A. Fleck J.C. & Woodruff, A.F.
Toxoplasma and toxocara infections; a clinical investigation
into their relationship. Br. Med. J. october 17 th 1970.