

99
24j



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores "Cuautitlán"

V N A M

DETERMINACION SEROLOGICA DE LOS NIVELES DE ANTICUERPOS
CONTRA Toxoplasma gondii, POR MEDIO DE LAS PRUEBAS DE
INMUNOFUORESCENCIA INDIRECTA Y SABIN-FELDMAN, EN BOVI-
NOS SACRIFICADOS EN EL RASTRO DE FERRERIA.

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el título de:
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

P r e s e n t a n :

Jorge Medina Pérez

Horacio Andrés Mosqueda Liceaga



Directores de Tesis: M.V.Z. Elena Ametller Raventos
M.V.Z. Carlos J. Jaramillo Arango
M.V.Z. Jorge López Pérez

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México., Noviembre de 1984



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

CONTENIDO

CAPITULO		PAGINA
I.	Resumen	1
II.	Introducción	2
	- Objetivos	3
III.	Generalidades	4
IV.	Material y Métodos	26
V.	Resultados	35
VI.	Discusión	40
VII.	Conclusiones	43
VIII.	Literatura Citada	45
	Distribución de Cuadros	
	1	37
	2	38
	3	38
	4	39
	5	39

I.- RESUMEN.

Se realizó un estudio serológico para la detección de niveles de anticuerpos contra Toxoplasma gondii, por medio de las pruebas de Inmunofluorescencia Indirecta a Toxoplasma (I.F.I.T.) y Sabin-Feldman (S.F.) en los sueros de 400 bovinos sacrificados en el Rastro de Ferrería en México, D.F.

La prevalencia de la muestra (identificando prevalencia como el total de casos nuevos o viejos positivos a I.F.I.T. presentes en el total de la población expuesta a riesgo) fue de 43.0% (172 animales positivos), mediante un análisis de Intervalo de confianza 95% se determinó que la prevalencia de anticuerpos contra Toxoplasma gondii en la población de la cual se obtuvo la muestra - se encuentra entre 38.14% y 47.85%.

El total de machos muestreados (228) presentaron una frecuencia de positividad a I.F.I.T. de 40.35% (92 animales positivos) y las hembras muestreadas (172) de 46.51% (80 animales positivos).

Las diluciones empleadas en I.F.I.T. fueron 1:16, 1:32, 1:64 y 1:128, observándose una predominancia en los valores obtenidos a las diluciones 1:16 y 1:32 para ambos sexos, en machos la frecuencia fue de 65.22% (60 animales) y 26.09% (24 animales), y en hembras 70.0% (56 animales) y 21.25% (17 animales) respectivamente.

Finalmente se compararon los resultados de las diluciones obtenidas por I.F.I.T. y las obtenidas por S.F. únicamente para - aumentar la confiabilidad de los mismos.

Para la evaluación de los resultados se llevaron a cabo pruebas de Hipótesis con un nivel de significancia $\alpha = 5\%$ mediante Z calculada, gracias a lo cual se concluye que estadísticamente no hay diferencias significativas en la presentación de positividad de anticuerpos contra Toxoplasma gondii entre machos y hembras; entre las diluciones empleadas para machos y hembras así - como tampoco entre los resultados de I.F.I.T. y S.F. en las diluciones 1:16, 1:32 y 1:128, en la dilución 1:64 se detectó una ligera diferencia significativa.

II.- INTRODUCCION.

La toxoplasmosis es una zoonosis endémica mundial cuyo agente etiológico es el protozoario Toxoplasma gondii y que afecta a la mayor parte de los mamíferos y las aves.

Dada la poca importancia que hasta la fecha se le ha dado a esta enfermedad en la población humana, reflejándose en la no existencia de estadísticas por parte de las diferentes instituciones encargadas de la Salud Pública en México, además de las pocas investigaciones realizadas en nuestro país sobre el problema que representa la carne bovina como fuente de infección, tanto para los trabajadores del rastro, personal veterinario, como para consumidores en general, esta investigación trata de evidenciar y destacar por medio de la determinación de niveles de anticuerpos contra Toxoplasma gondii en el suero sanguíneo de la especie anteriormente referida, la importancia que representa en la salud pública.

El estudio que se realizó se apoyó en las pruebas de diagnóstico serológico de Inmunofluorescencia Indirecta y Sabin-Feldman, ya que actualmente se ha demostrado que son las de mayor confiabilidad dada su especificidad y sensibilidad.(10,12,13,30,34,38).

Con base a los resultados obtenidos se determinó la prevalencia de anticuerpos contra Toxoplasma gondii en una muestra de bovinos sacrificados en el rastro de Ferrería, aportando con esto, datos que podrán evidenciar la magnitud del problema, ya que tanto en animales como en el hombre produce infertilidad, abortos, malformaciones fetales y aún la muerte. Para contribuir a determinar factores que pudieran afectar a nuestra ganadería y para estimular investigaciones posteriores enfocadas a la búsqueda de la -

prevención y minimización del riesgo de transmisión de la enfermedad al hombre con base en un mejor control sanitario de los animales y sus productos con destino al consumo humano y animal. (9.27, 30, 31, 33, 36, 37).

OBJETIVOS.

- Establecer la prevalencia de Toxoplasma gondii en una muestra de bovinos sacrificados en el rastro de Ferrería mediante la determinación serológica de los niveles de anticuerpos por medio de las pruebas de Inmunofluorescencia Indirecta a Toxoplasma. (I. F.I.T.) y Sabin-Feldman (S.F.).

- Comparar los resultados de ambas pruebas para aumentar la confiabilidad de los mismos.

- Evidenciar el peligro que implica la carne bovina como posible factor de riesgo de la toxoplasmosis humana.

III.- GENERALIDADES.

Definición de la Enfermedad. La Toxoplasmosis es una zoonosis universal producida por un protozooario intracelular obligado del grupo de los coccidios, semejante al género Isospora llamado Toxoplasma gondii. Afecta a diferentes especies animales entre las que podemos encontrar desde helmintos pasando por todas las ramas zoológicas hasta llegar al hombre. Su hospedero definitivo es el gato, en el cual se desarrolla un ciclo entero-epitelial el que concluye en la formación del ooquiste que es la forma que dará origen al esporoquiste en el exterior del tracto digestivo del hospedero.

Las fuentes de infección pueden ser las siguientes: alimentos contaminados con saliva, secreciones nasales, orina, heces, exudados vaginales y leche procedente de animales infectados. Los principales mecanismos de transmisión considerados son: las vías aérea, digestiva y genital así como el contacto directo en mucosas y piel con solución de continuidad.

La naturaleza de la enfermedad puede ser adquirida o congénita y presentar un curso agudo, subagudo o crónico.(3,7,9,10,13, - 24,30,31).

Antecedentes Históricos.

La observación de Toxoplasma gondii fue hecha por primera vez en el año 1900 por Laverán en gorriones de Java.(30)

Aunque de forma clara y real se tiene la referencia de Nicolle y Mancaux en 1908, en donde reportan el hallazgo de un parásito nuevo observado en frotis de sangre de bazo e hígado en ejemplares de un roedor de Túnez llamado "gondi" o "gundi".

El parásito fue considerado como un protozoario y por su semejanza con el género Leishmania, fue denominado Leishmania gondi, posteriormente por su forma de arco, por hallarlo en el Gondi y ya que su morfología y biología eran diferentes a Leishmania y Piroplasma fue denominado como Toxoplasma gondii en 1909.

Después se aislaron y reportaron organismos de este género en diversos animales incluyendo al hombre, creando una confusión taxonómica. Sin embargo un grupo de investigadores después de una serie de experimentos basados en inoculaciones, infecciones y pruebas de inmunidad cruzada, receptividad y aislamientos en diferentes animales llegaron a la conclusión de que no hay más que una sola especie y que es la especie T. gondii.(13,30)

Los primeros reportes de toxoplasmosis en humanos, datan de 1913 descritos por Castellani, quien observó el parásito en las vísceras de un niño de Ceilán.(9,30)

Hacia el año 1923, Jankú, en Checoslovaquia observó parasitosis con lesiones oculares, originando la toxoplasmosis ocular en niños.(13,27,30)

Posteriormente Wolf, Cowen y Page en Nueva York en el año 1937 identificaron el Toxoplasma gondii en un niño de 31 días de nacido con encefalitis y coriorretinitis.(30)

En el año 1939 los mismos autores observaron y aislaron el parásito en un recién nacido y desde esa fecha quedó demostrada la facilidad que tiene el parásito de atravesar la barrera placentaria e infectar al producto, originando la toxoplasmosis congénita.(27, 30, 33)

En México los primeros reportes sobre observaciones del Toxoplasma gondii fueron hechos por Moser en 1923 y 1929.

Palomina Dena y col., observaron el primer caso presentado con diagnóstico de toxoplasmosis en un niño de 11 meses de edad en el Hospital Infantil de México, en el año 1950.

Biagi en 1951, fue el primero en realizar exploraciones epidemiológicas, mediante la prueba de Intradermorreacción.(30)

Varela, Aluja y col., en el año 1972 reportan 35.1% de positividad en 4254 exámenes realizados por el Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales mediante las pruebas de Inmunofluorescencia y Sabin-Feldman.(41)

En el mismo trabajo dieron 40% positivos en promedio, de 395 casos estudiados de aborto habitual, proporcionando además datos sobre como aumentan las relaciones positivas con la edad, siendo más frecuente encontrarlas entre los 25-45 años.(30,41)

Salazar, el mismo año notifica un 30.6% de casos positivos a la reacción de Sabin-Feldman.(31)

Uilho y col., en 1978, notifican que un 45% de las mujeres embarazadas de un total de 345, fueron positivas a toxoplasmosis y un 14.5% terminaron en pérdidas fetales.(37)

En México, el Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales da como promedio, en comunidades pequeñas, entre un 30-60% de positividad a toxoplasmosis, dependiendo de localización geográfica y medio ambiente.(#)

Como fuente más reciente (1978) sobre morbilidad y mortalidad, se encuentran los datos del Compendio de Estadísticas Vitales de México elaborado por la Escuela de Salud Pública de México en donde reportan como único dato el comprendido en el renglón de otras enfermedades parasitarias con una tasa de 1.62% de defunciones.

(6)

(#).- Comunicación directa. Q.F.B. Isabel Moreno C.
Dpto. de Parasitología.

El Instituto Mexicano del Seguro Social no reporta casos notificados de toxoplasmosis en los años 1972-1981.(32)

Pocaccia y col., en 1982 estudian la incidencia de la infección de toxoplasmosis en 109 individuos que habitan comunidades rurales en el Sureste de la Costa del Estado de Sao Paulo en Brasil. Fueron encontrados 34 sueros equivalentes al 31.2% con titulación igual o superior a 1:16 usando la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta, el 11.7% de los sueros examinados presentaron títulos iguales o superiores a 1:1024, considerándose positivos aquellos sueros con titulación igual o superior a 1:16.(8)

Matos y col., en 1982 reportan la prevalencia de toxoplasmosis en 241 mujeres embarazadas y sus productos, tomando muestras de sangre del cordón umbilical al nacer y después a los 6 y 9 meses de edad; mediante la presencia de niveles de anticuerpos para Toxoplasma gondii (Ig G) por la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta. El 47.4% de las madres y el 40.7% de los recién nacidos mostraron títulos de anticuerpos iguales o superiores a 1:256 (el criterio de positividad es igual al mencionado anteriormente). En 2 de los niños se encontró una tendencia a elevarse el título de anticuerpos y por lo tanto se consideran infectados aunque sin evidencia de enfermedad, señalando una prevalencia de la infección toxoplásmica congénita de 0.83%, lo cual indica la alta incidencia de la infección toxoplásmica en la mujer embarazada.(20)

Las últimas investigaciones sobre toxoplasmosis en animales enfocadas primordialmente a carne destinada al consumo humano, son las siguientes:

Granados en 1975 (11), examinó 185 sueros de cerdos obtenidos

en diferentes lugares del área metropolitana, sin considerar tipo de explotación, edad, sexo, raza, empleando la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta. Las diluciones empleadas en los sueros - fueron de 1:4 a 1:64 obteniendo los siguientes resultados: la dilución 1:4 obtuvo 100% de positivos, la dilución 1:8 obtuvo 92.9% de positivos, la dilución 1:16 obtuvo 33.5% de positivos, la dilución 1:32 obtuvo 30.8% de positivos y la dilución 1:64 obtuvo - 27.5% de positivos.

Monroy en 1980 (22), determina la presencia de anticuerpos - contra Toxoplasma gondii en suero sanguíneo de 1237 bovinos productores de leche, mediante la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta, en la cuenca lechera de Cuautitlán, Estado de México, utilizando las diluciones 1:8 y 1:16, reportando los siguientes resultados: la dilución 1:8 obtuvo 18.1% de positivos y la dilución 1:16 obtuvo 4.9% de positivos.

Montoya en 1981 (23), realiza un estudio sobre la prevalencia de anticuerpos contra Toxoplasma gondii en bovinos y porcinos en Medellín, Colombia por medio de la prueba serológica de Hemoaglutinación Indirecta dando los siguientes resultados:

<u>sueros muestreados</u>	<u>No. de animales positivos</u>	<u>% tasa</u>
371 bovinos	90	24
368 porcinos	111	30

Características biológicas y morfológicas.

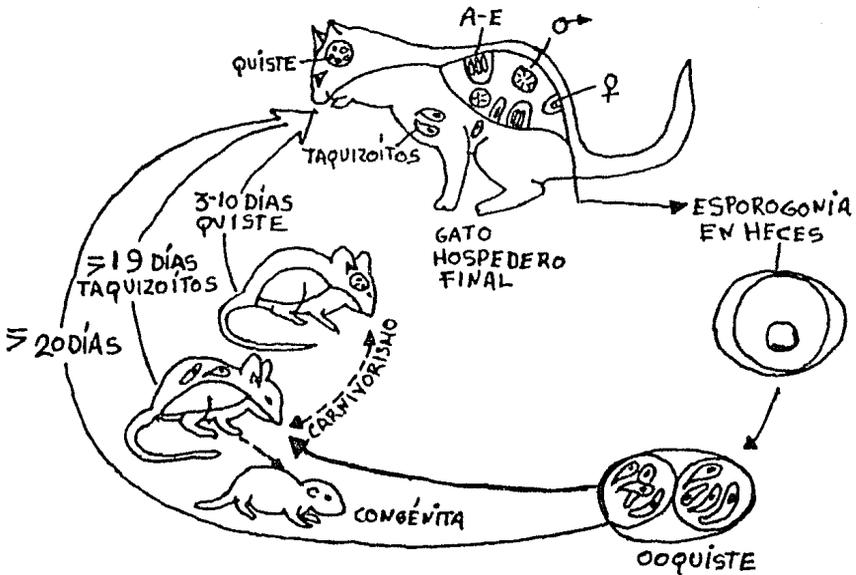


Fig. No. 1.- Ciclo de vida de Toxoplasma gondii. El hospedero definitivo es el gato. Siguiendo un desarrollo enteropitelial en el intestino (involucrando multiplicación asexual y -sexual) los ooquistes son depositados en las heces, después -de la esporulación en el medio ambiente encontramos la fase -infectante, pudiendo interactuar una gran variedad de hospede -ros intermedarios en los cuales se desarrolla un ciclo extra intestinal con la producción de taquizoitos o bradizoitos. La interacción del gato puede suceder por la ingestión de ooquistes esporulados, taquizoitos o bradizoitos. La transmisión -transplacentaria es importante en ovejas y en el hombre.(34)

Etapas de desarrollo del Toxoplasma. (34)

Se reconocen el desarrollo de 2 tipos de ciclos evolutivos; - uno el entero-epitelial que se lleva a cabo en el gato y otros félidos y que involucra 5 fases morfológicas; y otro, el extra-intestinal que se lleva a cabo en gatos, mamíferos y aves, en las que se desarrollan 2 fases morfológicas. (Fig. 1)

1.- Ciclo entero-epitelial.- Frenkel (1973) ha identificado a las 5 fases evolutivas como sigue: tipos A,B,C,D y E.

Tipo A.- Aparece de 12-18 horas después de la infección, este es el más pequeño de los tipos de multiplicación, se encuentra en el yeyuno formando pequeñas colonias de 2 a 3 organismos. Se divide por endodiogonia que es la formación de 2 células hijas a partir de un botón terminal interno.

Tipo B.- Ocurre de 12-52 horas después de la infección, presenta un núcleo central y un nucleolo prominente. Se divide por endodiogonia y endopoligonia (es la formación de muchas células hijas a partir de un botón terminal interno).

Tipo C.- Ocurre de 24-54 horas después de la infección y se divide por esquizogonia (merogonia). Son de forma alargada y el núcleo es subterminal.

Tipo D.- Ocurre de 32 horas a 15 días después de la infección según Frenkel (1973) de todos los toxoplasmas encontrados en el intestino delgado durante este periodo de tiempo, más del 90% son de este tipo. Las formas de tipo D son más pequeñas que las de tipo C, se dividen por endodiogonia, esquizogonia y por separación de merozoitos sencillos a partir de la masa nuclear. Aunque no es ta muy claro si las divisiones de esta etapa son secuenciales u ocurren simultáneamente.

Tipo E.- Se divide por esquizogonia y ocurre de 3-15 días después de la infección y se asemeja al tipo D.

Gametos.- Se encuentran a través del intestino delgado y se localizan comunmente en el íleon de 5-15 días después de la infección.

Ooquistes.- La formación de ooquistes se lleva a cabo en las células epiteliales del intestino delgado. Inicialmente su desarrollo es identificado por la aparición de gránulos plásticos en el citoplasma de los macrogametos, más tarde por la formación de membranas argirofílicas alrededor de la superficie. Los ooquistes son liberados de las células epiteliales y se depositan en las heces. El desarrollo del ciclo en el intestino del gato depende de si la infección es inducida por la ingestión de quistes que contienen bradizoítos. En este caso el periodo pre-patente es de 3-5 días y la producción máxima de ooquistes ocurre entre los 5-8 días con un periodo patente de 7-20 días. Después de la ingestión de los ooquistes esporulados, el periodo pre-patente en gatos es de 21-24 días, y después de la ingestión de tejidos que contienen taquizoítos es de 9-11 días.

2.- Ciclo extra-intestinal.- Las formas morfológicas de este ciclo son las únicas que pueden ocurrir fuera del gato, aunque pueden llevarse a cabo en el gato en forma simultánea tanto del ciclo extra-intestinal como del entero-epitelial.

La denominación actual para las fases morfológicas evolutivas del toxoplasma en el ciclo extra-intestinal son: taquizoítos que son el resultado de la multiplicación rápida de los trofozoítos en la infección aguda, y bradizoítos que son el resultado de la multiplicación lenta de las formas enquistadas que se observan en la infección crónica.

Formación de taquizoítos.- El desarrollo de los taquizoítos - se observa especialmente en la infección visceral aguda. En el ga to el desarrollo de los taquizoítos sucede en la lamina propia, - ganglios linfáticos mesentéricos y otros órganos. En otros anima les los taquizoítos son las primeras formas evolutivas encontra das después de la ingestión de ooquistes esporulados. El desarro llo del taquizoíto se lleva a cabo dentro de una vacuola en dife rentes tipos celulares entre los que podemos encontrar fibroblas tos, hepatocitos, células reticulares y células del miocardio.

El taquizoíto se multiplica por endodiogenia, cuando encontra mos de 8 a 16 o más taquizoítos en una célula del hospedero cau san la ruptura de la célula para después infectar nuevas células.

Se han empleado términos como "pseudoquiste", "colonias termi nales", "aglomeraciones" para definir la acumulación de taquizoítos en una célula del hospedere.

Formación de bradizoítos.- Los bradizoítos contenidos en las quistes son característicos de la infección crónica, los encontra mos principalmente en el cerebro, corazón y músculo esquelético.

La multiplicación de los bradizoítos es lenta caracterizada - por una endodiogénesis intracelular. Los quistes conteniendo miles de estas formas pueden persistir por meses o años después de la - infección, teniendo un diámetro aproximado de 100 micras.

Los bradizoítos en el quiste están aislados del organismo del hospedero y agrupados en forma de paquetes, presenta una forma de lanza y poseen un núcleo terminal. La formación de quistes esta - asociada con el desarrollo de la insunidad, cuando la inmunidad - baja este fenómeno es captado por los bradizoítos y se inicia la proliferación de taquizoítos; si aumenta nuevamente la inmunidad se vuelve a enquistar. (34)

Epidemiología.

Las características más importantes del Toxoplasma gondii son su distribución geográfica mundial, su capacidad para infectar - animales de diferente clase zoológica o su no-especificidad y su capacidad para parasitar prácticamente todos los tejidos animales, el parásito no modifica su biología ni altera sus propiedades biogénicas al paso por estos, ni aún por su localización y desarrollo en diferentes tejidos de un mismo ser, además de que en su desarrollo el Toxoplasma gondii es intracelular obligado y uno de - los protozoarios más pequeños. (3,7,10,13,26,28,31, 34,39)

En el humano no respeta sexo, edad o raza y se observa desde el seno materno (toxoplasmosis congénita) hasta edades muy avanzadas. Si bien es cierta la observación de que la prevalencia de la infección aumenta con la edad, pudiendo decirse que en los grupos de mayor edad la gran mayoría de la población alberga al parásito, por lo que se sabe, se puede presumir que un individuo que se infecta permanece infectado por largo tiempo, tal vez por toda la - vida.

Una vez identificado el gato doméstico y otros felinos como - hospederos definitivos del parásito, se sabe que juegan un papel - primordial en la distribución del mismo al medio externo.

La transmisión de la toxoplasmosis se puede dar de diferentes formas: de animal a animal, de animal a hombre, de hombre a hombre considerándose aquí la forma congénita y la forma adquirida y, de hombre a animal.

Las fuentes de infección son: carne contaminada con saliva de animales infectados, secreciones nasales, heces, exudado vaginal, verduras y hortalizas contaminadas con orina y saliva de animales infectados. Los toxoplasmas contenidos en la carne de cerdo mantenida a una temperatura de 4-6^oC conservan su poder infectante durante 24 días.

Las vías de entrada del parásito son: digestiva, que es la más frecuente, respiratoria, nasal, ocular, conjuntival, hemática, - traumatismos de piel, mucosa vaginal, etc.

Los mecanismos conocidos hasta el momento, mediante los cuales el hombre se infecta son los siguientes:

1.- Por ingestión de ooquistes que se encuentran diseminados - en los sitios donde los gatos defecan, por ejemplo en los jardines y patios de las casas o por ingestión o contaminación a partir de hospedadores de transporte. (cucarachas, moscas, mosquitos, etc.)

2.- Por ingestión de quistes contenidos en carnes que se comen crudas o mal cocidas de animales infectados, sobre todo de carnero, cerdo y bovino, esta última sobre todo en hamburguesas y cortes ame ricanos, así como otros alimentos vegetales.

3.- Por manipulación de la carne precedente de animales infectados a través de probables soluciones de continuidad en personas que realizan dicha tarea, además de malos hábitos de higiene.

4.- A través de la placenta, especialmente cuando la mujer sufre de infección activa, en cuyo caso la probabilidad de que el - toxoplasma pase al feto es muy alta. Se ha demostrado la transmisión a través del cordón umbilical, a partir de focos placentarios y al paso por el canal obstétrico.

Los mecanismos de penetración del parásito a la célula del hos pederio se han establecido como:

- a) secreción y actividad enzimática
- b) penetración activa
- c) fagocitosis

En el primer caso se han detectado ciertas sustancias producidas por el parásito (hialuronidasa) que altera la consistencia

de la membrana celular principalmente del sistema retículo endotelial; la segunda forma se ha descrito en aquellas que se presenta por movimientos de torsión de todo el cuerpo del parásito adquiriendo una forma de tirabuzón con lo que favorece la penetración a la célula; el último mecanismo de penetración el cual se inicia por un acercamiento de la célula al parásito en forma inespecífica con el fin de neutralizarlo, esto se ve favorecido por la actividad de la célula que forma parte del sistema fagocítico histiocitario para iniciar la fagocitosis, este mecanismo involucra inicialmente la emisión de pseudópodos hasta que el parásito queda totalmente rodeado e incluido en una vacuola parasitófaga. El toxoplasma posee la característica de sobrevivir dentro del macrófago, además de que tiene la habilidad de inducir la fagocitosis en células no fagocitarias ordinariamente. (26, 34)

También es importante considerar y conocer la patogenia de la toxoplasmosis dentro del desarrollo de la epidemiología por abarcar aspectos relevantes en la presentación de la enfermedad.

a) curso agudo.- Durante la fase aguda de la infección por Toxoplasma gondii los trofozoítos han sido demostrados en prácticamente todos los tejidos del cuerpo. En el hombre y en los animales superiores, el toxoplasma se localiza dentro de células trofoblásticas del útero, en el cristalino y órganos como cerebro, ganglios linfáticos, músculo esquelético, corazón, pulmón, hígado y bazo.

Se le puede encontrar por algún tiempo extracelularmente en forma de trofozoíto en líquidos orgánicos normales como: líquido cefalorraquídeo, humor acuoso, humor vítreo, leche, lágrimas, líquido ganglionar, líquido placentario, orina, semen y heces.

Toxoplasmosis bovina.

Los reportes concernientes a toxoplasmosis en bovinos son escasos. Las formas graves se observan con más frecuencia en los becerros y en las vacas después del parto.(4,5,17,34)

Es primordialmente una enfermedad de los neonatos, pero puede ocurrir ocasionalmente en los adultos. Los principales trastornos son: un curso agudo con fiebre, disnea, signos nerviosos que incluyen ataxia e hiperexcitabilidad en etapas tempranas y letargias en las tardías, expulsión del feto muerto o de becerros débiles que mueren poco después del nacimiento. Los becerros afectados congénitamente muestran fiebre, disnea, tos, estornudos, secreción nasal, contracciones clónicas, rechinar de dientes, y temblor de cabeza y cuello, la muerte ocurre después de un curso de 2-6 días.(4,5,17,34)

Al realizar la necropsia de los animales se encuentra: depósitos de fibrina en cavidad peritoneal, agrandamiento de ganglios linfáticos subaxilar y bronquial, hemorragia en traquea y neumonía con consolidación y el toxoplasma se puede encontrar en cerebro, pulmón y ganglios linfáticos. En las etapas tempranas las lesiones consisten en daño en la pared celular produciendo engrosamiento endotelial, edema perivascular y proliferación de las células de la adventicia, el proceso se propaga a los tejidos nerviosos adyacentes produciendo focos de necrosis, que contienen numerosos organismos de toxoplasma.(34)

Toxoplasmosis humana.

La toxoplasmosis humana permaneció ignorada por la ciencia médica durante muchos años, actualmente se encuentran infinidad de investigaciones en todas las ramas zoológicas incluyendo al hombre. Estas investigaciones se han intensificado al encontrar con más frecuencia al parásito y sus manifestaciones clínicas en el hombre.

Las investigaciones realizadas en todas las ramas médicas, coinciden en que no hay una sintomatología específica para la toxoplasmosis, debido al carácter de invasión y localización sistémica del parásito, además de su biología especial que le permite establecer una simbiosis hospedero-parásito y vivir en forma quística o asintomática, teniendo además la capacidad, en un momento determinado, de aumentar su virulencia y desencadenar en el hospedero un proceso patológico, a veces tan grave que puede producir la muerte.

Se conocen 2 formas clínicas de toxoplasmosis humana:

- 1) Forma congénita - a) Variedad materno infantil (peri-natal)
b) Variedad infantil temprana
c) Variedad infantil tardía
- 2) Forma adquirida. (3,7,9,10, 30)

1) Forma congénita.- La toxoplasmosis congénita a menudo produce muerte intrauterina ya que los toxoplasmas invaden al organismo y estos tienen predilección por determinadas regiones de algunos órganos, localizándose en las membranas donde existe el intercambio de oxígeno tisular, por ejemplo, en la placenta (en cotiledones de la parte arterial del árbol materno, ocasionando infarto y aborto); en el ojo (entre coroides y retina ocasionando coriorretinitis); en los pulmones (en los alveolos, produciendo neumonitis) y en otros órganos.(3,9,13, 30)

En la variedad materno infantil (peri-natal) se produce:

- aborto; que puede producirse en madres aparentemente sanas o con aborto habitual en el primer o tercer mes de embarazo.
- implantación incorrecta de placenta que se observa en el primer trimestre y se acompaña de hemorragias.
- mortinatos, frecuentes en el primer trimestre de embarazo.
- malformaciones congénitas, producto vivo con malformaciones a veces tan severas que la muerte se presenta en los primeros días o meses.

En la variedad infantil temprana, cuando la muerte no ocurre en el seno materno, el recién nacido puede presentar: hidrocefalia, macro-microcefalia y anencefalia, ictericia, hepatoesplenomegalia, lesiones cerebrales que producen daños irreversibles fundamentalmente expresado como retraso mental, cardiopatías, microftalmia, coriorretinitis que puede producir ceguera, etc.(3,7,10,-13,27,28,30,31,33,37)

En la variedad infantil tardía, el niño al nacer está aparentemente sano o normal, pero en los primeros meses o años, en la juventud o en el estado adulto con serología positiva puede presentar:

- coriorretinitis, uveítis, cataratas.(3,9,14,21,27,28)
- encefalitis, miocardiopatías.(3,10,13,30,31,37)
- adenopatías.
- fiebre
- trastornos nerviosos de la conducta, psicomotores, malformaciones de origen genético tales como labio leporino, paladar hendido, espina bífida y luxación de cadera.

2) Forma adquirida. La infección adquirida puede manifestarse en 3 formas:

a) Ganglionar; parece ser la más frecuente de la toxoplasmosis adquirida, esta forma se caracteriza por un síndrome ganglionar con fiebre de 39-40°C, astenia, irritabilidad, fatiga, se acompaña de cefalea intensa, dolores retro-oculares, sudores, dolores musculares, artralgias de las pequeñas articulaciones de los pies y de las manos, trastornos del aparato respiratorio como tos seca, dolor de la región precordial, dolores de costado, opresión; o con trastornos del aparato digestivo como vómitos, diarrea sanguinolenta, cólicos, etc.(7,9,30,31,42)

b) Diseminada o miliar, con encefalitis, coriorretinitis, hepatitis, neumonitis y pericarditis.(10,13,30)

c) Con localización en : ojos, con coriorretinitis, uveítis, cataratas, iridociclitis, neuritis óptica, retinoceroiditis; en encéfalo, se presenta repentinamente con fiebre elevada, cefalea, vómitos, trastornos psíquicos, motores y sensitivos, puede presentar signos meningoencefalíticos; es poco frecuente y es como consecuencia de una inoculación masiva y generalizada; en pulmón comienza en forma súbita, con escalofríos intensos, fiebre de 39-40°C, cefalea intensa, mialgias, dolores retro-oculares y anorexia, tos ligera muy frecuente, dolor en la región precordial que aumenta al toser y se presenta neumonía intersticial con edema y congestión pulmonar; y en miocardio se presenta dolor precordial, taquicardia, palpitación, disnea, angustia, cianosis e hipertensión.

Diagnóstico.

Para el diagnóstico de la toxoplasmosis se encuentran 2 métodos que son:

1) Método directo, que se puede dividir en:

a) Observación del toxoplasma en sus fases de trofozoíto y quística, por medio del microscopio ordinario, de fase y electrónico, contenidos en muestras de líquidos orgánicos normales como: líquido cefalorraquídeo, humor acuoso, lágrimas, saliva, leche, orina, heces, etc., en productos patológicos como exudado conjuntival, amigdalino, bronquial, peritoneal, pleural, vaginal, etc.

b) Estudios de improntas, de biopsias y cortes histológicos de lesiones papulosas de piel, de ganglios o de órganos obtenidos por intervenciones quirúrgicas o postmortem como ojo, cerebro, músculo, médula ósea, placenta, útero, corazón, etc., examinados por microscopio ordinario, de fluorescencia o contraste de fases.

c) Aislamiento del parásito por inoculación de los animales de laboratorio como ratón, cobayo, conejo, hamster, etc., usando diversas vías de inoculación como intradérmica, intracerebral, intraperitoneal, nasal, subcutánea e intravenosa.

2) Método indirecto, consiste en demostrar la existencia de anticuerpos específicos, contenidos en suero sanguíneo, líquido cefalorraquídeo, humor acuoso y piel. Para este estudio se encuentran las siguientes técnicas:

a) Reacción Neutralizante (RN)

b) Pruebas alérgicas o Intradermorreacción a toxoplasmina

c) Fijación de Complemento (RCF)

d) Reacción de Sabin-Feldman o Reacción del colorante o Modificación citoplásmica "Dye Test" (RSF)

e) Reacción de aglutinación con partículas inertes sensibilizadas (RAG)

- f) Reacción de Hemoaglutinación (RHA)
- g) Prueba de Lebistes reticulatus (Guppy) (RLR)
- h) Reacción de Inmunofluorescencia (RIF)
- i) Prueba de Inmunolectroforesis
- j) Prueba Ensayo de Absorción Inmune con una Enzima Unida a ELISA. (2, 3, 7, 10, 12, 14, 24, 30, 34)

Prueba de Sabin-Feldman.

Esta es una prueba específica y sensitiva, es básicamente una prueba de neutralización mediante una modificación de la fijación del complemento, empleando la vía alterna por medio de la preperidina contenida en el factor accesorio. Se basa en el principio de que los anticuerpos del suero problema son capaces de evitar que el toxoplasma vivo se colorea con azul de metileno.

- A.- Suero problema con anticuerpos + antígeno vivo + factor accesorio + azul de metileno= trofozoíto sin teñir (reacción positiva).
- B.- Suero problema sin anticuerpos + antígeno vivo + factor accesorio + azul de metileno= trofozoíto teñido (reacción negativa). (15, 30, 34)

Prueba de Inmunofluorescencia Indirecta.

La prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes permite identificar y medir los anticuerpos en el suero, o los antígenos en los tejidos o los cultivos de células. Cuando se busca un anticuerpo, el antígeno se utiliza bajo la forma de un frotis, un corte o un cultivo de células. El antígeno se incuba en presencia de un suero que pueda contener anticuerpos contra dicho antígeno, se elimina el exceso de suero por medio de un lavado, dejando los anticuerpos unidos con el antígeno. Es posible observar estos anticuerpos fijados incubando el frotis con un suero antiglobulina

marcado con Isotiocianato de Fluoresceína. Posteriormente se quita el exceso de antiglobulina por lavado, y se examina el frotis, si se presenta fluorescencia esto indica que había anticuerpos en el suero problema. Su cantidad se establece por estudio de diluciones crecientes de suero frente a un preparado antigénico específico.

Diagnóstico diferencial.

Por las características biológicas, epidemiológicas, clínicas, etc., se debe de hacer un diagnóstico diferencial para no cometer errores. Se encuentran 2 formas de diagnóstico diferencial que son:

a) Morfológica.- Ya que existen un grupo de organismos muy semejantes al Toxoplasma gondii, tanto en su forma de trofozoito como de quiste, que afectan tanto a los animales como al hombre.

Se debe de hacer el diagnóstico diferencial morfológico en el hombre con: Leishmania, Trypanosoma, Sarcocystis, Plasmodium, Criptococcus, Histoplasma, y en animales con: Coccidia, Sarcocystis, Leishmania, Fibrocistis y Encephalitozoon.

b) Clínico.- En cuanto al diagnóstico diferencial clínico se deben considerar las siguientes enfermedades: encefalitis viral, rubeola, inclusión cytomegálica, listeriosis, enfermedad de Hodgkin, leptospirosis, brucelosis, mononucleosis infecciosa, linfogranuloma y tuberculosis.

Las más importantes en cuanto al diagnóstico diferencial clínico son rubeola e inclusión cytomegálica ya que pueden localizarse en útero, atravesar la barrera placentaria y originar embriopatías.

Tratamiento.

Hasta la fecha no se conoce una droga o método terapéutico específico que actúe eficazmente como antiparasitario en todas las fases evolutivas del toxoplasma. Sin embargo las sulfonamidas absorbentes (sulfadiazina), pirimetamina, espiramicina y el trimetoprim-sulfametoxazol han demostrado ser los mejores medicamentos en la toxoplasmosis.

Estos medicamentos destruyen los toxoplasmas libres, pero no los que se encuentran en pseudoquistes; excepto la pirimetamina que tiene acción sobre las formas extracelulares y parece que además actúa sobre los pseudoquistes. En algunas ocasiones el tratamiento debe prolongarse por más de 6 meses para evitar la diseminación de los parásitos en tanto aparecen fenómenos de inmunidad que controlan la infección posteriormente. Para evitar fenómenos de intolerancia y mantener la acción quimioterápica en forma prolongada es preferible administrar los medicamentos en forma alterna.

Prevención y Control.

Conocido el hecho de que el gato doméstico elimina con sus heces enormes cantidades de formas de resistencia (ooquistes) de Toxoplasma gondii (10), se deduce la importancia que tiene la tierra contaminada con tales formas en la diseminación de la infección; especialmente las tierras alrededor o cercanas a las viviendas. Las mujeres embarazadas o antes del embarazo deben evitar el contacto con sitios como patios, jardines, terracerías, etc., ya que estos sitios son fuentes potenciales de la infección.

Aquellas personas que adquieran un gato como mascota y que va a vivir exclusivamente dentro de la casa, deben alimentarlo únicamente con comida cocinada, especialmente la carne o usar alimento

enlatado o alimento concentrado seco. Debe evitarse que defeque - en el piso y enseñarlo a defecar en un recipiente apropiado, éste debe vaciarse todos los días en el inodoro, antes de que los - ocoquistes esporulen y se vuelvan infecciosos.

El manejo y la ingestión de carne o vísceras crudas o mal cocidas conlleva un cierto riesgo de infección, cocinar la carne a una temperatura no menor de 70°C previene este riesgo de infección de toxoplasmosis. Una mujer embarazada debe evitar el contacto con las carnes y no comer carne cruda, el lavarse las manos con agua y jabón es efectivo para evitar la contaminación cutánea.

Algunos autores mencionan también como medida de prevención la congelación de la carne a una temperatura de -14°C por 24 horas. (10, 34)

IV.- MATERIAL Y METODOS.

Material.

- 1 agitador magnético
- 1 balanza analítica
- 1 estufa bacteriológica
- 400 cubreobjetos
- 400 formatos para recolección de datos
- 4 gradillas con capacidad de 72 tubos cada una
- 1 microscopio de epifluorescencia
- 1 microscopio óptico
- 60 pipetas de 1 ml
- 4 pipetas de 10 ml
- 100 pipetas Pasteur
- 200 portaobjetos
- 250 tubos de ensaye

Reactivos y Material biológico.

- 10 ratones de laboratorio
- antígeno de Toxoplasma gondii
- antiinmunoglobulina específica marcada con fluoresceína para bovino
- azul de Evans (1:200)
- azul de metileno (1-2%)
- glicerol neutro
- agua destilada
- cloruro de sodio (NaCl)
- fosfato de sodio dibásico anhidro (Na_2HPO_4)
- fosfato de sodio monobásico (NaH_2PO_4)
- carbonato de sodio (NaCO_3)
- bicarbonato de sodio (NaHCO_3)

Métodos.

Obtención de las muestras serológicas.

A fin de recolectar muestras de sangre se eligió el rastro de Ferrería. El total de muestras obtenidas fue de 400 de una población de 2165 animales sacrificados durante los 3 días de muestreo (21 de mayo, 20 de junio y 12 de octubre de 1984). Los animales que conformaron la población son animales de abasto cuya edad predominante es de igual o mayor a 3 años, además de animales adultos que son en su mayoría de desecho, tanto hembras como machos. Las razas más frecuentemente encontradas son cebuinas e híbridas de éstas. La procedencia es variable ya que se pueden encontrar animales de toda la República Mexicana.

La selección de bovinos donantes se hizo al azar. La sangre se obtuvo en el momento del degüello, en tubos de ensayo previamente identificados; para la recolección de datos se usaron formatos especiales (anexo). Los tubos conteniendo las muestras se dejaron en reposo, y una vez formado el coágulo se obtuvo el suero mediante el uso de pipetas Pasteur depositándolo en viales identificados y, congelados hasta el momento de su procesamiento.

Conservación, obtención y preparación del antígeno de *Toxoplasma gondii*.

El antígeno de *Toxoplasma gondii* se encuentra a cargo del personal del Centro de Investigación y Diagnóstico de Enfermedades (S.S.A.), la cual se realiza mediante la inoculación intraperitoneal de toxoplasmas vivos en ratones blancos.

Pasados 3-4 días se obtiene el exudado peritoneal de los ratones anteriormente inoculados, se titula la cantidad de toxoplasmas vivos presentes en el exudado, observando una laminilla con una gota de exudado teñido con Wright al microscopio de luz normal, de acuerdo a la cantidad de exudado, diluirlo con solución salina al .9% de tal manera que al observar nuevamente al micros-

copio una preparación teñida del exudado ya diluido, con el objetivo de Inmersión (100x) observemos de 70-100 toxoplasmas por campo. Este preparado antigénico ya está listo para realizar el pase en otros ratones y así conservar la cepa, inoculando .5-1 ml intraperitonealmente o bien para usarse en el montaje de la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta el cual además de contener la cantidad adecuada de toxoplasmas, es necesario que esté libre de células epiteliales del ratón donante; para eliminar estos restos celulares, el preparado antigénico se centrifuga a 2000-2500 rpm durante 10-20 min., eliminando el sobrenadante y rehidratando con solución salina al .9% repitiendo esta operación hasta lograr un preparado libre de restos celulares. A continuación se procede a depositar una pequeña gota en cada uno de los círculos marcados - previamente en los portaobjetos, dejándolo secar a temperatura ambiente y fijándolo mediante la inmersión en acetona durante 5 min; una vez fijado el antígeno se mantiene en congelación a -20°C hasta el momento de su uso.

Preparación de soluciones empleadas en los métodos diagnósticos.

- Solución salina amortiguadora de fosfatos pH 7.5 (PBS) usada para las diferentes diluciones.

NaCl- 1.68 g

Na_2HPO_4 - 0.53 g

NaH_2PO_4 - 0.069 g

Agua destilada - aforar a 1000 ml.

- Buffer carbonato-bicarbonato para glicerina de montaje pH 9

Solución stock

Sol. I.- Na_2CO_3 - 5.3 g aforar a 100 ml. de agua destilada

Sol. II.- NaHCO_3 - 4.2 g aforar a 100 ml. de agua destilada.

Buffer de trabajo

Sol. I.- Na_2CO_3 - 4.4 ml. #

Sol. II.- NaHCO_3 - 100 ml.

#. Seguir agregando hasta obtener un pH 9.0 que se obtiene aproximadamente a los 17 ml. de la sol. I adicionada a la sol. II.

Buffer carbonato pH 9.0 - 1 volumen

Glicerol neutro - 9 volúmenes

combinados y mezclados sin agitación, lentamente.

Procesamiento de los sueros.

Las técnicas utilizadas I.F.I.T. y S.F. son descritas por el Instituto de Ciencias Biológicas del I.P.N. (19) pero debido a - que hay algunas modificaciones en el procesamiento a continuación se mencionan en forma precisa todos y cada uno de los pasos desarrollados.

- Técnica de Inmunofluorescencia Indirecta. (I.F.I.T.)

Los sueros se descongelan a temperatura ambiente y se procede a la preparación de las diferentes diluciones. Se eligió a partir de la dilución 1:16 pues según varios autores es en este título a partir del cual se ha podido aislar el protozoario, ya sea a partir de secreciones, líquidos orgánicos y macerado de tejidos, provenientes de animales infectados, por medio de pases en ratones - de laboratorio.

- a) Dil. 1:16 : 1.5 ml. PBS + 0.1 ml. suero problema #
- b) 1:32 : 0.1 ml. PBS + 0.1 ml. de (a) #
- c) 1:64 : 0.1 ml. PBS + 0.1 ml. de (b) #
- d) 1:128 : 0.1 ml. PBS + 0.1 ml. de (c) #

#. Homogeneizar.

Sobre el portaobjetos que contiene la suspensión desecada y fijada del antígeno (Toxoplasma gondii), agregamos una gota del suero problema, colocándolo en cámara húmeda la cual se introduce en una estufa bacteriológica a 37^oC por 30 minutos (si en el suero existen anticuerpos específicos se fijarán sobre los toxoplasmas).

Lavado de portaobjetos en un baño de PBS con agitador magnético durante 10 min., esto se hace para eliminar anticuerpos que no hayan reaccionado con el antígeno.

Agregar antiinmunoglobulina específica marcada con fluoresceína a cada círculo de la laminilla, la cual al reaccionar transmitirá la fluorescencia al complejo Ag-Ac y por lo tanto a los toxoplasmas. Se repite el proceso de cámara húmeda, estufa y lavado. Agregar a cada círculo de cada laminilla una gota de azul de Evans (reactivo utilizado para reducir la fluorescencia inespecífica ocasionada por la hemólisis que se haya podido causar a las muestras de sangre durante su transporte) dejándolo actuar durante 5 minutos. Repetir el proceso de baño en PBS durante 2 minutos. Aplicar glicerina tamponada a cada laminilla, a continuación se colocan los subreobjetos y se observa al microscopio de epifluorescencia con el objetivo de inmersión (100x).

El criterio utilizado para determinar la positividad o negatividad de cada dilución fue el siguiente:

Positivo= cuando el parásito que tiene forma de media luna con un extremo redondeado y el otro puntiagudo, presenta un halo de fluorescencia color verde amarillento uniforme y muy bien definido en todo su borde, además de estar presente en por lo menos el 80% de los parásitos observados por campo.

Negativo= si acaso se presenta la fluorescencia ésta es discontinua a lo largo del borde del parásito o unicamente en los polos y de una intensidad más baja que en los considerados como positivos.

Técnica de Sabin-Feldman (S.F.).

El antígeno empleado es igual que el usado para realizar el -
pase (toxoplasmas vivos diluidos y libres de restos celulares), -
mezcla de antígeno + factor accesorio (suero humano negativo a -
toxoplasma y por lo tanto no tiene anticuerpos contra el parási-
to).

Elaborar las diferentes diluciones requeridas del suero pro-
blema empleando PBS pH 7.5, agregar 2 gotas de mezcla antígeno +
factor accesorio a cada tubo problema, se incuba en una estufa -
bacteriológica a 37^oC durante 1 hora, después se agregan 2 gotas
de azul de metileno al 1-2% agitando suavemente, se repite el pro-
ceso de la estufa bacteriológica durante 5 minutos. Después se to-
ma una gota de cada tubo y se coloca en un porta y cubreobjetos,-
observandolo al microscopio de luz normal con el objetivo de in-
mersión (100x).

Criterios de Interpretación.

- a) Se considera prueba positiva cuando se observan más del -
50% de trofozoítos sin teñir (refringentes).
- b) Se considera prueba negativa cuando se observan más del -
50% de trofozoítos teñidos de azul.

Plan de Trabajo.

Los 400 sueros bovinos obtenidos en el rastro de Ferrería, se procesaron por medio de I.F.I.T. en el laboratorio de Salud Pública e I.P.O.A. de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, - la lectura de las muestras procesadas se llevó a cabo en el Centro de Salud Animal (S.A.R.H.) en Tepotzotlán, Edo. de Méx.

Con base en los resultados obtenidos en Inmunofluorescencia - Indirecta se procesaron los sueros por S.F. de la siguiente manera:

El 25% del total de sueros positivos con I.F.I.T. a la dilución - 1:16 trabajando con S.F. las siguientes diluciones 1:4, 1:8, 1:16 y 1:32.

El 25% del total de sueros positivos con I.F.I.T. a la dilución - 1:32 trabajando con S.F. las siguientes diluciones 1:8, 1:16, 1:32 y 1:64.

El 50% del total de sueros positivos con I.F.I.T. a la dilución - 1:64 trabajando con S.F. las siguientes diluciones 1:16, 1:32, 1:64 y 1:128.

El 100% del total de sueros positivos con I.F.I.T. a la dilución - 1:128 trabajando con S.F. las siguientes diluciones 1:32, 1:64, - 1:128 y 1:256.

El proceso de elaboración y lectura de los sueros se llevó a cabo en el laboratorio de Parasitología del Centro de Investigación y Diagnóstico de Enfermedades (S.S.A.).

Análisis Estadístico de los Resultados.

La obtención de los valores de prevalencia de anticuerpos contra Toxoplasma gondii por I.F.I.T. de la muestra general así como en los resultados según sexo y dilución se realizó mediante el - cálculo de tasas de positividad.

Para el análisis estadístico de la tasa de prevalencia en la muestra general se utilizó una prueba de Intervalo de Confianza - de 95%, la cual permitió la inferencia del valor de la prevalencia en la población de la cual se obtuvo la muestra. Se empleo la siguiente fórmula:

\underline{P} = Prevalencia de la población

n = Tamaño de muestra

\hat{p} = Prevalencia de la muestra

e = Error

Z = Tablas (1.96)

$$\underline{P} = \hat{p} \pm e$$

$$\hat{p} - Z \sqrt{\frac{p q}{n}} \leq \underline{P} \leq \hat{p} + Z \sqrt{\frac{p q}{n}}$$

Para la evaluación de los resultados positivos a I.F.I.T. entre machos y hembras, para los títulos obtenidos por sexo y para la comparación de los resultados obtenidos por I.F.I.T. y S.F. se utilizaron pruebas de Hipótesis.

$$H_0 = \underline{P}_1 = \underline{P}_2$$

$$H_1 = \underline{P}_1 \neq \underline{P}_2$$

\underline{P}_1 = Prevalencia de la población 1

\underline{P}_2 = Prevalencia de la población 2

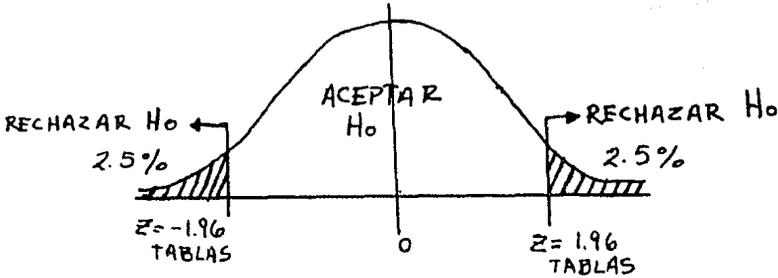
\hat{p}_1 = Prevalencia de la muestra 1

\hat{p}_2 = Prevalencia de la muestra 2

n_1 = Tamaño de la muestra 1

n_2 = Tamaño de la muestra 2

Nivel de significancia $\alpha = 5\%$



$$Z \text{ calc} = \frac{\hat{p}_1 - \hat{p}_2}{\sqrt{\frac{\hat{p}_1 \hat{q}_1}{n_1} + \frac{\hat{p}_2 \hat{q}_2}{n_2}}}$$

V.- RESULTADOS.

En el cuadro N^o 1 se consigna la distribución según zona geográfica de procedencia y sexo, de 400 bovinos a los que se tomaron muestras de sangre recolectadas para el presente estudio.

La prevalencia de anticuerpos contra Toxoplasma gondii en la muestra general constituida por el suero sanguíneo de 400 bovinos sacrificados en el rastro de Ferrería, fue de 43.0% (172 animales positivos). Con base en un análisis de intervalo de confianza de 95% se determinó que la prevalencia en la población de la cual se obtuvo la muestra se encuentra entre 38.14% y 47.85%. (cuadro N^o 2)

En el cuadro N^o 3 se consignan los resultados obtenidos de la muestra general de bovinos positivos a anticuerpos contra Toxoplasma gondii por I.P.I.T. en donde el total de machos muestreados (228) presentan una prevalencia de 40.35% (92 animales positivos) y las hembras muestreadas (172) de 46.51% (80 animales positivos), en las cuales se realizó una prueba de hipótesis con un nivel de significancia $\alpha = 5\%$, donde no se detecta diferencia significativa en la prevalencia de machos y hembras, ya que el valor de $Z_{cal} = -1.23$.

La prevalencia determinada con base en la frecuencia de anticuerpos para Toxoplasma gondii discriminada según sexo y diluciones en I.P.I.T., se consignan en el cuadro N^o 4 en donde se aprecia que las diluciones 1:16 y 1:32 fueron las que predominaron en los resultados de ambos sexos; para machos la prevalencia observada fue de 65.22% (60 animales positivos) y 26.09% (24 animales positivos), para hembras fue de 70.0% (56 animales positivos) y 21.25% (17 animales positivos) respectivamente.

Así mismo se hicieron pruebas de Hipótesis sin que se encontraran diferencias significativas entre machos y hembras en las diluciones empleadas.

Finalmente en el cuadro N^o 5 se presentan los resultados de la comparación entre los títulos de anticuerpos contra Toxoplasma gondii mediante la prueba de I.F.I.T. y los obtenidos por S.F. de un número proporcional de esos mismos sueros. Mediante pruebas de Hipótesis se determinó que estadísticamente no hay diferencias significativas entre los títulos 1:16, 1:32 y 1:128 obtenidos por ambas pruebas, ya que los valores de Z calculada (1.77, 0.338 y -1.25 respectivamente) están en la zona donde se acepta la Hipótesis nula (H_0). En el caso de la dilución 1:64 sí se observa una pequeña diferencia significativa entre los valores de los títulos de ambas pruebas puesto que el valor de Z calculada es de -1.99.

CUADRO No. 1
 Distribución según sexo y procedencia de los 400 bovinos donantes para anticuerpos contra Toxoplasma gondii sacrificados en el Rastro de Ferrería, Mex, D.F., 1984.

PROCEDENCIA	S E X O				TOTAL	
	M A C H O S		H E M B R A S		No.	%
	No.	%	No.	%	No.	%
VERACRUZ	105	26.25	101	25.25	206	51.5
TABASCO	63	15.75	29	7.25	92	23
S.L.P.	24	6	27	6.75	51	12.75
GUERRERO	15	3.75	7	1.75	22	5.5
PUEBLA	11	2.75	2	0.5	13	3.25
CHIAPAS	7	1.75	4	1	11	2.75
OAXACA	3	0.75	2	0.5	5	1.25
TOTAL	228	57	172	43	400	100

(JMP Y HAML)

CUADRO No. 2

Resultados obtenidos en los sueros bovinos positivos a anticuerpos contra Toxoplasma gondii por I.P.I.T. en la muestra general, Rastro de Ferrería. México., D.F., 1984.

MUESTRA	TAMANO	POSITIVOS		INTERVALC DE CONFIANZA
		No.	%	95%
GENERAL	400	172	43	38.14% - 47.85%

(JMP Y HAML)

CUADRO No. 3

Resultados de los 400 sueros bovinos positivos a anti cuerpos contra Toxoplasma gondii por I.P.I.T. , según sexo. México, D.F., 1984.

SEXO	TAMANO DE MUESTRA		POSITIVOS		Z calc.
	No.		No.	%	
MACHOS	228		92	40.35	----- -1.23
HEMBRAS	172		80	46.51	n.s

n.s. No significativo.

(JMP Y HAML)

CUADRO No. 4

Resultados según sexo y dilución de anticuerpos a Toxoplasma gondii determinados por I.F.I.T., de los 400 sueros bovinos obtenidos en el Rastro de Ferrería. México, D.F., 1984.

SEXO	TOTAL POSITIVOS	DILUCIONES							
		1:16		1:32		1:64		1:128	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
MACHOS	92	60	65.2	24	26.0	7	7.6	1	1.08
HEMBRAS	80	56	70	17	21.2	7	8.75	0	0
Z calc.	-1.23 n.s	-0.6699 n.s	0.7479 n.s	-0.2715 n.s					

n.s. No significativo

(JMP Y HAML)

CUADRO No. 5

Comparación entre los títulos de anticuerpos por I.F.I.T. en la muestra general y los títulos obtenidos por S.F. en una parte proporcional de esos mismos sueros. México, D.F. 1984.

DILUCION	I . F . I . T .		S . F .		Z calc.
	No.	%	No.	%	
1:16	116	67.44	22	53.38	1.77 n.s
1:32	41	23.83	9	21.42	0.338 n.s
1:64	14	8.13	9	21.42	-1.99 l.s
1:128	1	0.58	2	4.76	-1.25 n.s
TOTAL	172	99.98	42	99.98	

n.s. No significativo.

(JMP Y HAML)

l.s. Ligera significancia.

VI.- DISCUSION.

En el total de bovinos de abasto que componían la muestra se observó una predominancia de machos jóvenes ya que, su función zootécnica es la producción de carne principalmente, aunado a que la gran mayoría de las hembras son destinadas a la reproducción, cuando son enviadas a rastro es porque son animales de desecho por haber cumplido su ciclo reproductivo y/o presentar problemas reproductivos tales como infertilidad, abortos y malformaciones.

En la investigación realizada se determinaron los niveles de anticuerpos contra Toxoplasma gondii por I.F.I.T. y se encontró una prevalencia del 43.0% (172 animales positivos), cifra que si comparamos con los resultados que reporta Ametller (2) en 1984, donde obtiene el 23.0% de positividad en rastros T.F.F. y 69.0% en rastros municipales de diversas partes de la República Mexicana mediante el uso de la misma prueba y además consideramos el promedio de positividad que es de 46.0%, se observa que este porcentaje de seropositividad se asemeja al obtenido en la presente investigación, por lo tanto se puede inferir que debido a las condiciones de control sanitario previo sacrificio y procedencia de animales, el rastro de Ferrería se encuentra en un nivel intermedio entre rastros municipales y rastros T.I.F. en cuanto a animales positivos a anticuerpos contra Toxoplasma gondii se refiere.

Por otra parte se tienen los resultados que reporta Monroy (22) en 1980, en Cuautitlán, Edo. de México donde obtuvo el 4.9% de positividad mediante la prueba de I.F.I.T., cifra inferior a la encontrada en la presente investigación, esta diferencia se podría explicar si consideramos que los animales muestreados en dicha investigación son bovinos productores de leche en los cuales el control sanitario, alimentación, manejo e instalaciones son mejores que en animales cuya función zootécnica es la producción de carne sobre todo a nivel extensivo como fue el caso de la presente investigación.

Montoya (23) en 1981, en Medellín Colombia, obtuvo el 24% de positividad mediante la prueba de Hemoaglutinación Indirecta, resultado que está por debajo de los obtenidos por I.F.I.T. en la muestra de bovinos del rastro de Ferrería en México, esta variación de positividad podría estar influenciada considerando que el método diagnóstico empleado y las condiciones climáticas de los animales que muestrearon son diferentes.

Por otra parte, aunque se supone que el protozooario es más frecuente en lugares más bajos con climas húmedos y cálidos que en regiones montañosas con climas extremos y terrenos áridos, en los bovinos estudiados no se pudo determinar si el parásito se comporta de forma diferente dependiendo de los diversos climas y regiones de donde procedían, ya que la cantidad de muestras obtenidas de cada región fue en número variable, además de que no se tienen datos precisos sobre condiciones de alimentación, manejo e instalaciones de dichos animales. En lo referente a la prevalencia por sexo como se presentó en los resultados al realizar la prueba de hipótesis no se encontró ninguna diferencia significativa. #

En una hipótesis planteada en esta investigación, se esperaba que en los machos que son en su mayoría animales jóvenes, predominaran los títulos de anticuerpos contra Toxoplasma gondii más altos (1:64 y 1:128) partiendo del supuesto de que la fase de la infección que pueden presentar en esta edad tendiera a su forma aguda. Por lo contrario en las hembras que son en su mayoría animales adultos y viejos que se desechan por presentar problemas reproductivos principalmente, predominarían los títulos bajos (1:16 y 1:32) consecuencia de una fase de la infección tendiente a la cronicidad. No se observaron diferencias significativas en los resultados obtenidos en el presente estudio lo que puede deberse a un fenómeno del azar.

En cuanto al hecho de manejar 2 métodos diagnósticos, el objetivo era única y exclusivamente el aumentar la confiabilidad de los resultados cosa que se logró en gran parte ya que no se encontraron diferencias significativas entre los títulos (1:16, 1:32 y 1:128) obtenidos en ambas pruebas. La diferencia significativa detectada en el título 1:64 pudo ser ocasionada por que durante la conservación, manejo y procesamiento de los sueros positivos a ésta dilución hayan sufrido alguna alteración aunado a variaciones en el antígeno empleado, soluciones, reactivos, problemas de interpretación, etc. Para efectos de la presente investigación se puede decir que debido al resultado obtenido a la comparación de I.F.I.T. y S.F., en la dilución 1:64 la prueba de S.F. resultó ser más sensible. #

Hay que considerar además que el número reducido de sueros procesados por S.F. obedeció principalmente a la limitante que implica el trabajar dicha prueba diagnóstica por su proceso elaborado, el peligro que representa el trabajar con antígeno de Toxoplasma gondii vivo y la subjetividad de la interpretación.

#.- Estos resultados no se sometieron a discusión, debido a que en la literatura citada no se encontraron reportes que comprendieran estas variables.

VII.- CONCLUSIONES.

- La prevalencia de los niveles de anticuerpos contra Toxoplasma gondii en los bovinos de abasto que conformaron la muestra fue de 43% (172 animales positivos), estimándose con 95% de confianza que la prevalencia de la población de la cual procedió la muestra se encuentra entre 38.14% y 47.85%. (cuadro N^o 2)

- Con base en los resultados se observa que la toxoplasmosis no presenta una predisposición por sexo, ya que el valor de Z calculada fue de -1.23. (cuadro N^o 3)

- Se obtuvo el mayor porcentaje de positividad a las diluciones 1:16 y 1:32, además de que no se observaron diferencias significativas en los resultados encontrados en la frecuencia de anticuerpos contra Toxoplasma gondii según sexo y diluciones empleadas. (cuadro N^o 4)

- A la comparación de los resultados obtenidos por I.F.I.T. y S.F. no se observan diferencias significativas en las diluciones 1:16, 1:32 y 1:128, en la dilución 1:64 se detectó una ligera diferencia que no altera el objetivo de la investigación. (cuadro N^o 5)

- Se resalta el peligro que representa la carne bovina como posible factor de riesgo de la toxoplasmosis humana.

RECOMENDACIONES.

Para la realización de investigaciones posteriores enfocadas a estudiar el comportamiento del Toxoplasma gondii, se recomienda considerar los siguientes aspectos.

- Contar con el material y centro de trabajo adecuados que permitan tener más seguridad y control sobre el antígeno y las muestras.

- Contar con la asesoría técnica adecuada para el manejo del antígeno, de las muestras a estudiar y de la técnica inmunológica empleada así como su exacta interpretación.

- Si se decide trabajar en rastro es importante considerar el volumen de sacrificio semanal, mensual, etc., para determinar el tamaño de muestra, así como realizar un seguimiento de los animales muestreados hasta la explotación misma, que permita evaluar las condiciones de clima, alimentación, manejo y sanidad de los mismos.

- Es necesario establecer cuales son las zonas en el país de mayor prevalencia e incidencia de toxoplasmosis tanto a nivel de poblaciones humanas como animales.

- Una vez identificadas las zonas de más alto riesgo se deberá mejorar o implementar las medidas de control y prevención de la enfermedad.

- Determinar que tan efectivos son los métodos biológicos de diagnóstico para diferenciar una fase aguda de una crónica.

- Determinar cuál es el comportamiento real del Toxoplasma gondii en cuanto a clima, distribución geográfica y sexo.

- Establecer la prevalencia general de positividad a Toxoplasma gondii en poblaciones humanas, para en base a ello implementar mejores medidas de control tanto a nivel producción animal como inspección sanitaria de la carne.

- Determinar cuál es el comportamiento de la enfermedad en los bovinos considerando su función zootécnica (producción de leche y producción de carne).

VIII.- LITERATURA CITADA.

- 1.- Aganga, R.: A serological survey of Toxoplasmosis in food - animals (cattle, sheep, goats, swine) in two Northern State of Nigeria. *Int. J. of Zoon.*, 8(1): 57-63. 1981
- 2.- Ametller, E. y Valencia, C.: La toxoplasmosis y los trabajadores del rastro. Memorias del seminario sobre inspección sanitaria efectuado por UNAM, OPS y SSA. 1984
- 3.- Biagi, F.: Enfermedades parasitarias. 2^a Edic., Ed. Prensa - Médica., México. 171-182. 1981
- 4.- Bood, D.C. y Henderson, J.A.: Medicina Veterinaria. 4^a Edic. Ed. Interamericana, México. 617-620. 1976
- 5.- Bovine Medicine and Surgery. 2th Edit. Vol. one. Ed. by H. E. Amstutz, American Veterinary Publications, Inc., Santa Barbara, California. 1980
- 6.- Escuela de Salud Pública. (S.S.A.): Compendio de Estadísticas Vitales de México. 1978
- 7.- Faust, E.: Patología Clínica. 2^a Edic. Ed. Salvat. México. - 229-235. 1981
- 8.- Focaccia, T.: Prevalencia de infección de Toxoplasmosis en - comunidades rurales en el Sureste de la Costa del Estado de Sao Paulo, Brasil. *Rev. del Hosp. Cli. Fac. de Med. de Sao - Paulo.* 37(4): 164-166. 1982
- 9.- Frenkel, J.K. and Dubey, J.P.: Toxoplasmosis and its preven- tion in cats and man. *J. of Infect. Dis.* 125(6): 664-673. 1972.
- 10.- Frenkel, J.K. y Ruiz, R.: Toxoplasmosis humana. Una Revisión Separata de la *Rev. Act. Med. Cost.* 16(1), En-Ab. 1973
- 11.- Granados, J.L.: Detección de anticuerpos contra Toxoplasma - gondii en cerdos, mediante Inmunofluorescencia Indirecta. Te- sis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad - Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1975

- 12.- Hentsch, D.: *Diagnosis and treatment of toxoplasmosis in practice*. Toxoplasmosis. 1971
- 13.- Hirt, J.: *Toxoplasmosis*. 1^a Edic., Ed. El Ateneo. Buenos Aires, Argentina. 1976
- 14.- H. de Roever-Bonnet.: *Toxoplasmosis in Tropical Africa*. Trop. Geog. Med. 24: 7-13. 1972
- 15.- Instituto Politécnico Nacional.: *Manual de Laboratorio de Parasitología*. Inst. Cien. Biol. I.P.N. México, D.F. 1979
- 16.- Johnson, A.M: *Ultrastructural and Biochemical Studies on the Immunohistochemistry of Toxoplasma gondii antigens using monoclonal antibodies*. Histochem. 77(2): 209-215. 1983
- 17.- Jub and Kennedy: *Patología de los animales domésticos*. 2^a Ed New York Academic. 794-798. 1970
- 18.- Lapage, G. *Parasitología Veterinaria*. 1^a Edic., Ed. CECSA. México. 689-692. 1971
- 19.- MacMahon, B. y Pugh, T.: *Principios y Métodos de Epidemiología*. 2^a Edic., Ed. Prensa Médica Mexicana. México. 1975
- 20.- Matos, A.: *Prevalencia de toxoplasmosis congénita en Santo Domingo, República Dominicana*. Arch. Dom. de Ped. 18(3): 137-144. 1982
- 21.- Max, G.: *El cerdo como fuente potencial de Toxoplasmosis e Isosporiosis humana en Colombia*. Antioq. Med. 28(1-2).1979
- 22.- Monroy, J.: *Identificación de anticuerpos contra Toxoplasmosis en suero sanguíneo bovino por prueba de Inmunofluorescencia en la cuenca lechera de Cuautitlán, Edo. Méx. Tesis de licenciatura. Pac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1980*
- 23.- Montoya, F. Ramírez, L. Loaiza, A. Henao, J. y Murillo, G.: *Prevalencia de anticuerpos para Toxoplasma gondii en bovinos y porcinos*. Bol. Of. San. Pan. 91(3): 219-226. 1981

- 24.- Mora de Sánchez, A.: Observaciones prácticas para la patroni
zación de la reacción de Inmunofluorescencia Indirecta para
el diagnóstico de algunas enfermedades parasitarias. Rev. -
Lat. Mic. 24, En-Jun. 1982
- 25.- Munday, B.L.: Bovine Toxoplasmosis. Experimental infections.
Int. J. of Paras. 8: 285-288. 1978
- 26.- Muro, R. del: Zoonosis Parasitarias. Sec. de Postgrado de la
Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de -
México. 1982
- 27.- Ourth, D.D.: Toxoplasma gondii associated with human cata-
racts. Brit. J. Path. 52: 276-279. 1971
- 28.- Peterson, D.R.: Human Toxoplasmosis. Prevalence and exposure
to cats. Am. J. Ep. 96(3): 213-218. 1972
- 29.- Principios de Epidemiología para el control de Enfermedades.
Programa de Adiestramiento en Salud Animal para América Latin
a. Ed. OPS, OMS y BID. 1981
- 30.- Roch, E.: Compendio de toxoplasmosis. 1^a Edic., Ed. Patria.
México. 1971
- 31.- Salazar, E. Battan, M. Soriano, G. Hurtado, L. Molina, C y Can
al, R.: Miocardiopatía causada probablemente por Toxoplasma
gondii. Arch. Inst. de Card. de México. 42. 1972
- 32.- Salud Pública de México.: Gasos notificados de enfermedades
transmisibles en la población del I.M.S.S. 1972-1981. 25(6)
1983
- 33.- Sengbosch, E.J.: Toxoplasma antibody prevalence in Veterinar
y personnel and a selected population not exposed to cats.
Am. J. Ep. 103(6): 395-397. 1976
- 34.- Soulsby, E.J.: Helminths, arthropods and protozoa of domestic
ated animals. 7th Edition of Monning's Veterinary Helminthol
ogy & Entomology. LEA & Febiger, Philadelphia. 1980

- 35.- Tizard, I.R.: *Inmunología Veterinaria*. 1^a Edic., Ed. Interamericana. México, D.F. 1979
- 36.- -----: Toxoplasmosis in Veterinarians and investigation in to possible source of infection. *Can. Vet. J.* 17(1): 23-24. 1976
- 37.- Uilho, A. Romero, J. Ferrioli, F. y Leite, J.: Estudio de las relaciones entre *Toxoplasma* y las pérdidas fetales. *Bol. Of. San. Pan.* 85(4): 315-321. 1978
- 38.- Valencia, E.: Estudio bibliográfico sobre Toxoplasmosis. Tesis de licenciatura. Fac.de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1978
- 39.- Valle, R. del: Diagnóstico serológico de *Toxoplasma gondii* y estudio sobre la relación de éste, con problemas reproductivos en cerdas. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1984
- 40.- Varela, G. y Zavala, J.: Ensayo de transmisión de la Toxoplasmosis por insectos. *Rev. Inst. Sal. Enf. Trop. México.* 21(3-4). 1961
- 41.- Varela, G. Molina, C. Sánchez, I. y Aluja, A.: Toxoplasmosis Estudio en sueros humanos en los últimos cuatro años. Comparación entre la serología de la Toxoplasmosis y de la infección por *Sarcocystis* en bovinos. *Rev. Inv. en Sal. Púb. México.* 32(2): 138-143. 1972
- 42.- Welch, P. Masur, H. Jones, T.y Remington, J.: Serologic Diagnosis of Acute Lymphadenopathic Toxoplasmosis. *J. Inf. Dis.* 142(2): 256-264. 1980

A N E X O

FORMATO UNICO PARA LA OBTENCION DE DATOS DE LOS ANIMALES MUESTREADOS.

PROCEDENCIA _____
(Estado) (Municipio) (Localidad)

SEXO: M F EDAD _____

ESTADO GENERAL gordo flaco

TIPO: ENGORDA REPRODUCTOR
LECHERO CRIOLLO

FECHA DE SACRIFICIO: _____
(día, mes y año)

LUGAR DE SACRIFICIO _____
(Estado) (Municipio) (Localidad)

EMPACADORA: TIF RASTRO MUNICIPAL

RESULTADO DE LA TITULACION:

POSITIVO NEGATIVO TITULO