

Nº 47
Z.V.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DIAGNOSTICO DE LA TOXOPLASMOSIS POR
MEDIO DE LA TECNICA DE INMUNOPEROXIDASA
(AVIDINA - BIOTINA - PEROXIDASA)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A I

AMAURY CORDERO TAPIA

Asesores:

M. V. Z. Rafael F. Colín Flores

M. V. Z. Enrique M. Aburto Fernández



MEXICO, D. F.

1992

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

C O N T E N I D O

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	8
RESULTADOS.....	9
DISCUSION.....	10
LITERATURA CITADA.....	14
CUADROS.....	24

RESUMEN

CORDERO TAPIA, AMAURY. Diagnóstico de la toxoplasmosis por medio de la técnica de inmunoperoxidasa (avidina-biotina-peroxidasa), (bajo la dirección de: MVZ. Rafael F. Colin Flores y MVZ. Enrique M. Aburto Fernández).

Se revisaron 16029 casos del archivo de diagnóstico del Departamento de Patología de la F.M.V.Z. de la U.N.A.M. en el período comprendido de enero de 1980 a diciembre de 1990. Del total de los casos revisados se encontraron 10 con diagnóstico de toxoplasmosis (0.062%); Así mismo, en las secciones histológicas de estos casos se practicó la técnica de inmunohistoquímica del complejo avidina-biotina-peroxidasa utilizando anticuerpos monoespecíficos en contra de *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* y *Hammondia hammondi*. La reacción fue positiva en 9 casos a *Toxoplasma gondii* y un caso positivo para *Neospora caninum*. Este estudio constituye el primero de su tipo en México y a su vez representa el primer informe de infección por *Neospora caninum* en el país.

DIAGNOSTICO DE LA TOXOPLASMOSIS POR MEDIO DE LA
TECNICA DE INMUNOPEROXIDASA (AVIDINA-BIOTINA-PEROXIDASA)

I N T R O D U C C I O N

La toxoplasmosis es una zoonosis de distribución mundial. Los felinos domésticos y silvestres son los huéspedes definitivos, siendo los mamíferos y las aves actúan como huéspedes intermediarios. El agente etiológico es *Toxoplasma gondii* que es un esporozoario del grupo de los coccidios, intracelular obligado. (2,28,41,47)

Existen diferentes presentaciones como son, la congénita; con transmisión vertical de la madre al producto. Adquirida; este tipo de infección se establece por diversos factores tales como: el consumo de carne mal cocida, en la que se pueden encontrar los quistes de este protozoario, ya que se ha comprobado la existencia de estos en diversos animales destinados para consumo humano, en donde los caprinos y ovinos, son los más afectados. Así mismo el consumo de verduras contaminadas también con fases de oociste del parásito. (9,10,14,20,26,29,37,52)

Otra forma de transmisión es la producida por los injertos y/o transfusiones sanguíneas de individuos con

toxoplasmosis a pacientes sanos. Así como la transmisión del gato por medio de sus heces, que pueden contaminar el agua o el piso por tiempos prolongados. (9,25,26,58)

Tiene una amplia distribución geográfica, tanto en climas fríos, templados y tropicales. Su prevalencia es muy variada tanto entre los animales domésticos y silvestres, como en los humanos, y depende mucho de la época del año, la distribución geográfica, así como el tipo de población donde se realiza el estudio, sin embargo su rango oscila entre un 12% - 63% (7,8,11,12,17,18,25,31,37,52,57). Existe un mayor índice de frecuencia conforme avanza la edad, y cuando se presentan alteraciones inmunológicas, que pueden facilitar la conversión de la fase subclínica a la clínica de esta enfermedad. (9,14,29,30,52,53,58)

De lo anterior es importante resaltar las dimensiones de la infección en cuanto a su distribución, en donde sobresale el estado latente de la enfermedad, que con lo diverso de su signología (encefálica, ocular, respiratoria, digestiva, reproductiva, etc.), y lo inespecífico de las lesiones, puede pasar desapercibida como enfermedad primaria, asociada u oportunista (18,24,29,30,46,48,52,53,55,58), ya que puede ser más potente cuando se acompaña de Lupus eritematoso, o bien

potencializar otras enfermedades como la leishmaniasis cutánea para lo cual aun no se conoce el mecanismo de acción. (1,25)

A esto se agrega los agentes etiológicos que tienen similitud en cuanto a lesiones histológicas y/o comportamiento clínico con la toxoplasmosis como pueden ser: *Besnotia sp*, *Isospora sp*, *Sarcocystis sp*, *Frankelia sp*, *Leishmania sp*, *Histoplasma sp*, *Hammondia sp* y *Neospora caninum*, en donde además existe una estrecha semejanza morfológica del *Toxoplasma gondii* con los dos últimos agentes. (4,9,16,17,18,19,23,27)

Los criterios de los especialistas para llevar a cabo un diagnóstico definitivo son variables, para lo cual se han utilizado técnicas como los estudios serológicos a partir de muestras pareadas por algunos meses, en las cuales se realiza la titulación de anticuerpos para determinar la existencia de la enfermedad (8,14,26,28,29,49,50,53,55,56). Por lo que se refiere a las formas rutinarias de diagnóstico de un laboratorio común, aconsejan que por lo antes descrito, no se deben tomar los hallazgos histológicos como base única para el diagnóstico, aun con las variedades de técnicas de tinción que se utilizan para poner de manifiesto al *Toxoplasma gondii* (Giemsa, tinciones de plata, PAS, Gimenez, etc.) (9,10,17,45), sino

conjuntarlas a las técnicas de serología (ELISA, hemoaglutinación, inmunofluorescencia directa e indirecta). Sin embargo, aún así existen problemas para su evaluación (18,24,25,27,29,39,48,49,52,53). De tal forma que las alternativas que quedan para un diagnóstico certero y rápido, son las técnicas de microscopía electrónica y de inmunoperoxidasa, que proporcionan una alta especificidad y características diferenciales del organismo en estudio, de las cuales también se sugiere la realización simultánea. (17,20,23,30,45,46,58)

TECNICAS DE INMUNOPEROXIDASA

Es en 1966 cuando Avraemas y Uriel, tanto como Nakane y Pierce introdujeron la forma de diagnóstico por medio de los anticuerpos con enzimas con capacidad de unirse a antígenos en un tejido y cambiar de color. La enzima que mejores resultados a dado es la peroxidasa. (40)

Las técnicas de inmunoperoxidasa (IP), son un grupo de procesos inmuno-enzimáticos que ponen de manifiesto diversas sustancias (antígenos), que se basan en la reacción de un anticuerpo específico contra su correspondiente antígeno. Pueden manejarse uno o varios anticuerpos dependiendo del método a utilizar. La enzima activa de peroxidasa es utilizada en presencia de una peroxidasa hidrogenada y un cromógeno . El cromógeno más usado es la diaminobenzidina que cuando el resultado es positivo (+) se forma un precipi-

tado de color café en el sitio de unión antígeno-anticuerpo.
(40,44)

Sternberger y Mason en 1969 introducen el método enzima-inmunoglobulina. En 1970 se modifica con el desarrollo de la técnica del anticuerpo no marcado peroxidasa-antiperoxidasa. Esta última junto con la técnica del complejo Avidina-biotina-peroxidasa, son las más comunmente empleadas. (44)

Cualquier sustancia antigénica para el organismo en estudio, en teoría es demostrable por medio de esta técnica y es impresionante por el número de anticuerpos que están a disposición, pero no deben ser sobreinterpretados los resultados en un tejido específico. Algunas de las aplicaciones en la medicina veterinaria son: determinar la estirpe histológica de tumores anaplásicos, clasificar y tipificar células, identificar virus, bacterias, parásitos, etc., que pueden ser con el empleo simultáneo de microscopía electrónica (immunomicroscopía electrónica). (40,44,51)

HIPOTESIS: La técnica de inmunoperoxidasa (avidina-biotina-peroxidasa) será más sensible y específica que las técnicas habituales de histopatología (Hematoxilina-eosina, GIEMSA, etc..) para la identificación de *Toxoplasma gondii* en tejidos

y así mismo permitirá la diferenciación entre este último y otros microorganismos morfológicamente similares.

OBJETIVO: Determinar la presencia de *Toxoplasma gondii* en tejidos mediante la prueba de inmunoperoxidasa (avidina-biotina-peroxidasa).

M A T E R I A L Y M E T O D O S

Se revisaron 16029 casos para diagnóstico pos mortem remitidos al departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, de 1980 a 1990. Se seleccionaron los casos con diagnóstico de toxoplasmosis cuyos tejidos fueron fijados con formalina amortiguada al 10% (ph 7.4), para la obtención de cortes de 4 micras de espesor que posteriormente fueron desparafinadas y procesados con la técnica de inmunoperoxidasa (avidina-biotina-peroxidasa). Esta técnica consiste en poner de manifiesto los antígenos de *Toxoplasma gondii* mediante el contacto con un anticuerpo específico. La reacción positiva ocurrió cuando en el sitio de unión antígeno-anticuerpo se formó precipitado color café ocre. Se utilizará un control positivo (tejido con *Toxoplasma gondii*, previamente identificado), y un control negativo de tejido normal procesado con esta técnica. El proceso de la técnica avidina-biotina-peroxidasa está descrito detalladamente por Nadji. (40,44,51)

Tratamiento estadístico: se utilizó la prueba de X² para determinar asociación con las variables sexo, edad, raza y especie.

R E S U L T A D O S

Se revisaron 16029 casos de archivo del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M., durante el periodo comprendido de enero de 1980 a diciembre de 1990.

Del total de casos revisados se encontraron 10 con diagnóstico de toxoplasmosis (0.062 %), cuyos hallazgos morfológicos se resumen en los cuadros 2 y 3 .

Así mismo en las secciones histológicas de estos casos se observaron estructuras quísticas basófilas de tamaño variable que con las técnicas de Hematoxilina-eosina, Giemsa y Ziehl-Nielsen , fueron consideradas compatibles con *Toxoplasma gondii*.

De los 10 casos (100%), 6 fueron hembras (60 %), y 4 fueron machos (40 %). con las siguientes especies afectadas; 4 perros (40 %), 3 felinos (30 %), 1 cabra (10 %) y dos canguros (20 %).(CUADRO 1)

A estos casos se les practicó la técnica de del complejo avidina-biotina-peroxidasa para *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* y *Hammondia Hammondi*, la reacción fué positiva en 9 casos para *Toxoplasma gondii*, de los cuales 3 fueron perros (30 %), 3 felinos (30 %), 1 cabra (10 %) y 2 canguros (20 %). El canino faltante (11.1 %), resulto positivo a la inmunorreacción para *Neospora caninum*. (CUADRO 4)

DISCUSION

Las infecciones por *Toxoplasma gondii* son frecuentemente asintomaticas en individuos inmunologicamente saludables, pero la enfermedad puede ser grave o mortal en sujetos inmunodeprimidos (3,6,26,29,30,33,55,56). Es un protozoario de los felidos, que tiene como huéspedes intermediarios a los animales de sangre caliente, incluyendo mamíferos y aves, tanto domésticos como silvestres. (8,18,21,25,26,36,52)

De los 16029 casos remitidos en el Departamento de Patología de la F.M.V.Z. de la U.N.A.M., en el periodo comprendido de enero de 1980 a diciembre de 1990, 9 (0.056 %) fueron positivos por inmuno peroxidasa a *Toxoplasma gondii*, esta frecuencia esta por debajo de otras descritas en diferentes estudios, que fluctuan en un 12-63 % ,pero diagnosticados por diferentes métodos (2,3,8,13,15,35,42,43,54). No se encontro relación estadísticamente significativa $P > (0.05)$ de especie, raza, sexo , ni algún tipo de asociación con relación a la época del año, pero si con lo que respecta a edad (viejos) y problemas inmunológicos, lo que concuerda con los estudios

realizados a nivel internacional y nacional (3,5,6,9,15,42,54). Las causas de estas variaciones no se conocen. Sin embargo, las condiciones ambientales pueden determinar la distribución natural de la toxoplasmosis, ya que se ha observado que es más frecuente en climas cálidos y húmedos que en los que son fríos y secos, esto se debe probablemente a las condiciones que favorecen la esporulación y la sobrevivencia de oocistos en el medio. (2,6,15,42,54,58)

De los 9 casos positivos por inmunoperoxidasa a *Toxoplasma gondii*, 3 (33.3 %) fueron perros, en esta especie la edad y las infecciones coexistentes facilitan la presentación de la enfermedad, y con frecuencia hay asociación con infección por la enfermedad de Carré, la literatura menciona que del 40-99 % de los casos de toxoplasmosis en perros está asociado a la infección por este virus, ya que produce inmunodepresión y no es raro que el toxoplasma en infección latente aproveche las condiciones para, causar daño tisular y empeorar el cuadro clínico. (2,15,18)

En los felinos se encontraron 3 casos (33.3 %). La frecuencia de toxoplasmosis aumenta en esta especie con relación a la edad y estado inmunológico del individuo, lo cual está asociado con la infección por el virus de la inmunodeficiencia felina y el de la leucemia felina que son agentes que causan inmunodepresión ya que los gatos son

portadores sanos del *Toxoplasma gondii* que es un agente oportunista (2,15,33,36,52). Sin embargo, si los felinos no están afectados con estos virus la toxoplasmosis clínica es rara, empero la causa exacta no se conoce. El porcentaje de casos de la toxoplasmosis en felinos coincide con lo descrito en la literatura. (26,29,35,36,41)

En las cabras los rangos de infección son de 0-100 %, siendo la presentación de abortos lo más frecuente en esta especie. En el caso encontrado en este estudio (11.1 %), no se observó relación con abortos. (2,10,13,15,22,38)

En el caso de los 2 canguros (22.2 %), encontrados positivos por inmunoperoxidasa para *Toxoplasma gondii*, era de esperarse, ya que los marsupiales son altamente susceptibles a la infección, aunque no se tienen datos epizootiológicos para determinar el origen de la misma (7,8,17,18,21,31,32,34).

En lo que respecta al único caso que resultó positivo por inmunoperoxidasa a *Neospora caninum*, ya se tenían informes del parásito, sin embargo no se había determinado la presencia del mismo en México, cuadro 4. (4,15,16,19,23)

Como se mencionó anteriormente, *Neospora caninum* es uno de los principales diagnósticos diferenciales para *Toxoplasma gondii* ya que comparten muchas similitudes morfológicas en cuanto al agente por sí mismo y la reacción tisular que desencadenan en el huésped, por lo tanto se pueden confundir

con facilidad si el diagnóstico se limita a las técnicas rutinarias de histopatología. Sin embargo, esto no ocurre con la técnica de inmunoperoxidasa ya que se trata de dos agentes inmunológicamente distintos y esta última demostró ser eficiente para el diagnóstico de ambos agentes. (4,15,16,18,19,23)

De lo anterior se desprende que es importante realizar más estudios de este tipo con el fin de hacer diagnósticos confiables que permitan establecer estrategias destinadas a la prevención y control de una enfermedad causada por un agente capaz de infectar a una gran variedad de especies domésticas, silvestres y marítimas, de amplia distribución natural y por ende una zoonosis de gran importancia para la salud pública. (2,3,5,6,9,35,42,43,54)

Este estudio constituye el primero de su tipo en México y a su vez representa el primer informe de infección por *Neospora caninum* en el país.

LITERATURA CITADA

1. Abdel, R.M., Tosson, A.M., Bahgat, M.I., Rahim, M.H. and Yehia, A.A.: The histopathological picture of concomitant infection with *Leishmania major* and *Toxoplasma gondii* in albino mice. J. Egypt. Soc. Parasitol. 19: 1-12 (1989).
2. Acha, P.N. y Boriz, S.: Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales. Organización Panamericana de la Salud, Washington, D. C., E. U. A. (1977).
3. Anónimo: Toxoplasmosis. bioMérieux. Francia Lyon. 1983.
4. Barr, B. C., Anderson, M. L., Dubey, J. P. and Conrad, P. A.: Neospora-like protozoal infections associated with bovine abortions. Vet. Pathol. 28(2):110-116 (1991).
5. Biagi, F. Francisco, Alemañy, Jaime: Intradermo reacciones con toxoplasmina en Ixtapalapa, D.F., México. Bol. Med. Host. Inf. 14: 125-127 (1957).
6. Carrada, Bravo T.: Epidemiología de la toxoplasmosis en México. Gaceta med. clin. I.M.S.S. 2: 41-42 (1979).

7. Dorny, P. and Franssen, J.: Toxoplasmosis in a siberian tiger (*Panthera tigris altaica*). Vet. Record, **125**: 647 (1989).
8. Dreesen, D.: Toxoplasma gondii infections in wildlife. JAVMA, **196**(2): 274-276 (1990).
9. Duarte, C. A. y Duarte, B. C. : Criterios para el diagnostico tratamiento de la toxoplasmosis. Revista colombiana de Obstetricia y Ginecologia, **35**(3):205-213 (1984).
10. Dubey, J. P.: Lesions in goats fed Toxoplasma gondii oocysts. Vet. Parasitol, **32**:133-144 (1989).
11. Dubey, J. P.: Status of toxoplasmosis in cattle in the United States. JAVMA, **196**: 257-258 (1990).
12. Dubey, J. P.: Status of toxoplasmosis in pigs in the United States. JAVMA, **196**: 270-273 (1990).
13. Dubey, J. P.: Status of toxoplasmosis in sheep and goats in the United States. JAVMA, **196**: 259-262 (1990).
14. Dubey, J. P., and Adams, D. S. : Prevalence of Toxoplasma gondii antibodies in dairy goats from 1982 to 1984. JAVMA, **196**(2): 295-296 (1990).

15. Dubey, J. P., Beattie, C. P.: *Toxoplasmosis of Animals and Man. Ed. CRC Press, Florida, United States. 1988.*

16. Dubey, J. P., Carpenter, J.L., Speer, C.A., Topper, M.J. and Uggla, A.: Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. JAVMA. 192(9):1269-1285 (1988).

17. Dubey, J. P., Gendron-Fitzpatrick, A. P., Lenhard, A. L. and Bowman, D.: Fatal toxoplasmosis and enteroepithelial stages of *Toxoplasma gondii* in pallas (Felis manul). J. Protozool. 35(4):528-530 (1988).

18. Dubey, J. P., Hamir, A. N. and Rupprecht, C. E.: Acute disseminated toxoplasmosis in a red fox. J. Wildl. Dis. 26(2):286-290 (1990).

19. Dubey, J.P., Hattel, A.L., Lindsay, D. S. and Topper, M. J.: Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. JAVMA. 193(10):1259-1263 (1988).

20. Dubey, J. P., Johnstone, I., Menrath, V. H. and Topper, M. J.: Congenital toxoplasmosis in abyssinian cats. Vet. Parasitol. 32:261-264 (1989).

21. Dubey, J. P., J, Ott-Joslin, R. W. Torgerson, M. J. Topper and J. P. Sundberg.:Toxoplasmosis in black-faced kangaroos (*Macropus fuliginosus melanops*). Vet. Parasitol. 30: 97-105 (1988).
22. Dubey, J. P. and Kirkbride, C. A.: Toxoplasmosis and other causes of abortions in sheep from north central United States. JAVMA. 196: 287-2990 (1990).
23. Dubey, J. P. and Lindsay, D. S.:Neosporosis in dogs.Vet parasitol.36:147-151 (1990).
24. Dubey, J. P., Sonn R. J.,Hedstrom, O.,Snyder, S. P., and Lassen, E. D.:Serologic and histologic diagnosis of toxoplasmic abortions in sheep in Oregon. JAVMA.196(2): 291-294 (1990).
25. Frenkel, J. K.: La Inmunidad en la toxoplasmosis.Bol Of Sanit Panam: 100, 3, 283-299. 1986.
26. Frenkel, J. K.:Transmission of toxoplasmosis and role of immunity in limiting transmission and illness. 233-239 126th Annual A.V.M.A. Meeting.Orlando,Fla. (1989).

27. Garcia, R. J., y Alvarez, CH. R.: Diagnostico de toxoplasmosis por medio del laboratorio. Infectologia. 12:605-609 (1983).

28. Gonzales, O. E., Lopez, A. C., Cordovi, P. R. y Aguilera, E. A.: Toxoplasmosis. consideraciones diagnósticas. Rev. Cub. Med. Trop. 932:157-164 (1980).

29. Gordon, N. D.: Recent developments in the prevention and treatment of congenital toxoplasmosis. Int. Ophthalm. 13:407-413 (1989).

30. Grant, I. H., Gold, J. W., Rosenblum, M., Niedzwiecki, D. and Armstrong, D.: Toxoplasma gondii serology in HIV-infected patients: the development of central nervous system toxoplasmosis in AIDS. AIDS, 4 (6):519-521 (1990).

31. Hagemoser, W. A., Dubey, J. P. and Thompson, J. R.: Acute toxoplasmosis in a camel. JAVMA. 196 (2):347 (1990).

32. Hartley, W. J., Dubey, J. P., and Spielman, D. S.: Fatal toxoplasmosis in koalas (*Phascolarctos cinereus*). J. Parasitol. 76(2): 271-272 (1990).

33. Heidel, J. R., Dubey, J. P., Blythe, L. L., Walker, L. L., Duimstra, J.R. and Jordan, J.S.: Myelitis in a cat infected with *Toxoplasma gondii* and feline immunodeficiency virus. JAVMA. 196: 316-318 (1990).
34. Inskeep ll, W., Gardiner, C. H., Harris, R. K., Dubey, J.P., and Goldston, R. T.: Toxoplasmosis in atlantic bottle-nosed dolphins (*Tursiops truncatus*). J. Wildlife Dis.: 26:377-382 (1990)
35. Kairalla, F. C. and Falleirus, C. L. H.: Toxoplasmosis. Infectologia. 2: 119-133 (1981).
36. Lappin, M. R., Craig, E. G., Winston, S., Toll, S. L., and Epstein, M. E.: Clinical feline toxoplasmosis. J. Vet. Intern. Med.: 3:139-143 (1989).
37. Leighty, J. C.: Strategies for control of toxoplasmosis. JAVMA. 196(2):281-286 (1990).
38. Masoud, A. M., Dreesen, D. W. and de la Cruz, A.: Toxoplasmosis in sheep in northeastern United States. JAVMA. 196: 263-265 (1990).

39. Mineo, J., Camargo, M., Ferreira, A. e Almeida, G.: Pesquisa de anticorpos Igm anti-toxoplasma gondii por meio de tecnica inmunoenzimatica reversa. Rev. Inst. Med. Trop. 26(1): 6-11 (1986).
40. Nadji, M. and Morales, A.: Immunoperoxidase Techniques. American Society Clinical Pathologists Press. Chicago, 1986.
41. Quiroz, R. H.: Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos. LINUSA. México, D. F. 1989.
42. Resano, T. F., Pascoe, L. D. y Zúñiga, T. V.: Encuesta sero-epidemiologica de anticuerpos anti-toxoplasma en la república mexicana. Rev. Mex. Patol. Clin. 32: 8-19 (1985).
43. Roch, E. y Bravo-Becherelle, M. A.: Incidencia de toxoplasmosis congénita en una muestra de 2186 nacidos vivos de la ciudad de México. Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop. (Méx). 22: 221-227 (1962).
44. Rosai, M. D.: Ackerman s Surgical Pathology. 7th ed. The C.V. Mosby Company. Washington, D. C. 1989.

45. Sims, T. A., Hay, J. and Talbot, I. C.: Host-parasite relationship in the brains of mice with congenital toxoplasmosis. J. Pathol. 156: 255-261 (1988).

46. Sims, T. A., Hay, J. and Talbot, I. C.: an Electron microscope and immunohistochemical study of the intracellular location of Toxoplasma tissue cysts within the brains of mice with congenital toxoplasmosis. J. Exp. Path. 70: 317-325 (1989).

47. Smith, H. A. y Jones, T. C.: Veterinary Pathology. 2a.ed. U.T.E.H.A. Mexico, 1987.

48. Stahl, W., and Turek, G.: Chronic murine toxoplasmosis: clinicopathologic characterization of a progressive wasting syndrome. Annal. Trop. Med. Parasitol. 82 (1): 35-48 (1988).

49. Stepick-Bieck, P., Thulliez, P., Araujo, F. and Remington, J.: IgA Antibodies for diagnosis of acute congenital and acquired toxoplasmosis. Jour. Infec. Dis. 162: 270- 273 (1990).

50. Suzuki, Y., Thulliez, P., and Remington, J. S.: Use of acute-stage-specific antigens of *Toxoplasma gondii* for serodiagnosis of acute toxoplasmosis. J. Clin. Micro. 28 (8):1734-1738 (1990).

51. Tavera, C. S. y Colin, F. R.: Aplicaciones de la técnica de inmunoperoxidasa como método de ayuda en el diagnóstico e investigación en medicina veterinaria. II jornada médico avícola. pp: 284-291 .Ed. J. Antonio Quintana López , Carlos López Coello .F.M.V.Z., U.N.A.M., México 1991.

52. Van Knapen, F.: Toxoplasmosis, old stories and new facts. Int. Ophthalmol. 13: 371-375 (1989).

53. Van Loon, A. M.: Laboratory diagnosis of toxoplasmosis. Int. Ophthalmol. 13: 377-381 (1989).

54. Velasco, C. O., Salvatierra-Izaba, B., Valdespino, J.L., Sedano, L.A., Galindo, V. S., Magos, C., LLausás, A., Tapia, C. R., Gutierrez, G. y Sepúlveda, J.: Seroepidemiología de la toxoplasmosis en México. Salud Pública Méx 34: 222-229 (1992).

55. Wilcox, M. H., Powell, R. J., Pugh, S. F. and Balfour, A. H.: Toxoplasmosis and systemic lupus erythematosus. Annal. Rheum. Dis. 49(4): 254-257 (1990).
56. Wilso, M., Ware, D. A. and Juranek, D. D.: Serologic aspects of toxoplasmosis. JAVMA. 196(2): 277-280 (1990).
57. Zimmerman, J.J., Dreesen, W. D., Owen, J. W. and Beran, W. G.: Prevalence of toxoplasmosis in swine from Iowa. JAVMA. 196: 265-269 (1990).
58. Zygmunt, D. J.: Toxoplasma gondii. Infect. control. hosp. Epidemiol. 11(4): 207-211(1990).

CUADRO No. 1
DISTRIBUCION DE CASOS Y CARACTERISTICAS POR ESPECIE

No. DE CASO	ESPECIE	RAZA	SEXO	EDAD
H30-1778	CANINO	GRAN DANES	MACHO	3.5 MESES
H83-1028	CANINO	MALTES	HEMERA	2.5 MESES
H85-678	CANINO	CRITOLLO	HEMERA	1.5 MESES
H89-971	CANINO	FRENCH POODLE	MACHO	2.0 MESES
H85-783	FELINO	EUROPEO DOMESTICO	HEMERA	1.0 AÑO
H86-724	FELINO	EUROPEO DOMESTICO	HEMERA	4.0 AÑOS
H30-429	FELINO	LEON AFRICANO	MACHO	3.0 MESES
H89-417	CAPRINO	CRITOLLO	HEMERA	6.0 MESES
H89-17	MARSUPIAL	CANGURO ROJO	HEMERA	1.5 AÑOS
H89-45	MARSUPIAL	CANGURO ROJO	MACHO	1.5 AÑOS

CUADRO No. 2
 LESIONES MACROSCOPICAS

NO. DE CASO	ESPECIE	SISTEMA NERVIOSO	SISTEMA RESPIRATORIO	SISTEMA DIGESTIVO	SISTEMA CIRCULATORIO VASCULAR	SISTEMA GENITAL URINARIO	OTROS TEJIDOS
880-1778	CANINO	CONGESTION LEPTOMENINGEA.	CONGESTION PULMONAR GRAVE.	CONGESTION MODERADA DIFUSA DE INTESTINOS.	PRESENCIA DE MULTIPLES PUNTOS EN CORAZON.	CONGESTION MODERADA Y DIFUSA EN AMBOS RINONES.	
883-1828	CANINO	CONGESTION LEPTOMENINGEA GRAVE.	CONGESTION Y EDEMA PULMONAR GRAVES.	RIGIDO CON PUNTILLO BLANQUECINO.	PRESENCIA DE MULTIPLES PUNTOS EN CORAZON.	CONGESTION GRAVE Y DIFUSA EN AMBOS RINONES.	
887-678	CANINO		CONGESTION Y EDEMA PULMONAR GRAVES.	FIGADO DE COLOR AMARILLO Y PUNTILLO BLANQUECINO. INTESTINO DELGADO, CONGESTION MODERADA, ÚLCERAS Y PUNTILLOS (SISTOMA, BANCISTOMA).	PRESENCIA DE MULTIPLES PUNTOS EN CORAZON.		GANGLIOS MESENTERICOS CON ENDOGAO CASEOSO.
889-971	CANINO	ABUMETO DE LICHIDO LEPTOMENINGEA ESPINAL, CON HEMORRAGIAS PUNTUALES O RIVOS DE MEDULA ALLONGADA.	ESOMA PULMONAR MODERADO.	HEPATOMEGALIA Y CONGESTION MODERADA DE INTESTINOS.		CONGESTION MODERADA Y DIFUSA EN AMBOS RINONES.	ESPLENOMEGALIA.
885-783	FELINO		SENERCION MICROPULMONARIA POR ULULAS. PULMON CON MULTIPLE PUNTILLOS BLANQUECINOS		DILATACION DEL VENTRICULO DERECHO.		GANGLIOS EXPANDIBLES Y MESENTERICOS AUMENTADOS DE TAMAÑO.
886-724	FELINO	ZONA BLANQUECINA DE CONSISTENCIA SAREE EN VENTRIGULO DERECHO.	CONGESTION Y EDEMA GRAVES, ENFISMA.	RIGIDO CON ZONA DE COLOR BLANCO (ENFARTO).	ENDOCARDIOSIS DE LA VALVULA TRICUSPIDE.		LEUCOPENIA.
888-429	FELINO		HISTIOCIDIOS (10+), ENFISMA DE LOBULOS APICALES Y CONGESTION MODERADA.	RIGIDO CON PUNTILLOS BLANQUECINOS. VENTRIGULO DERECHO CON HEMORRAGIAS Y CONGESTION MODERADA DIFUSA. VESICULAS.	MIOPERICARDIO, HEMORRAGIAS, HEMORRAGIAS EN LA CAVIDAD PERICARDICA.		EDEMA SUBCUTANEO.
889-437	CAPRINO		ENFISMA Y CONGESTION DISCRETA.		MUSCULO CARDIACO PALIDO.		
889-17	MARSUPIAL	CONGESTION LEPTOMENINGEA.	NODULOS MULTIPLES PULMONARES.	RIGIDO E INTESTINO DELGADO, CON MULTIPLES NODULOS.	MIOPERICARDIO, PETEQUIAS EN EPICARDIO.	NODULOS BLANQUECINOS CORTICALES EN AMBOS RINONES.	
889-45	MARSUPIAL	CONGESTION LEPTOMENINGEA.	NODULOS MULTIPLES PULMONARES.	RIGIDO E INTESTINO DELGADO, CON MULTIPLES NODULOS.	MIOPERICARDIO, PETEQUIAS EN EPICARDIO.	NODULOS BLANQUECINOS CORTICALES EN AMBOS RINONES.	

CUADRO No. 3
LESIONES MICROSCOPICAS

NO. DE CASO	ESPECIE	SISTEMA NERVIOSO	SISTEMA RESPIRATORIO	SISTEMA DIGESTIVO	SISTEMA VASCULAR	SISTEMA URINARIO	OTROS TEJIDOS
802-1778	CANINO	CONGESTION BIFOSA.	CONGESTION Y EDEMA GRAVE BIFOSO.	ENTERITIS LINFOIDE.			ESTRUCTURAS COMPATIBLES CON TROPLOPLASMA BIFOSUM EN MUSCULO ESQUELETICO.
803-1020	CANINO	CONGESTION CAVE BIFOSA.	CONGESTION Y EDEMA GRAVES.	HEPATITIS NECROTICA FOCAL. ENTERITIS NO SUPURATIVA.	FOCOS NECROTICOS CON PRESENCIA DE CELULAS INFLAMATORIAS. QUISTES DE TROPLOPLASMA BIFOSUM.	CONGESTION GRAVE.	
805-670	CANINO	AREAS DE NECROSIS MULTIFOCALES DE DISTRIBUCION PERIFERICA COMPATIBLES CON TROPLOPLASMA BIFOSUM.	AREAS DE NECROSIS MULTIFOCALES DE DISTRIBUCION PERIFERICA COMPATIBLES CON TROPLOPLASMA BIFOSUM. ATROFAMIENTO DE ENDOTELIO.	AREAS DE NECROSIS MULTIFOCALES DE DISTRIBUCION PERIFERICA COMPATIBLES CON TROPLOPLASMA BIFOSUM. CELULAS INFLAMATORIAS (L.).	AREAS DE NECROSIS MULTIFOCALES DE DISTRIBUCION PERIFERICA COMPATIBLES CON TROPLOPLASMA BIFOSUM.	AREAS DE NECROSIS MULTIFOCALES DE DISTRIBUCION PERIFERICA COMPATIBLES CON TROPLOPLASMA BIFOSUM.	
809-971	CANINO	HEMIONOCENTEFALITIS GRANULOMATOSA MULTIFOCAL.	NEUMONIA SUPURATIVA.	HEPATITIS NECROTICA MULTIFOCAL.		NEFRITIS INTERSTICIAL GRANULOMATOSA.	
805-783	FELINO	FORMAS QUISTICAS COMPATIBLES CON TOXOPLASMA BIFOSUM.	NECROSIS DE PARED ALVEOLAR. NECROSIS INTERSTICIAL. FORMAS QUISTICAS COMPATIBLES CON TOXOPLASMA BIFOSUM.	HEPATITIS NECROTICA MULTIFOCAL. FORMAS QUISTICAS COMPATIBLES CON TOXOPLASMA BIFOSUM.	FIBROSIS MULTIFOCAL CON INFLAMACION MONONUCLEAR. FORMAS QUISTICAS COMPATIBLES CON TOXOPLASMA BIFOSUM.	FORMAS QUISTICAS COMPATIBLES CON TOXOPLASMA BIFOSUM.	BAZO CON NECROSIS CONGLOMERADA FOCAL Y FORMAS QUISTICAS COMPATIBLES CON TOXOPLASMA BIFOSUM.
806-724	FELINO	CONGESTION MEDERADA.	CONGESTION MOD.	ENTERITIS CON FOCOS DE NECROSIS EN LA SUBMUCOSA EN INTESTINO DELGADO.	NECROSIS MULTIFOCAL EN CUADRO.		
850-429	FELINO	GLOSIS MULTIFOCAL MONONUCLEAR COMPATIBLE CON ESTIBOPLASMA BIFOSUM. GLOSIS MULTIFOCAL CON QUISTES COMPATIBLES CON T. BIFOSUM.		ENTERITIS NO SUPURATIVA CON FOCOS NECROTICOS EN MUCOSA Y MUSCULO LAMINAR PROPRIO. ENTERITIS MULTIFOCAL TIPOCAL Y DISTRIBUCION DE TROPLOPLASMA.	DEGENERACION SENCILLA DE LA GRASA PERICARDICA E INFLAMACION CONDUCTIVIA.		GANGLIOS Y BAZO CON DEPRESION LINFOIDE.
809-437	CANINO		BRONCOPNEUMONIA SUPURATIVA MULTIFOCAL.				NEFRITIS NO SUPURATIVA CON PRESENCIA DE QUISTES DE SACROSPOROZOOIDIOS Y TOXOPLASMA BIFOSUM.
809-17	MARSUPIAL	HEMIONOCENTEFALITIS NO SUPURATIVA CON ESTIBOPLASMA QUISTICAS COMPATIBLES CON T. BIFOSUM.	NEUMONIA GRANULOMATOSA CON QUISTES QUISTICAS COMPATIBLES CON T. BIFOSUM.	ENTERITIS NO SUPURATIVA EN MUCOSA Y SUBMUCOSA CON INFLAMACION QUISTICAS COMPATIBLES CON T. BIFOSUM.	ESTRUCTURAS QUISTICAS COMPATIBLES CON TROPLOPLASMA BIFOSUM.	ESTRUCTURAS QUISTICAS COMPATIBLES CON TROPLOPLASMA BIFOSUM.	
809-45	MARSUPIAL	HEMIONOCENTEFALITIS NO SUPURATIVA CON ESTIBOPLASMA QUISTICAS COMPATIBLES CON T. BIFOSUM.	NEUMONIA GRANULOMATOSA CON QUISTES QUISTICAS COMPATIBLES CON T. BIFOSUM.	ENTERITIS NO SUPURATIVA EN MUCOSA Y SUBMUCOSA CON INFLAMACION QUISTICAS COMPATIBLES CON T. BIFOSUM.	ESTRUCTURAS QUISTICAS COMPATIBLES CON TROPLOPLASMA BIFOSUM.	NEFRITIS GRANULOMATOSA ESTIBOPLASMA QUISTICAS COMPATIBLES CON TROPLOPLASMA BIFOSUM.	

CUADRO No. 4
 DISTRIBUCION POR ESPECIE E INTENSIDAD DE
 INMUNORREACCION EN CONTRA DE *Toxoplasma gondii*
 Y *Neospora caninum*

No. DE CASO	ESPECIE	INMUNOPERO- XIDASA vs. <i>T. gondii</i>	INMUNOPERO- XIDASA vs. <i>N. caninum</i>
H80-1778	CANINO	+++	---
H83-1020	CANINO	+++	---
H85-670	CANINO	---	+++
H89-971	CANINO	+++	---
H85-783	FELINO	+++	---
H86-724	FELINO	+++	---
N90-429	FELINO	+++	---
H89-437	CAPRINO	+++	---
H89-17	MARSUPIAL	+++	---
H89-45	MARSUPIAL	++	---

FUERTEMENTE POSITIVO +++
 DEBILMENTE POSITIVO ++
 SOSPECHOSO +
 NEGATIVO ---